Développement de polymères à empreintes moléculaires basé sur une manganoporphyrine utilisé comme catalyseur oxydatif de dérivés soufrés. Vers une nouvelle approche biomimétique de décontamination d'armes chimiques.

Sophie Mohamed

▶ **To cite this version:**

Sophie Mohamed. Développement de polymères à empreintes moléculaires basé sur une manganoporphyrine utilisé comme catalyseur oxydatif de dérivés soufrés. Vers une nouvelle approche biomimétique de décontamination d'armes chimiques.. Autre. Normandie Université, 2019. Français. NNT : 2019NORMR027 . tel-02292782

HAL Id: tel-02292782
https://theses.hal.science/tel-02292782

Submitted on 20 Sep 2019

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.

Normandie Université

THÈSE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité CHIMIE

Préparée au sein de « l'Université de Rouen Normandie »

Développement de polymères à empreintes moléculaires basés sur une manganophyrine utilisés comme catalyseur oxydatif de dérivés soufrés. Vers une nouvelle approche biomimétique de décontamination d'armes chimiques

Présentée et soutenue par
Sophie MOHAMED

Thèse soutenue publiquement le 15 juillet 2019 devant le jury composé de		
Mme Valérie PICHON	Professeur ESPCI Paris	Rapporteur
Mr Claude GROS	Professeur Université de Bourgogne	Rapporteur
Mr Rachid BAATI	Directeur de Recherche Université de Strasbourg	Examinateur
Mr Zakaria HALIME	Chargé de Recherche Université Paris Sud	Examinateur
Mr Sébastien BALIEU	Maître de conférences Université de Rouen Normandie	Co-encadrant de thèse
Mr François ESTOUR	Professeur Université de Rouen Normandie	Directeur de thèse

Thèse dirigée par Pr. François ESTOUR, laboratoire COBRA

UNIVERSITÉ DE ROUEN NORMANDIE

ED 508 NC Normande de Chimie

Laboratoire Cobra

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury : le Professeur Valérie PICHON, le Professeur Claude GROS, le Docteur Rachid BAATI et le Docteur Zakaria HALIME d'avoir accepté d'examiner mon travail de thèse. Que ces personnes sachent qu'elles ont toute ma reconnaissance.

Mon travail de thèse a été effectué sous la direction du Professeur François ESTOUR et du Docteur Sébastien BALIEU, que je tiens à remercier sincèrement pour leur encadrement. Soyez assurés tous les deux de ma vive reconnaissance, car vous m'avez permis de réaliser cette thèse à vos côtés.

Je tiens à faire ce paragraphe pour remercier François pour ses conseils, son soutien et sa franchise. Toutes ses remarques m'ont permis de me forger et de voir plus loin devant moi. Je le remercie également de m'avoir fait découvrir davantage l'enseignement durant cette année d'ATER.

Je remercie également Sébastien pour m'avoir encadrée durant cette thèse. Je lui suis reconnaissante pour ses précieux conseils dans le plan professionnel que personnel. Merci de ton aide, pour ta gentillesse et ton soutien jusqu'à la dernière seconde.

Je tiens à remercier le Professeur Géraldine Gouhier pour sa bonne humeur, et sa démarche assurée unique qui démontre une force et une douceur féminine « spéciale ».

Je tiens à remercier le Dr. Rachid BAATI pour ces précieux conseils pour la partie MIP, qui n'était toujours évidente à comprendre. Merci pour tous les conseils que vous avez pu nous donner.

Je tiens à remercier Emilie Petit qui m'a énormément aidé lors de la mise au point des conditions de reconnaissance moléculaire, ainsi que pour toutes les analyses. Sans elle, je n'aurai pas réussi à m'en sortir sur cette partie qui m'était inconnue. Je remercie également Laetitia Bailly pour ses conseils et sa gentillesse.

Je tenais à remercier l'équipe de PRIMACEN, Ludovic Galas, et Damien Schapman qui nous ont effectué de magnifiques images sur les MIP. Merci pour votre collaboration.

Je remercie Dr. Julie Hardouin avec qui nous avons collaboré pour les analyses MALDI-TOF.

Je voudrais remercier toutes les personnes que j'ai côtoyé durant mes années de thèse : Asmaa, Sandra, Abdelmalik, Isaam, Benedetta, Cécile, Gaspard, Alex, Amaury. On a bien rigolé, on a aussi pleuré ça fait du bien parfois.

Je voudrais remercier l'équipe à la Faculté de Médecine-Pharmacie de Rouen. J'ai rencontré de magnifiques personnes durant cet ATER (Carole, Nejla, Tiphaine, Edwige, Cécile, Kelly).

Une mention spéciale pour Asmaa Bouyahya. Je la remercie pour tous ce qu'elle a fait pour moi. Tous son soutien, ses conseils, sa confiance. Elle a toujours été là pour moi-même après son départ. Encore merci.

Je tiens à remercier Isaam qui m'a beaucoup conseillé durant sa présence au laboratoire. Une belle amitié et une bonne personne qui est passée sur mon chemin.

Un énorme merci à MADAME CLAUDETTE MARTIN, tout en majuscule. Un grand merci pour tes conseils, pour ton soutien précieux, pour ton aide au laboratoire. Désolé pour les produits soufrés ça ne sentait pas la rose. Encore merci Claudette.

Je tenais à remercier Sandra « la vachette mobile » pour sa bonne humeur, même si elle criait trop dans mes oreilles, qui aime bien châtie bien. La meilleure rencontre de cette année a été celle avec « la vachette internationale », Abdel. Je le remercie pour son énergie positive, son sourire, sa gentillesse, sa présence, et sa simplicité. J'espère que tu iras loin. Je tiens à remercier Gaspard pour sa bonne humeur, ses pates fromages, je plaisante. Bon courage pour la suite.

Je tiens à remercier Benedetta pour ses conseils, sa gentille et sa disponibilité.

Je finirai par mes proches.

Je voudrais dédier ce manuscrit à mes alliés clichoises (Niss, Aouda, Fatima, Naomie, Ermite, Joannie, Djami) et clichois qui ont toujours été dans mon cœur jusqu'au bout de ma thèse. Oui, je n'oublierai pas d'où je viens et c'est grâce à vous qu'aujourd'hui je marche la tête haute. C'est grâce à notre histoire commune qu'on réussira à parcourir nos chemins.

Je voudrais remercier ma famille, mes frères et sœurs, Sitina, Ridjal, Zaidou, Saoudata , Fakri Radjab de m'avoir toujours soutenu jusqu'ici. Nous savons tous que nos chemins étaient noyés d'obstacles, mais nous allons encore avancer pour gravir les échelons. Je vous aime. Je remercie mes parents qui m'ont inculqué des valeurs et des principes forts. « On rencontrera toujours des difficultés dans la vie mais il faudra toujours se relever ».

Je tiens à remercier Andhuima qui m'a soutenu depuis le début, qui ne m'a jamais abandonné malgré la distance. Tu fais partie et tu feras partie des gens essentiels de ma vie.

Merci à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de cette thèse et merci mille fois à ma belle-famille (Dhari, Dhoiry, Kareema, Djaffar, Mchami, Mma Hadji) qui a toujours été là pour moi.

Je remercie mon mari « la vachette universelle » qui m'a soutenu durant toute ces années, qui a supporté toutes mes épreuves comme si c'était les siennes. Ces quelques lignes ne suffiront pas pour le remercier. C'est grâce à lui que j'ai pu tenir mentalement jusqu'au bout de ces années.

Je terminerai par dédier ce manuscrit à mon fils « Isaak » la petite vachette, qui m'a donné la force et le courage de me surpasser durant la fin de cette thèse. J'espère que tu seras fier de ta mama et que tu iras plus loin que moi. Tu es la plus belle réussite que j'ai eu durant cette thèse et bien sûr dans ma vie. Je t'aime mon fils.

Je terminerai ses remerciements par ses paroles qui traduisent cette fin de thèse et mon parcours. Les paroles disparaissent mais les écrits restent.

« J'ai grimpé, j'ai grimpé, j'ai grimpé sans lâcher mes principes et mes valeurs

Jamais j'oublierai d'où je viens je sais ce que c'est d'être un homme de couleur

Je sais ce que c'est de taffer deux fois plus pour pouvoir être à la hauteur

Si je chante la cosmopolitanie c'est parce que j'en ai vu de toutes les couleurs

On m'a dit, on m'a dit petit, réveille-toi t'es un peu trop rêveur

Petit tu as un trop gros appétit la réalité est fade et sans saveur

Oublie tes rêves d'ados, comme tout le monde suis le troupeau

Mais le têtu que j'étais avait de la détermination plein le sac-à-dos

Aucune de leurs dissuasions m'a mis le genou à terre

Aucun médecin au monde ne pouvait soigner ma fièvre

Tout est possible quand tu sais qui tu es

Tout est possible quand t'assumes qui tu es

Aujourd'hui regarde-moi contempler mes sacrifices au sommet de mon Everest »

Soprano

« Kazana bangodjorayisi bahou tabiha mahamindji ngodjoganié inch'Allah bahatidjema »

Mama Sophie

REMERCIEMENTS **1**

ABREVIATIONS **8**

INTRODUCTION GENERALE **11**

I. POLYMERES A EMPREINTES MOLECULAIRES **13**

I.1 Historique 13

I.2 Principe de l'impression moléculaire 14

I.3 Différents types de modes d'impression 15

I.3.1 Approche covalente *15*

I.3.2 Approche semi-covalente *15*

I.3.3 Approche non-covalente *17*

I.4 Polymérisation en masse « Bulk » 20

I.4.1 Choix des réactifs et paramètres fondamentaux de polymérisation *22*

I.4.1.1 Influence du solvant 23

I.4.1.2 Monomères fonctionnels 24

I.4.1.3 Rôle de l'agent de réticulation 24

I.4.1.4 Influence de la température et des initiateurs de radicaux 25

I.5 Caractérisations et reconnaissance des MIP 26

I.5.1 Morphologie des MIP *27*

I.5.2 Reconnaissance moléculaire *27*

I.5.2.1 Méthode de « Batch process » 27

I.5.2.2 Caractérisation de la reconnaissance moléculaire du MIP 28

I.5.2.2.1 Modèle de Scatchard 29

I.5.2.2.2 Modèle de Freundlich[36-37] 30

I.6 Applications des polymères à empreintes moléculaires en catalyse : Mimes d'enzymes 31

I.7 Conclusion 33

II. LES METALLOPORPHYRINES ET L'OXYDATION BIOMIMETIQUE 35

II.1 Les enzymes à cytochrome P450 36

II.2 Réactions catalysées par les enzymes à cytochrome P450 36

II.3 Cycle catalytique des enzymes à cytochrome P450 37

II.4 Mécanismes d'oxydation de réactions catalysées par des enzymes à cytochrome P450 38

II.5 Les métalloporphyrines synthétiques 41

II.5.1 Structure, caractérisations des porphyrines et complexation 41

II.5.1.1 Nomenclature 42

II.5.1.2 Caractérisation des porphyrines par Résonance Magnétique Nucléaire ^{1}H 43

II.5.1.3 Caractérisation des porphyrines par Spectroscopie UV-Visible 44

II.5.1.4 Formation de complexes avec les métalloporphyrines 45

II.5.2 Synthèse des métalloporphyrines (MP) 46

II.6 Systèmes oxydants à base de métalloporphyrines (MP) 49

II.6.1 Le peroxyde d'hydrogène 49

II.6.2 Co-catalyseur : base azotée (imidazole) 49

II.6.3 Catalyseurs porphyriniques synthétiques 50

II.6.3.1Catalyseurs homogènes 52

II.6.3.2Catalyseurs hétérogènes 54

II.7 Conclusion 56

III. LES ARMES CHIMIQUES 58

III.1 Décontamination par voie oxydative de l'ypérite 59

III.2 Décontamination du VX 61

III.2.1 Mécanisme d'inhibition des acétylcholinestérases 63

III.2.2 Voies possibles de détoxification du VX 66

III.2.2.1 Décontamination par voie nucléophile du VX 66

III.2.2.2 Décontamination par voie oxydative du VX 68

III.3 Conclusion 69

TRAVAUX PERSONNELS 71

PARTIE 1 : 72

FORMULATION DES MIP A BASE D'UNE MANGANOPORPHYRINE 72

I. DEVELOPPEMENT ET CARACTERISATION DE MIP 73

I.1 Synthèses des manganoporphyrines 74

I.2 Synthèse des molécules gabarits 77

I.2.1. Synthèse du gabarit pyridinique 123 78

I.2.2. Synthèse du gabarit imidazolique 124 81

I.3 Étude de coordination entre la manganoporphyrine polymérisable **119b** et les gabarits synthétisés **123b** et **124** 83

I.3.1. Détermination des conditions d'analyse – Etudes antérieures 83

*I.3.2 Étude de coordination entre la manganoporphyrine **119b** et la 4-méthylpyridine **149** 84*

*I.3.3 Mise en œuvre du protocole d'étude de coordination des gabarits **123b** et **124** .88*

I.3.3.1. Résultats expérimentaux : Coordination des gabarits **123b** et **124** avec la métalloporphyrine polymérisable **119b** 89

I.3.3.1.1. Étude de coordination du gabarit pyridinique **123b** avec la manganoporphyrine **119b** 89

I.3.3.1.2. Étude de coordination entre la manganoporphyrine **119b** et le gabarit imidazolique **124**..... 91

I.4 Formulation des polymères à empreintes moléculaires..... 94

*I.4.1 Impression moléculaire à partir des gabarits pyridinique **123b** et imidazolique **124 :** Choix des paramètres de polymérisation.....94*

I.4.1.1 Mode de polymérisation : polymérisation en masse ou « Bulk »..... 94

I.4.1.2 Monomères fonctionnels..... 95

I.4.1.3 Choix du solvant et du monomère réticulant..... 96

I.4.1.4 Choix de l'amorceur de polymérisation..... 96

I.4.1.5 Choix du *ratio* template/monomère/réticulant 96

I.4.2 Développement des polymères à empreintes moléculaires.....97

I.4.2.1 Synthèses des MIP manganoporphyrine **119b** avec les gabarits **123b** et **124**..... 97

I.4.2.2 Extraction des gabarits **123b** et **124** au sein des MIP..... 98

I.5 Caractérisation des polymères à empreintes moléculaires..... 100

I.5.1 Tailles des pores.....100

I.5.2 Quantification par ICP-AES du manganèse dans les MIP 102

I.5.3 Caractérisations des polymères à empreintes moléculaires : tests de reconnaissance – mise en évidence de la formation des empreintes moléculaires 103

I.5.3.1. Caractérisations des polymères à empreintes moléculaires : tests de reconnaissance, mise en évidence de la formation des empreintes moléculaires avec la molécule gabarit **124**..... 104

I.5.3.1.1. Mise en œuvre du mode opératoire..... 104

I.5.3.1.2. Évaluation de la capacité du polymère imprimé à reconnaitre le dérivé imidazolique **124** : l'effet d'empreinte..... 106

I.5.3.1.3. Index d'hétérogénéité et affinité de distributions..... 107

Polymères *109*

I.5.3.2. Synthèses et tests de reconnaissance élargis à d'autres composés que la molécule gabarit 110

I.5.3.2.1 Synthèse des dérivés **164** et **165**..... 110

I.5.3.2.2 Évaluation de la capacité du polymère imprimé à reconnaitre les amino-thioéthers **164** et **165** 111

I.5.3.2.3 Facteur de sélectivité 112

I.6 Conclusion 113

PARTIE 2 : 115

OXYDATION DE DERIVES SOUFRES EN MILIEU HOMOGENE ET HETEROGENE 115

II. REACTIONS D'OXYDATIONS DE COMPOSES SOUFRES CATALYSEES PAR LE MIP ……...116

II.1 Oxydation du 4-méthylthioanisole 116

II.1.1 Réaction en phase homogène 117

II.1.1.1 Résultats antérieurs : 117

II.1.1.2 Résultats expérimentaux : réactions d'oxydations dans différents solvants 119

II.1.1.2.1Réaction catalysée par la manganoporphyrine **119b** 119

II.1.1.2.2 Comparaison avec les catalyseurs **119a** et **119c** avec la métalloporphyrine polymérisable **119b** 123

*II.1.2 Efficacités relatives du catalyseur **119c** et du MIP – Catalyse en phase hétérogène 125*

II.1.2.1 Influence de la température en présence de 1% de catalyseur **119c** 125

II.1.2.2 Influence de la quantité de catalyseur 126

II.1.2.2.1 Variation de la quantité catalytique de 0.25% à 3% 126

II.1.2.2.2 Évaluation de la réaction d'oxydation à 3% de catalyseur 127

II.1.2.3 Réaction d'oxydation en présence du MIP 129

II.1.2.3.1 Influence de la quantité du MIP sur la réaction d'oxydation sur **168** 129

II.1.2.3.2 Recyclabilité du MIP 131

II.1.2.3.3 Activités catalytiques comparées du MIP et du NIP (polymère contrôle) . 132

II.2 Oxydation du simulant du gaz moutarde et des analogues structuraux du VX en milieu hétérogène ……...133

II.2.1 Oxydation d'un simulant du gaz moutarde 133

*II.2.2 Réactions d'oxydations des composés **164** et **165** 135*

*II.2.3 Réaction d'oxydation sur l'amino-thioester **175** 138*

CONCLUSION GENERALE - PERSPECTIVES 142

EXPERIMENTAL PART 145

BIBLIOGRAPHIE 181

PROJET PUBLICATION 188

Abréviations

AChE	Acétylcholinestérase
AIBN	Azobisisobutyronitrile
AMBN	2,2'-azobis(2-méthylbutyronitrile)
°C	Degré celsius
CAC	Convention sur les Armes Chimiques
CLHP	Chromatographie liquide haute performance
DCM	Dichlorométhane
DDQ	2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4benzoquinone
CH_3CO_3H	Acide peracétique
$CHCl_3$	Chloroforme
DIES	(Diisopropylamino)ethanesulfonate
DL_{50}	Dose létale médiane
DVB	Divinylbenzène
EGDMA	Ethyleneglycoldiméthacrylate
EMPA	Acide éthylméthylphosphonique
eq	Equivalent
KD	Constante de dissociation
H_2O_2	Peroxide d'hydrogène
HR-MS	Spectrométrie de masse à haute résolution
IR	Infra-rouge
MeOH	Méthanol
MIP	Polymères imprimes
MIP-SA	Polymères à empreintes moléculaires sans acide acrylique
MIP-AA	Polymères à empreintes moléculaires avec acide acrylique
MIP-SA imd	Polymères à empreintes moléculaires sans acide acrylique en présence du gabarit imidazolique
MIP-SA pyr	Polymères à empreintes moléculaires sans acide acrylique en présence du gabarit pyridinique
MIP-AA imd	Polymères à empreintes moléculaires avec acide acrylique en présence du gabarit imidazolique

MIP-AA pyr	Polymères à empreintes moléculaires avec acide acrylique en présence du gabarit pyridinique
MMA	Acide méthacrylique
MP	Métalloporphyrine
NaOCl	Hypochlorite de sodium
NOPs	Organophosphorés neurotoxiques
NIP-Mn	Polymère non imprimé basé sur une manganoporphyrine
OP	Organophosphoré
2-PAM	Pralidoxime
PhIO	Iodosylbenzène
ta	Température ambiante
$t_{1/2}$ aging	Temps de demi-vie de vieillissement
Rdt	Rendement
RMN ^{1}H	Résonance magnétique nucléaire du proton
RMN ^{13}C	Résonance magnétique nucléaire du carbone
(TPP)MnClO$_4$	Mangano-tétraphénylporphyrine perchlorate
VX	[2-(diisopropylamini)éthyl]méthylphosphonothioate d'O-éthyle

Introduction générale

L'impression moléculaire de polymères est une technique utile pour créer des récepteurs artificiels capables de lier sélectivement des substrats. Ces polymères ont ainsi la possibilité de pouvoir reconnaître plus ou moins sélectivement une molécule ou une famille de molécules présentant un certain nombre d'analogies, en particulier sur le plan structural. Cette propriété de reconnaissance rend les polymères à empreintes moléculaires particulièrement intéressants pour différents types d'applications comme la séparation d'échantillons, la synthèse de biocapteurs ou encore de catalyseurs macromoléculaires. C'est plus particulièrement sur ce dernier point que nous avons axé notre projet de recherche.

Notre objectif est ainsi de développer un catalyseur d'oxydation à base de porphyrine, en reprenant l'élément clé du site actif des enzymes à cytochrome P450. Si de nombreux travaux ont déjà porté sur la synthèse et l'utilisation de structures porphyriniques particulièrement élaborées, ces systèmes biomimétiques artificiels font pour la plupart abstraction de l'environnement protéique entourant l'hème dans les systèmes naturels. Cet environnement est pourtant déterminant dans la catalyse naturelle pour orienter le substrat vers le centre métallique de la porphyrine. Le développement de polymères imprimés intégrant une structure de type porphyrine devrait permettre la création de cavités à proximité du centre métallique susceptibles de jouer ce rôle dans le processus enzymomimétique.

Par cette approche, nous souhaitons accéder à un catalyseur supramoléculaire recyclable et capable d'oxyder des dérivés du soufre dans des conditions catalytiques hétérogènes en présence d'un oxydant doux et éco-compatible tel que le peroxyde d'hydrogène. L'oxydation de sulfures demeure une stratégie intéressante dans certains procédés industriels, par exemple pour limiter la teneur en soufre des carburants. Les sulfoxydes et les sulfones sont par ailleurs des intermédiaires utiles en chimie organique fine ou bien pour accéder à des composés d'intérêt thérapeutique tel que l'oméprazole mondialement connu utilisé comme inhibiteur de la pompe à proton.

Cette approche pourra également être utile à l'avenir pour la décontamination de surfaces ou de matériels, en cas d'exposition à certaines armes chimiques dont la détoxification passe par l'oxydation sélective d'un sulfure. Compte-tenu de l'engagement du laboratoire dans la lutte contre ce type de composé, nous avons décidé d'orienter nos futurs développements dans cette direction. La recherche de moyens de décontamination est en effet un enjeu majeur

pour les armées et les organismes de sécurité civile, car il existe actuellement peu de solutions pour la décontamination « douce » du matériel et du personnel.

Au travers de ce manuscrit, une étude bibliographique présentera les polymères à empreintes moléculaires (principe, préparation et caractérisation), ainsi que les principaux points du développement et de l'utilisation de métalloporphyrines dans les réactions d'oxydation de divers substrats, en particulier soufrés. Nous finaliserons cette partie par un chapitre consacré aux armes chimiques, et notamment les moyens de décontamination envisageables dans le cas des agents vésicants tel que l'ypérite, ou bien des agents neurotoxiques de type V.

Ensuite, nous détaillerons les travaux réalisés selon deux grands axes, à savoir la synthèse de métalloporphyrines et de molécules gabarits ayant permis la formulation des polymères à empreintes moléculaires, et ensuite l'évaluation des performances de ce nouveau type de catalyseur dans l'oxydation de dérivés soufrés.

I. Polymères à empreintes moléculaires

I.1 Historique

Depuis les années 1990, les polymères à empreintes moléculaires sont devenus des supports de reconnaissance moléculaire très employés par les chercheurs. Leur mécanisme de reconnaissance peut être assimilé au concept de « clé-serrure » décrit dès 1895 par Emile Fischer pour la spécificité d'une enzyme pour son substrat.[1] En 1931, Polyakov[2] a démontré pour la première fois le caractère complexant d'un polymère de silice sur des dérivés benzéniques s'incluant au sein du polymère, permettant ainsi de parler de reconnaissance moléculaire. Dickey en 1949[3] a réussi à obtenir un polymère reconnaissant sélectivement le méthyl orange et a introduit la technique d'adsorption spécifique, nommée par la suite « empreinte moléculaire ».

Le concept d'empreintes moléculaires, basé sur des matrices polymériques a été développé par Wulff[4] et Mosbach[5]. Par rapport aux systèmes biologiques, les polymères à empreintes moléculaires présentent plusieurs avantages, parmi lesquels on peut citer une stabilité accrue, un plus faible coût de préparation et un accès plus facile, ainsi qu'une possibilité de recyclage.

Ils trouvent ainsi de nombreuses applications dans divers domaines où l'utilisation de biomolécules reste très limitée : en analyse, dans la préparation d'échantillons, dans l'élaboration de phases stationnaires chromatographiques, dans la synthèse de biocapteurs ou bien encore en catalyse (Figure 1).[6]

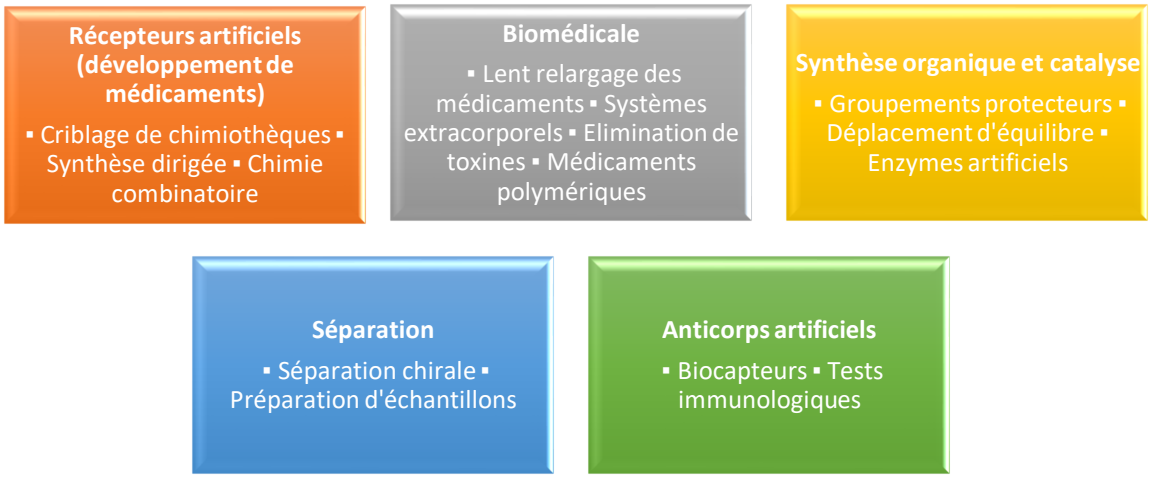


Figure 1 : Domaines d'application des polymères à empreintes moléculaires[6]

I.2 Principe de l'impression moléculaire

Le principe des polymères à empreintes moléculaires (MIP) se définit par l'impression d'une molécule cible ou gabarit appelé template en anglais, dans une matrice polymérique. La molécule empreinte est ainsi introduite dans le mélange de monomères. Selon la nature des interactions s'établissant entre les monomères et le gabarit, différentes approches peuvent être mises en œuvre pour la synthèse de MIP : l'approche covalente, l'approche non-covalente ou l'approche semi-covalente (Figure 2). La polymérisation s'effectue classiquement en présence d'un agent réticulant et d'un initiateur de radicaux dans un solvant déterminé. Après polymérisation, le gabarit peut être extrait[7] libérant alors une cavité artificielle. Cette cavité possède donc une complémentarité de forme avec la molécule cible d'intérêt, et sera donc reconnue par les sites laissés vacants.

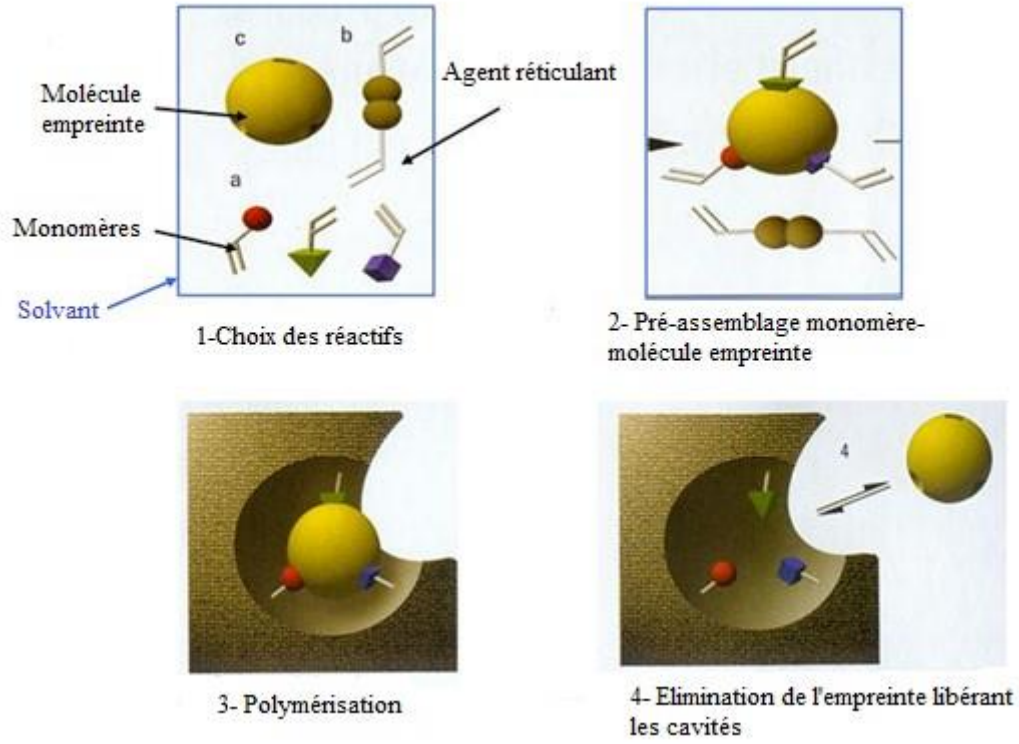


Figure 2: Principe de l'impression moléculaire[7]

Ce phénomène de reconnaissance des matériaux imprimés peut être assimilé dans une certaine mesure à celui qui existe entre une enzyme et son substrat, puisque les sites de liaison sont limités par un environnement tridimensionnel et que les mêmes types d'interactions faibles (interactions ioniques et hydrophobes, liaisons hydrogènes ou coordination de métaux) s'établissent dans les systèmes biologiques. Il existe cependant des différences fondamentales et significatives entre les structures macromoléculaires naturelles et les MIP. Ces derniers sont des matrices rigides fortement réticulées et extrêmement tolérantes aux conditions de

température et de solvant dans lesquelles la plupart des protéines et des biopolymères seraient dénaturés.

I.3 Différents types de modes d'impression

I.3.1 Approche covalente

L'approche covalente se distingue par l'utilisation de « templates » qui sont liés de manière covalente à un ou plusieurs groupes polymérisables. Après polymérisation, la molécule gabarit est retirée par clivage chimique des liaisons covalentes, le plus souvent par une réaction d'hydrolyse. La molécule cible pourra interagir par la suite avec le polymère en rétablissant la liaison covalente avec la fonction libérée. L'avantage de cette approche consiste à limiter la présence de groupes fonctionnels pour l'association avec le gabarit. Cependant, seul un nombre limité de composés (alcools, aldéhydes, cétones, amines, base de Schiff, esters boroniques et acides carboxyliques) peut être imprimé avec cette approche.[8] De plus, les interactions covalentes réversibles sont rares et l'hydrolyse de ces liaisons se fait dans des conditions souvent drastiques (acides, basiques, à reflux du solvant…), ce qui limite la portée de cette approche dans le cas d'applications biologiques. Néanmoins, Wulff et ses collaborateurs ont montré que cette stratégie était intéressante pour accéder à des polymères présentant une sélectivité totale vis-à-vis de leur molécule cible lors de la formation d'esters boroniques en présence de diols (Schéma 1) .[9]

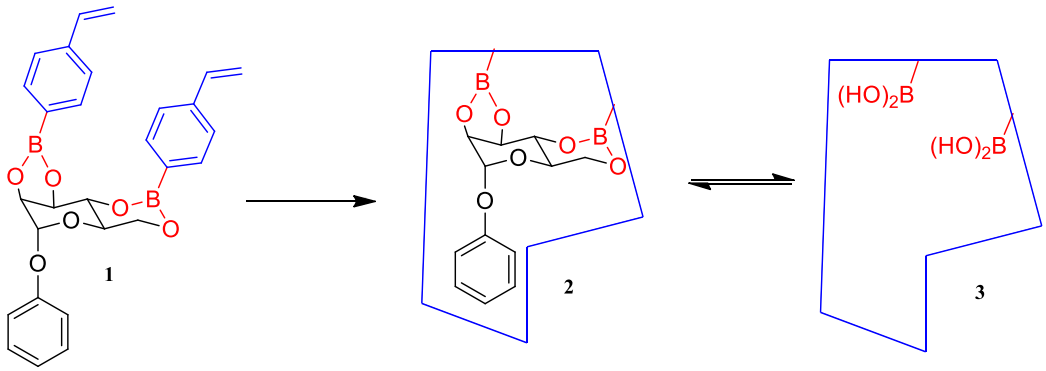


Schéma 1 : Schéma réactionnel de la préparation d'un MIP covalent

I.3.2 Approche semi-covalente

L'approche semi-covalente permet de cumuler les avantages des méthodes covalentes et non covalentes. En effet, la préparation du MIP s'appuie sur la stratégie covalente, mais la reconnaissance se fait par des interactions faibles entre groupes fonctionnels (liaisons hydrogènes, interactions hydrophobes…). On peut distinguer deux variantes de cette approche :

- soit le gabarit et le monomère polymérisable sont connectés directement entre eux. Cette méthode a été élaborée par Sellergren et Andersson pour l'impression d'un ester éthylique de la *p*-aminophénylalanine **10** (Schéma 2).[10]

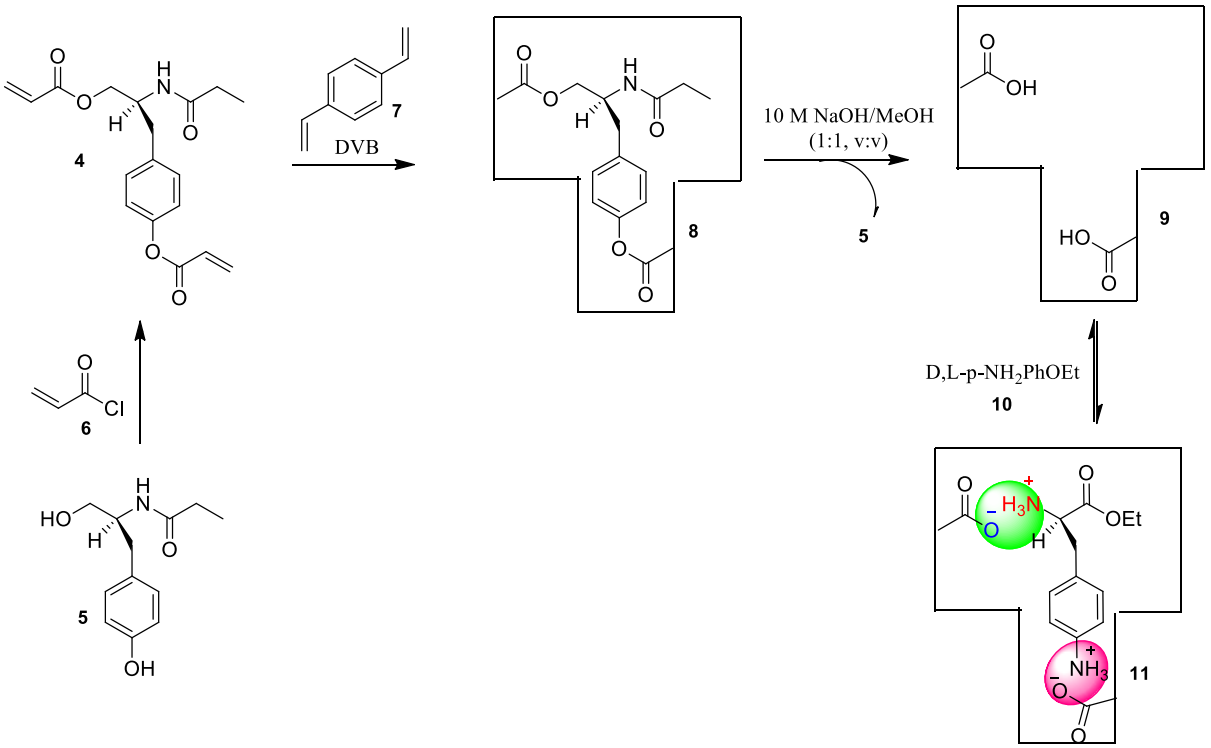


Schéma 2 : Impression moléculaire par l'approche semi-covalente dans laquelle le gabarit polymérisable est lié directement au polymère

- Soit le gabarit et le monomère polymérisable sont connectés par l'intermédiaire d'un groupe jouant le rôle d'espaceur.

Whitcombe et Coll.[11] ont réalisé l'impression du cholestérol en utilisant l'approche semi-covalente *via* un espaceur de type carbonate. Les polymères ont été préparés par polymérisation en masse et réticulés en présence de diméthacrylate d'éthylène glycol **13** (Schéma 3). L'hydrolyse basique (NaOH dans le méthanol) a permis de libérer la molécule de cholestérol avec la perte simultanée de l'espaceur sous la forme de CO_2 (Schéma 3). Ceci permet de réaliser une empreinte avec un espace plus grand que la dimension du gabarit, favorisant généralement la recomplexation de la molécule cible.

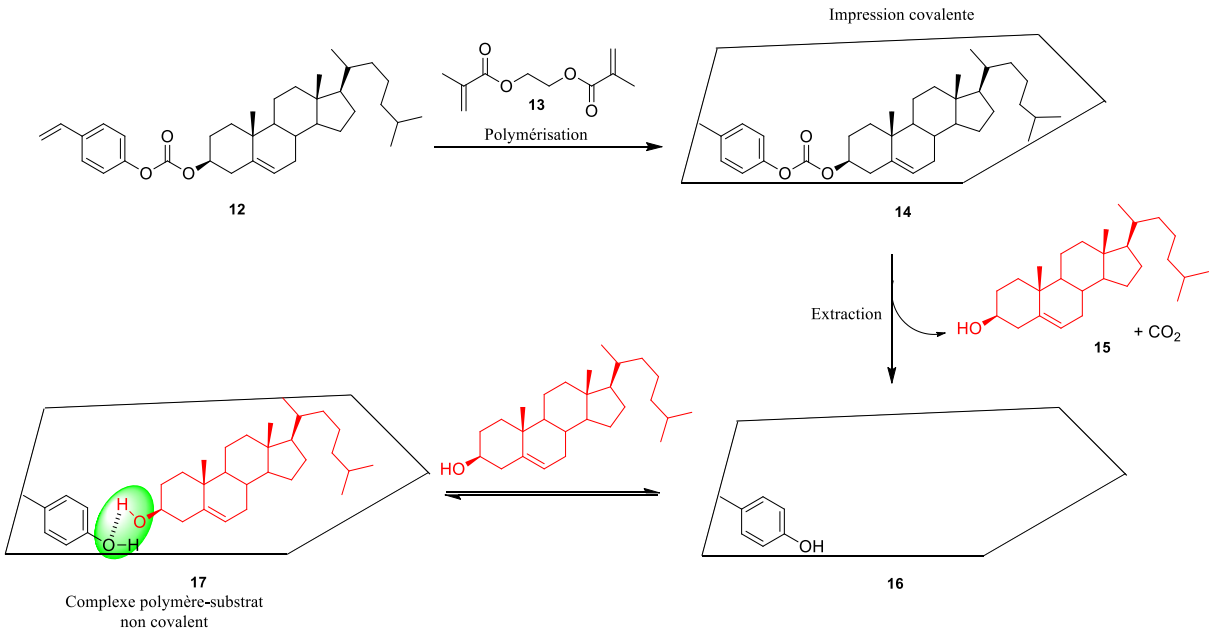


Schéma 3 : Impression par l'approche semi-covalente dans laquelle le gabarit et les monomères sont liés par un groupe espaceur

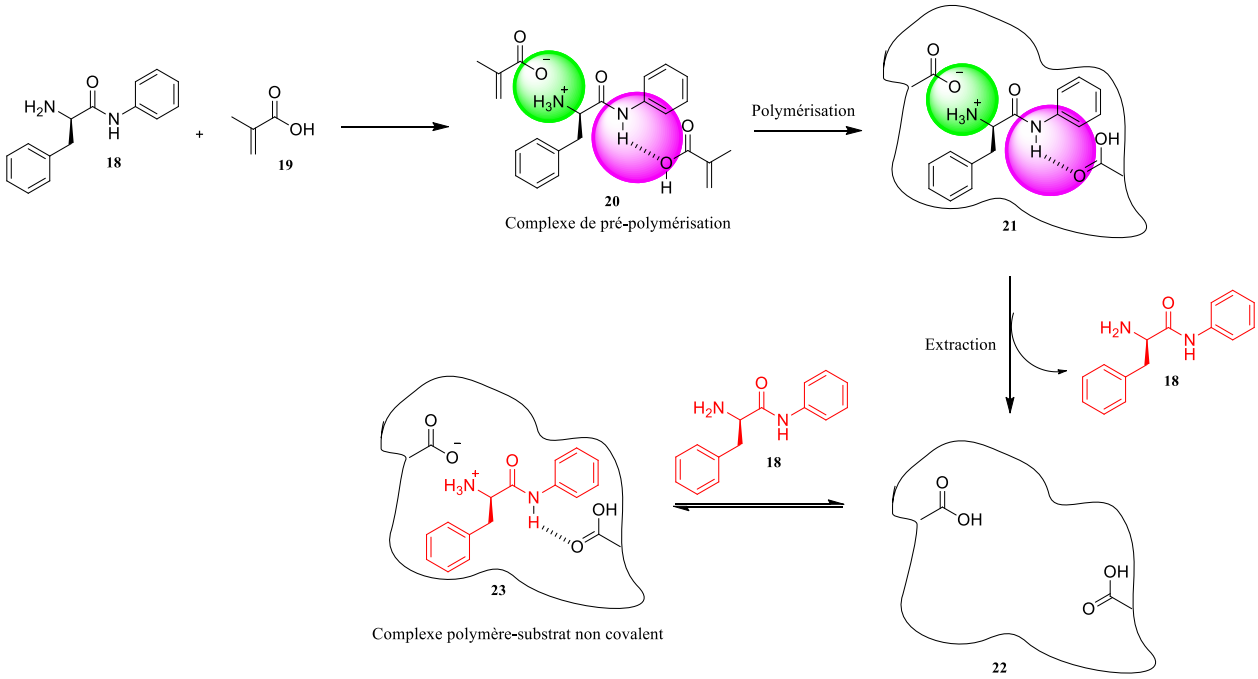
L'étape d'hydrolyse après polymérisation reste cependant l'inconvénient majeur de l'approche semi-covalente. Dans le cas des fonctions esters, les conditions d'hydrolyse sont dures (MeOH / NaOH conc. à reflux pendant plusieurs jours),[12] et dans certains cas, elles ne suffisent néanmoins pas pour cliver efficacement la liaison entre le gabarit et la matrice polymérique. Pour surmonter ce problème, le clivage est parfois réalisé en conditions réductrices (utilisation de $LiAlH_4$), ce qui entraîne la formation de fonctions alcools dans l'empreinte.[13]

I.3.3 Approche non-covalente

L'approche non covalente se base uniquement sur des interactions faibles entre le monomère fonctionnel et le gabarit pendant la polymérisation, tels que les liaisons hydrogène ou ioniques, le phénomène de π-π stacking, ou encore les liaisons de Van Der Waals. L'étape de reconnaissance se fait elle aussi de manière non covalente. Cette méthode a été introduite pour la première fois dans les polymères organiques par le groupe de Mosbach[14] qui a réussi à imprimer la L-phénylalanine en présence d'acide méthacrylique (Schéma 4) par des interactions électrostatiques et *via* des liaisons hydrogène.[15]

En raison de sa facilité de mise en œuvre, cette méthode est la plus largement utilisée pour créer des polymères à empreintes moléculaires. L'étude et la compréhension des phénomènes d'interaction entre les monomères et le gabarit sont donc très importantes pour obtenir des cavités ayant une bonne affinité pour la molécule cible. Différentes techniques spectroscopiques ont été développées pour caractériser ces interactions, telles que la spectroscopie UV-Visible, les expériences de titrage RMN, la spectroscopie FT-IR, la spectroscopie de fluorescence et la calorimétrie.[16]

Schéma 4 : Polymères à empreintes moléculaires préparés de manière non covalente[14]



Néanmoins, les monomères sont souvent mis en excès lors de la polymérisation conduisant à une distribution aléatoire et hétérogène des sites de reconnaissance dans le polymère. Cette hétérogénéité des sites de reconnaissance peut se traduire par une affinité modérée pour la cible. [17]

L'origine des interactions entre la molécule gabarit et la matrice du polymère étant liée au monomère fonctionnel utilisé, son choix est fondamental dans l'approche non covalente. De nombreux monomères fonctionnels commerciaux disponibles peuvent être utilisés, en général des dérives acryliques ou vinyliques. Ils offrent ainsi de multiples possibilités de synthèse de MIP afin d'en optimiser les propriétés.

De nombreux processus de reconnaissance biologique utilisent des métaux de transition (oligoéléments) pour former des liaisons de coordination avec les molécules cibles.[18] La force des liaisons de coordination est plus importante que les interactions non-covalentes lors des impressions moléculaires et peut être modulée en fonction de la nature des ligands et du métal.

Les liaisons de coordination pour la synthèse de MIP ont été décrites pour la première fois par le groupe de Fujii et coll., pour la préparation de polymères imprimés d'amino-acides à l'aide d'un complexe de Cobalt.[19]

Un polymère à empreinte moléculaire basé sur une métalloporhyrine de Zinc a été développé par l'équipe de Takeuchi. L'efficacité du monomère fonctionnel métalloporphyrine a été démontrée sur l'empreinte moléculaire d'un dérivé de l'adénine, la 9-éthyladénine **26** (9EA, Schéma 5).[20]

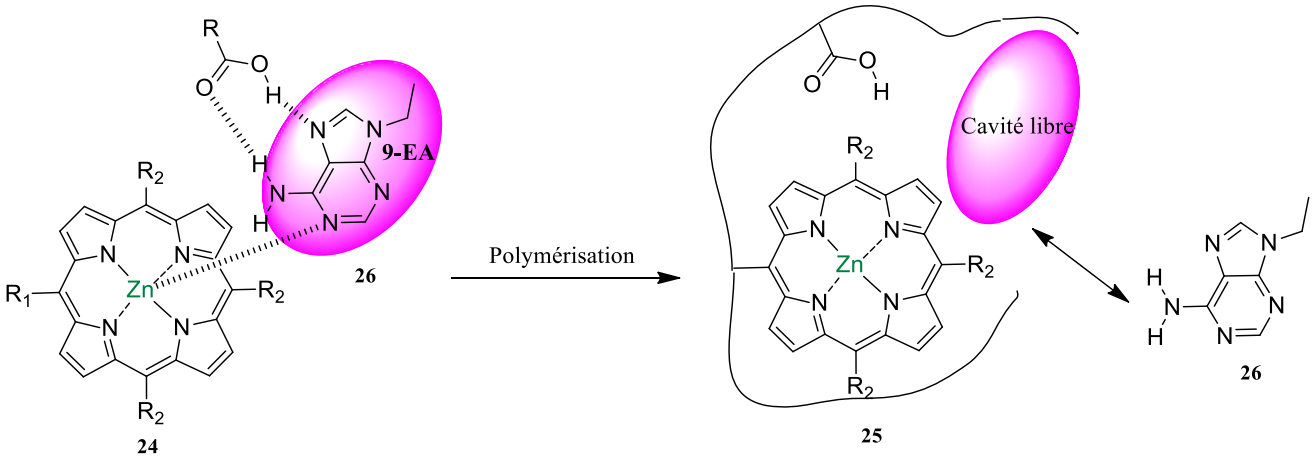


Schéma 5 : Polymères à empreintes moléculaires basés sur une métalloporphyrine de Zinc et préparés par une liaison de coordination

Des complexes de Nickel **26** ont aussi été décrits par Hart et Shea pour l'empreinte de peptides (Figure 3).[21]

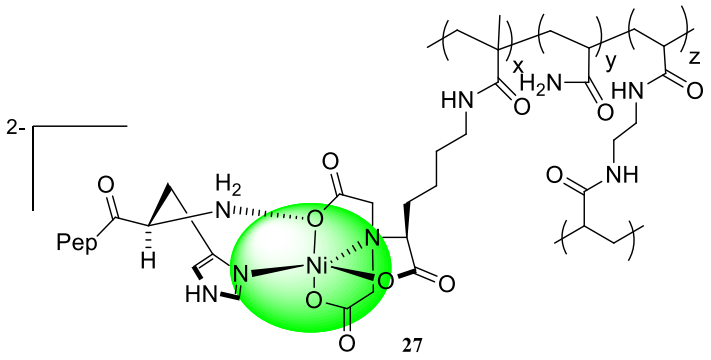


Figure 3 : Polymères à empreintes moléculaires basés sur des complexes de $Ni^{(II)}$ préparés par une liaison de coordination[21]

I.4 Polymérisation en masse « Bulk »

Différentes méthodes de polymérisation existent pour synthétiser des polymères à empreintes moléculaires, telles que les polymérisations en masse, en suspension ou en émulsion. Dans cette partie bibliographique, nous nous intéresserons à la polymérisation en masse qui a été la méthode retenue pour la synthèse des MIP dans le cadre de notre projet.

Cette méthode est la plus répandue et la plus simple à mettre en œuvre. Elle consiste à mélanger tous les composés : complexe de pré-polymérisation, agent réticulant, initiateur de radicaux et solvant puis d'initier la polymérisation par voie thermique ou photochimique. Un bloc de polymère est obtenu, qui est ensuite broyé et tamisé pour obtenir des particules dont la taille varie généralement de 20 à 50 µm. Le gabarit contenu dans le polymère est ensuite extrait en utilisant des conditions plus ou moins drastiques (Figure 4). Les principaux désavantages de cette technique sont l'hétérogénéité de taille et de forme des particules qui peut en résulter, ainsi que la perte d'une grande partie du polymère lors de l'étape de tamisage. L'image de Microscopie Electronique par Transmission (MET) montre l'hétérogénéité de la matrice.[22]

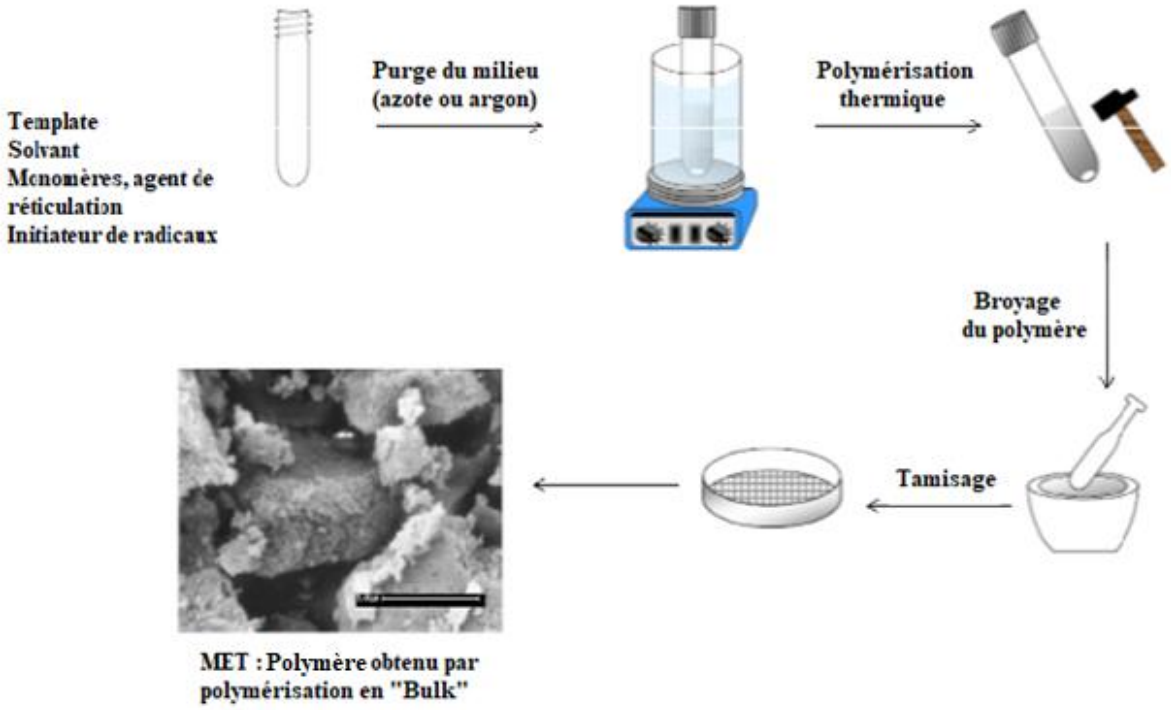


Figure 4 : Principe de la polymérisation en masse ou en « Bulk »

D'autres méthodes de polymérisation sont utilisées comme la polymérisation en suspension, par précipitation, par émulsion ou mini-émulsion.

La méthode par suspension a été rapporté par Mayes et Mobash,[23] qui permet de synthétiser des particules par initiation photochimique ou thermique. Le gabarit, les monomères et l'initiateur sont mis en suspension dans un solvant perfluoré qui est couteux afin de permettre la dispersion des particules formées. Ce processus permet d'éviter la formation d'un bloc dans le cas de la polymérisation en masse. La taille moyenne des particules est comprise entre 5 et 50 µm (Tableau 1).

La polymérisation par précipitation est une technique qui a été introduite par Ye et Mobash.[24] Les éléments de polymérisation sont dissous dans un solvant organique et sont additionnées lentement dans une grande quantité de solvant non miscible. Les particules insolubles, précipitent dans le milieu donnant des particules moyenne de l'ordre du micromètre (0,3-10 µm, Tableau 1).

Le principe de la polymérisation en émulsion ou en mini-émulsion consiste à mélanger dans un premier temps, le monomère, l'agent de réticulation et l'initiateur de radicaux constituant la phase organique. Dans un second temps, une solution aqueuse de tensioactif est ajoutée à la phase organique. Une émulsion « huile dans eau » est obtenue après agitation mécanique très rapide, puis le mélange est polymérisé.[25,11]

Cette méthode de polymérisation peut être réalisé en une ou deux étapes selon les conditions employées. Dans le cas, de la polymérisation en émulsion la taille des particules varie de 200 nm à 1 µm. Les nanoparticules sont stabilisées par un agent hydrophobe (ex : hexadécane).

La taille des particules peut être diminuer en supprimant les phénomènes de diffusion pour rendre l'émulsion plus stable, appelée dans ce cas mini-émulsion. Les particules sont de plus petites tailles (50 à 200 nm) en utilisant un procédé de sonication. Trois paramètres influencent la taille des particules : le temps de sonication, le pourcentage de tensioactif et la quantité d'agent hydrophobe utilisée (Tableau 1).[26]

<table>
<tr><th>Polymérisation</th><th>Avantages</th><th>Inconvénients</th><th>Tailles des particules</th></tr>
<tr><td>Masse</td><td rowspan="4">Facilité de mise en œuvre

Ni broyage, ni tamisage nécessaire</td><td>Broyage
Tamisage
Perte de polymère importante</td><td>Très irrégulière</td></tr>
<tr><td>Suspension</td><td>Cout du solvant perfluoré, perte d'une partie du gabarit</td><td>5-50 µm</td></tr>
<tr><td>Précipitation</td><td rowspan="3">Stabilité du gabarit en milieux aqueux</td><td>0,3-10 µm</td></tr>
<tr><td>Emulsion</td><td>1 µm- 200 nm</td></tr>
<tr><td>Mini-émulsion</td><td>< 200 nm</td></tr>
</table>

Tableau 1 : Principales caractéristiques des différentes techniques de polymérisation

I.4.1 Choix des réactifs et paramètres fondamentaux de polymérisation

Dans cette partie, nous nous focaliserons sur les paramètres essentiels pour la polymérisation à savoir l'influence du solvant qui joue le rôle de porogène dans la polymérisation en masse, le choix des monomères fonctionnels, l'influence de la température et l'agent de réticulation.

I.4.1.1 Influence du solvant

Le choix du solvant lors de la polymérisation est indispensable pour la formation des macropores à l'intérieur de la matrice polymèrique.[27] En effet, le porogène influence l'impression moléculaire, la structure du polymère, l'hétérogénéité et la distribution de la taille des particules. Le solvant facilite aussi la diffusion des substrats dans le polymère. En son absence, l'accessibilité des sites de reconnaissance deviendrait difficile et se traduirait par l'obtention de polymères très denses et solides.[28] Il est également nécessaire que les réactifs soient solubles avant la polymérisation.

Comme démontré par Sellergren et Shea[29] (Tableau 2), les solvants peu polaires comme le chloroforme et le benzène favorisent les interactions faibles entre le monomère fonctionnel et le gabarit dans l'étape de formation du complexe de pré-polymérisation.

Le solvant porogène permet de favoriser les interactions molécule empreinte - monomère et la stabilité du complexe formé. Les interactions mises en jeu (liaisons hydrogène ou des interactions ioniques) conduisent à de meilleurs résultats avec des solvants à faible caractère donneur ou accepteur de liaisons hydrogène et peu polaires (benzène, chloroforme, dichlorométhane).

Les solvants polaires et protiques étant défavorables à ces interactions dans le complexe de pré-polymérisation, ils entraînent de fait la formation d'un polymère moins sélectif vis-à-vis de la molécule empreinte. Toutefois, quand la solubilisation de la molécule empreinte dans le mélange de prépolymérisation l'impose, un solvant polaire (acétonitrile) peut être employé.[30]

Entrée	*Solvant*	*Facteur de séparation*	*Force de liaisons hydrogène*
1	Acide acétique	1.9	Forte
2	Diméthylformamide	2.0	Modérée
3	Tétrahydrofurane	4.1	Modérée
4	Chloroforme	4.5	Faible
5	Acétonitrile	5.8	Faible
6	Benzène	6.8	Faible

Tableau 2 : Effet de la polarité du solvant sur la sélectivité

I.4.1.2 Monomères fonctionnels

Le choix judicieux des monomères fonctionnels est indispensable pour avoir une bonne complémentarité des interactions avec la molécule à imprimer. Il existe un grand nombre de monomères fonctionnels disponibles, et la plupart sont commerciaux. Les plus connus et/ou utilisés sont classés dans trois catégories distinctes :

- les monomères neutres,
- les monomères acides
- et les monomères basiques (Figure 5).

Les monomères sont généralement présents en excès par rapport à la molécule empreinte afin de favoriser les interactions entre eux. De tous les monomères, l'acide méthacrylique (MAA) est de loin le plus utilisé. En effet, il peut interagir de différentes façons avec le gabarit, soit par des liaisons hydrogène, soit par des interactions dipolaires ou encore en formant des liaisons électrostatiques, ce qui en fait un monomère de choix.[17b]

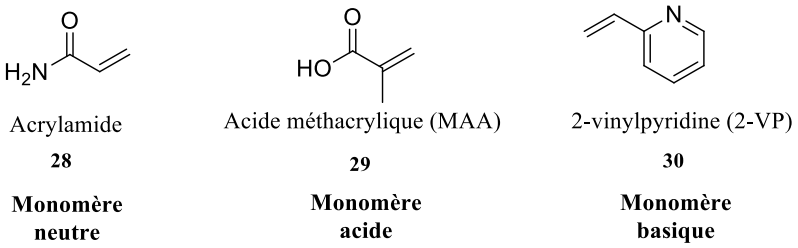


Figure 5 : Structure de monomères fonctionnels

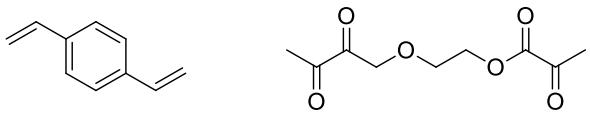
I.4.1.3 Rôle de l'agent de réticulation

L'agent de réticulation permet de former un polymère rigide, résistant aux conditions de température et de pression élevées, et inerte envers les acides et les bases. La sélectivité des MIP est fortement influencée par le type et la quantité d'agent de réticulation introduit lors de la pré-polymérisation. En effet, le pourcentage de réticulation optimal d'un polymère monolithique doit être compris entre 50 et 80% de la masse du polymère pour ne pas perturber l'accès des molécules aux cavités.

Le monomère réticulant permet également de contrôler la morphologie de la matrice (gel de type macroporeux ou microgels), de stabiliser la cavité correspondante à l'empreinte, d'apporter une stabilité mécanique à la matrice du polymère grâce à des interactions complémentaires de type hydrophobe ou π avec la molécule gabarit. Une quantité suffisante de monomères réticulants doit être utilisée pour la synthèse des MIP afin de conserver la stabilité des sites de reconnaissance.

La rigidité du polymère est un paramètre important dans la mesure où elle permet aux fonctions de rester dans leur position optimale pour que la reconnaissance soit efficace. Un polymère très réticulé donne un matériau très rigide avec des empreintes correctement formées, d'où l'importance d'utiliser le monomère réticulant en excès. Malgré tout, une trop grande quantité de réticulant pourrait conduire à l'augmentation des interactions non spécifiques, tandis qu'une trop faible quantité diminuerait le nombre de sites de reconnaissance spécifique.

L'éthylène glycol diméthacrylate **32** est un des réticulants les plus couramment utilisés, ainsi que le divinylbenzène **31** (DVB) (Figure 6). La structure chimique uniquement hydrocarbonée du DVB fait de lui un composé relativement inerte vis-à-vis des autres éléments intervenant dans la polymérisation et confère au MIP une grande rigidité ainsi qu'une grande résistance physique (température, pression) et chimique (acidité…). Cela en a fait un monomère réticulant de premier choix.

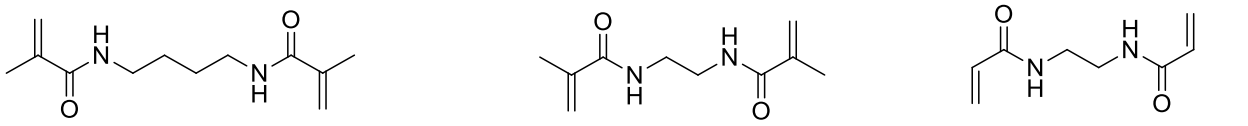


Divinylbenzène
31

Ethylène glycol diméthacrylate
32

Figure 6 : Structure de monomères réticulant les plus utilisés

Certaines études ont également démontré l'importance du monomère réticulant sur la porosité du monomère. En effet, plus la flexibilité du monomère réticulant est diminuée grâce à l'abaissement des longueurs des chaines hydrocarbonées, plus la formation de macropores est favorisée au sein du polymère. Ainsi, le diamètre des pores résultants augmentera jusqu'à l'obtention de macropores (diamètre supérieur à 50 nm) en passant du monomère réticulant **33** au **34**, ou du monomère **34** au **35** (Figure 7).[31]



N,N-butylène diamine diméthacrylamide
33

N,N-éthylène diamine diméthacrylamide,
34

N,N-éthylène bis(acrylamide)
35

Figure 7 : *Structure de monomères réticulants*

I.4.1.4 Influence de la température et des initiateurs de radicaux

La température de polymérisation influence la sélectivité des MIP et son choix dépend de la température de décomposition de l'initiateur de radicaux utilisé. Généralement, des

initiateurs azotés sont utilisés car ils sont capables d'amorcer un grand nombre de monomères, que cela se fasse par voie thermique ou photochimique. L'initiateur de radicaux le plus utilisé pour la synthèse des MIP est l'azoisobutyronitrile **36** (AIBN, Figure 8) qui présente une température de décomposition de 65°C. D'autres initiateurs peuvent également être employés comme le 2,2'-azo-bis-(2,4-diméthylvaléronitrile) **37** (ABDV) qui présente une température de décomposition inférieure de 40°C (Figure 8). [32]

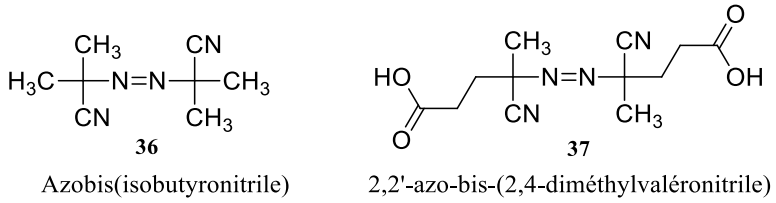


Figure 8 : Structures des amorceurs radicalaires les plus couramment utilisés pour la préparation de MIP

Des polymérisations peuvent être réalisées à température ambiante, voire à 0°C en cas d'initiations photochimiques.[33] Il a été démontré que les empreintes moléculaires préparées à basse température étaient plus sélectives que celles préparées à plus haute température. En effet, surtout dans le cas de l'approche non-covalente, la stabilité du complexe de pré-polymérisation est défavorisée à haute température.

En revanche, après polymérisation, les MIP sont stables thermiquement, dans certains cas même jusqu'à 200°C.

I.5 Caractérisations et reconnaissance des MIP

L'utilisation d'un MIP repose sur la reconnaissance des molécules cibles par le biais des cavités créées. La caractérisation d'un MIP consiste donc à déterminer la morphologie du polymère, à mettre en évidence la formation des empreintes, à évaluer leur nombre et leur affinité pour la molécule cible.

Des études spécifiques ont été élaborées afin d'évaluer l'affinité du MIP envers une molécule d'intérêt. Elles reposent principalement sur des études de « compétition » en termes d'affinité pour le MIP entre la molécule cible et des composés dits « interférents », mais également sur la comparaison en termes de reconnaissance entre le polymère imprimé (MIP) et le polymère non imprimé (NIP). Un MIP sera dit spécifique s'il peut retenir la molécule cible, alors qu'aucune rétention n'est observée par le NIP.

I.5.1 Morphologie des MIP

La porosité et la surface spécifique des polymères sont déterminées par des études morphologiques. La porosité est évaluée par l'étude en microscopie à balayage (MEB) qui permet de mesurer et visualiser la taille des pores, ainsi que l'homogénéité du système. La taille des pores est plus particulièrement déterminée par analyse de microscopie à balayage confocale.[34]

La surface spécifique du MIP, est évaluée par la méthode de Brunauer Emmett et Teller (BET) à l'aide de tracés d'isothermes d'adsorption d'un gaz inerte (généralement l'azote) à la surface du polymère. Pour un volume de pores donné, la valeur de la surface spécifique varie inversement avec la taille des pores. Ainsi, des micropores conduisent à des valeurs de surface spécifique supérieures à 500 m^2/g, tandis que des macropores conduisent à des valeurs inférieures à 10 m^2/g.[35]

I.5.2 Reconnaissance moléculaire

L'évaluation par des tests d'adsorption ou « binding » est la méthode couramment employée pour évaluer l'affinité des MIP. La méthode la plus utilisée pour déterminer les constantes d'affinités et la sélectivité des polymères imprimés est la méthode de reconnaissance appelée « batch process ».

I.5.2.1 Méthode de « Batch process »

Le polymère imprimé est mis en solution avec la molécule cible dans un solvant donné, à température constante avec ou sans agitation pendant un temps d'incubation précis, généralement 24 heures. La complexation entre le MIP et la molécule gabarit permet de déterminer la concentration d'analyte reconnue (B) par le polymère. Le polymère peut être donc séparé par filtration ou centrifugation. Ainsi la concentration d'analyte non reconnue qui reste en solution (F) est mesurée et quantifiée par les méthodes classiques d'analyse comme la CLHP (Chromatographie Liquide Haute Performance) ou par toute autre technique de dosage. La concentration de gabarit reconnue par le MIP est calculée par la différence entre la concentration initiale de l'analyte à t = 0 (I) et la concentration libre (F) après l'incubation avec le polymère (B = I – F, Figure 9). Ces valeurs de concentration permettent d'effectuer une étude détaillée de la capacité et de la sélectivité, ainsi que de l'homogénéité des sites de reconnaissance des MIP. La méthode permet également d'accéder aux isothermes de reconnaissance moléculaire pour déterminer l'homogénéité de la distribution des sites d'interaction et les constantes d'affinité.[34,36]

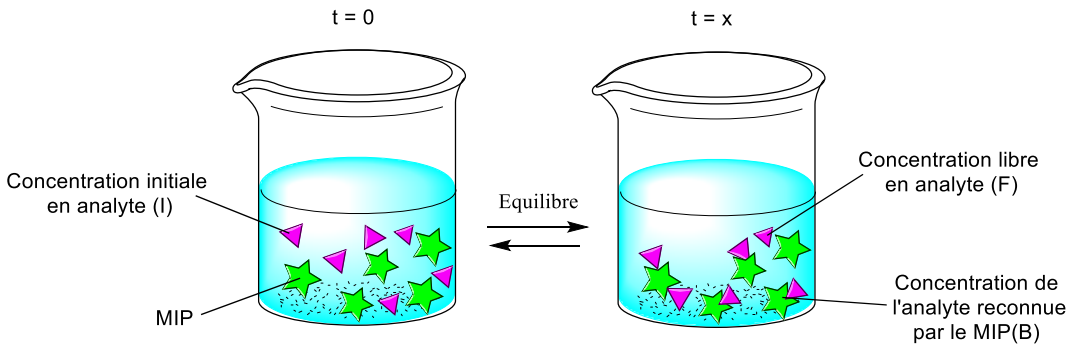


Figure 9 : Complexation par la méthode « batch process »

I.5.2.2 Caractérisation de la reconnaissance moléculaire du MIP

Les résultats obtenus par la méthode de binding permettent de tracer des isothermes de fixation ou d'adsorption qui représentent en ordonnée la quantité de molécules cibles fixées (B) par le polymère, et en abscisse la quantité de molécules cibles libres dans le milieu (F) (Figure 10).

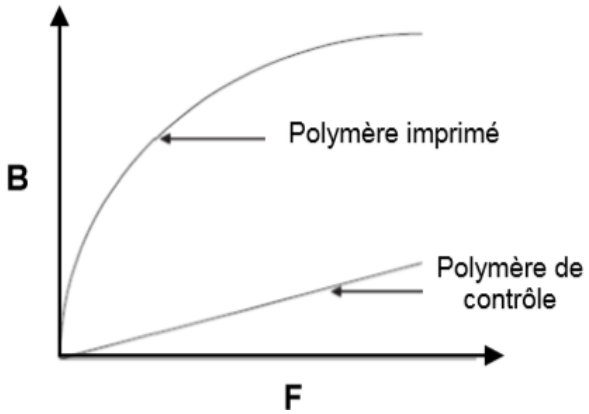


Figure 10 : Profil d'isothermes du MIP et NIP

Des solutions à diverses concentrations sont réalisées afin de tracer les courbes d'isothermes d'adsorption. L'isotherme est ensuite analysé suivant différents modèles. La construction la plus fréquemment rencontrée est celle de Scatchard qui donne accès aux nombres de sites de MIP (µmol/g) et à la constante d'association Ka (M^{-1}) ou de dissociation K_D (M) de la molécule empreinte.

La comparaison de l'isotherme d'adsorption sur le MIP à celle obtenue sur le NIP permet d'évaluer la sélectivité du polymère. Si l'isotherme du MIP croît plus rapidement que celle du NIP, on peut conclure à la formation de cavités au sein du MIP. De plus, les plateaux de saturation des isothermes permettent d'accéder aux quantités maximales pouvant être fixées sur les polymères (K_{max}), soit aux valeurs des capacités du MIP et du NIP.

Le facteur d'impression, noté I, est défini comme le rapport des quantités adsorbées, Qads de la molécule empreinte sur le MIP et le NIP respectivement, soit : $I = Q_{MIP}/Q_{NIP}$.[12] Ce facteur d'impression renseigne sur la présence de sites spécifiques de reconnaissance dans le MIP. Lorsque ce facteur est supérieur à 1, la molécule empreinte possède une affinité spécifique pour les empreintes du MIP.

A partir du rapport entre deux facteurs d'impression (I1 pour le composé 1 et I2 pour le composé 2), un facteur de sélectivité spécifique peut être calculé : S= I1/I2

Un MIP peut être constitué de sites de reconnaissance homogènes ou au contraire de sites de reconnaissance hétérogènes. Le modèle d'affinité homogène suppose que les sites d'interactions à l'intérieur de la matrice de polymère aient une forme quasi-similaire, avec une seule série de paramètres de reconnaissance (le nombre total des sites de reconnaissance N, la constante d'affinité K).

Dans le deuxième cas, le modèle d'affinité hétérogène, l'existence de deux ou plusieurs types de sites d'interactions est envisagée, avec chacun une constante d'affinité différente (Ki).

I.5.2.2.1 Modèle de Scatchard

Le modèle le plus facile à mettre en œuvre, est le modèle de Scatchard décrit par l'équation suivante : $[B]/[F] = KN-KB$

[B] (µmol/g) : quantité de gabarit fixée sur le polymère

[F] (mmol/L) : quantité de gabarit non fixée sur le polymère

N (µmol/g) : nombre de sites de reconnaissance

K : constante d'affinité

Ce modèle d'affinité homogène est le même que celui utilisé dans les structures des enzymes, des anticorps et des récepteurs artificiels. Dans un premier temps, l'évolution du rapport B/F en fonction de la concentration reconnue par le polymère (B) est déterminée. Les systèmes d'empreintes moléculaires qui correspondent à une régression linéaire, sont caractérisés par un modèle homogène de sites d'affinité (Figure 11 a).

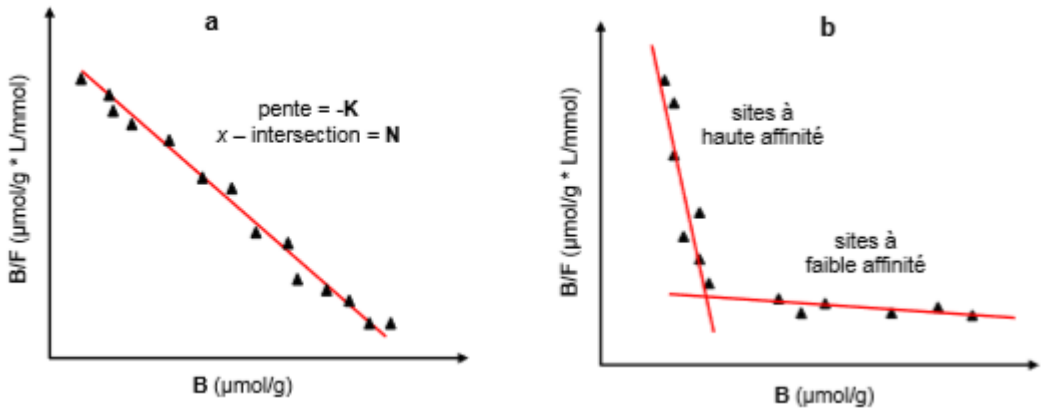


Figure 11 : Scatchard plots pour un polymère imprimé contenant des sites d'interaction homogènes (a) et pour un polymère imprimé contenant de sites d'interaction hétérogènes (b).

La pente correspond à la constante d'affinité **K** et la valeur (x – intersection) correspond au nombre total des sites de reconnaissance **N**.

Généralement les MIP suivent le modèle hétérogène (Figure 11b) et le modèle d'analyse utilisant le tracé de Scatchard est très simple pour caractériser avec précision l'hétérogénéité des polymères imprimés. Le modèle de Freundlich est cependant le plus souvent utilisé dans le cas d'un modèle hétérogène.

I.5.2.2.2 Modèle de Freundlich[36-37]

Les courbes isothermes sont analysées suivant l'équation suivante :

$$B=aF^{m}$$

La reconnaissance du polymère est représentée sous une forme logarithmique en représentant la valeur de log B en fonction de log F (Figure 12a). La ligne droite obtenue correspond à l'équation de Freundlich suivante :

$$\log B = m \log F + \log a$$

où « m » et « a » sont respectivement deux paramètres correspondants à la pente et à la valeur de $10^{(y\text{-intersection})}$.

Ces deux variables permettent de calculer ensuite le nombre des sites d'interactions (Ni) qui ont une certaine constante d'affinité (Ki), grâce à l'équation ci-dessous (Figure 12b) :

$$Ni = 2.3\ am\ (1 - m^2)\ Ki^{-m}$$

Le minimum (K_{min}) et le maximum (K_{max}) de la distribution de constante d'affinité sont donnés dans la pratique, par les limites de concentration de l'analyte, utilisés lors des essais d'incubation avec le polymère imprimé :

$$K_{min} = 1 / F_{max} \qquad K_{max} = 1/ F_{min}$$

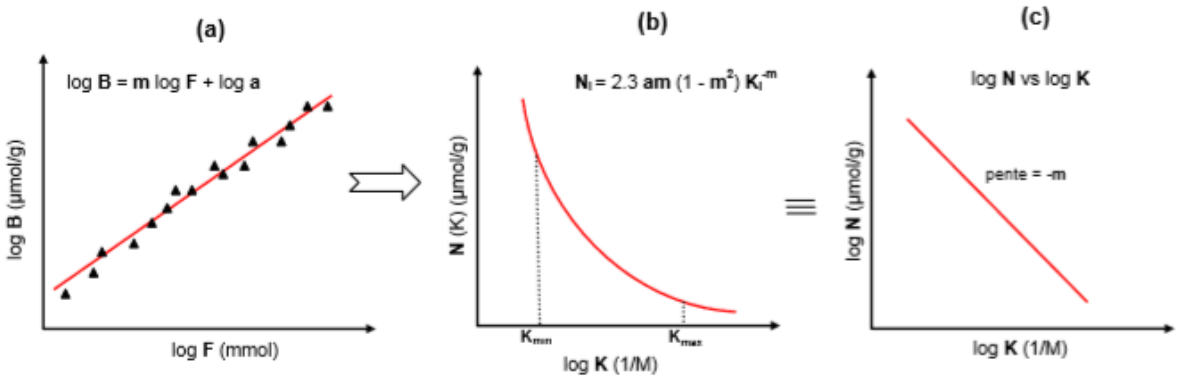


Figure 12 : Représentation de l'équation Freundlich (a) et de la distribution des constantes d'affinités (b et c)

Les courbes (b) et (c) de la Figure 12 peuvent être représentées sous forme logarithmique définissant la distribution des constantes d'affinités. Une ligne droite est obtenue, et la pente représente le paramètre m vu précédemment. Cette variable, appelée indice d'hétérogénéité, est une mesure de l'hétérogénéité du système et sa valeur est comprise entre 0 et 1. Plus la valeur est proche de 1, plus le système est considéré comme homogène, avec une distribution des constantes d'affinité plus étroite.

I.6 Applications des polymères à empreintes moléculaires en catalyse : Mimes d'enzymes

Le but de ce projet consiste à développer des mimes d'enzymes appliqués en catalyse. En effet, les enzymes sont des biocatalyseurs capables de catalysées des réactions biochimiques (hydrolases, peroxydases, lyases, isomérases). Pour imiter les sites actifs des protéines, des éléments de reconnaissance totalement synthétiques ont été développés comme les cyclodextrines, les calixarènes ou encore les polymères à empreintes moléculaires. L'impression moléculaire est une méthodologie utilisée pour créer des sites de reconnaissance dans des polymères synthétiques par copolymérisation d'un monomère fonctionnel et d'un agent réticulant en présence de l'analyte cible. Après avoir retiré le modèle, l'empreinte est alors libérée. Les polymères à empreintes moléculaires sont donc utilisés comme mimes d'enzymes dans le cadre de la catalyse afin d'imiter l'activité catalytique des enzymes vis-à-vis d'un substrat spécifique.

A titre d'exemple, l'équipe de Jong-Kim a synthétisé un MIP sélectif du diphénylcarbonte en mimant la réaction d'hydrolyse réalisée par les estérases.[38]

Le MIP a été préparé à partir d'une molécule empreinte, le diphénylphosphate lié par une liaison covalente au *N*-hydromaléimide. Le MIP a été obtenu après polymérisation en

présence de divinylbenzène, de styrène et d'AIBN dans le THF afin de former l'impression moléculaire. Après hydrolyse et libération de la cavité artificielle, le diphénylcarbonate **40** est hydrolysé à l'aide du nucléophile *N*-hydrosuccinimide afin d'aboutir à la formation de phénol, d'eau et de dégagement de dioxyde de carbone (Schéma 6).

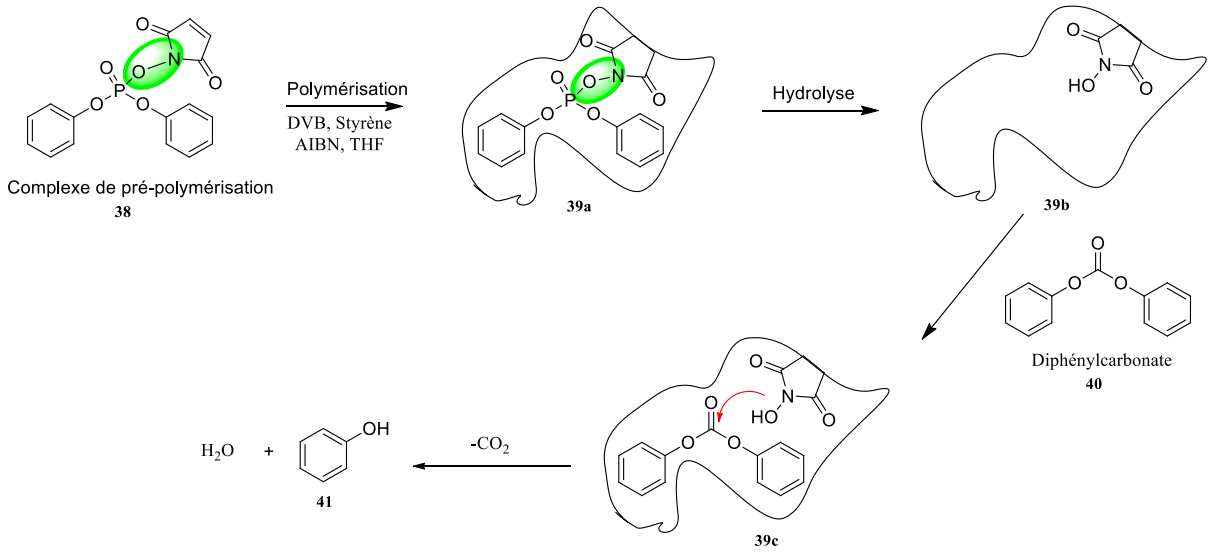


Schéma 6 : Mime d'enzymes de MIP sur le diphénylcarbonate par une approche covalente

L'équipe de Diaz-Diaz a développé un procédé de mimes d'enzymes de polymères à empreintes moléculaires à activité catalytique imitant des héméprotéines.[39] Dans ce travail, un MIP a été synthétisée pour catalyser l'oxydation du 2,4,6-trichlorophénol (TCP), la molécule substrat et utilisée comme modèle. Une molécule de chlrohémine a été utilisée comme centre catalytique et quatre monomères fonctionnels et six solvants ont été testés. L'agent de réticulation employé est l'éthylène glycol diméthacrylate (EGDMA).

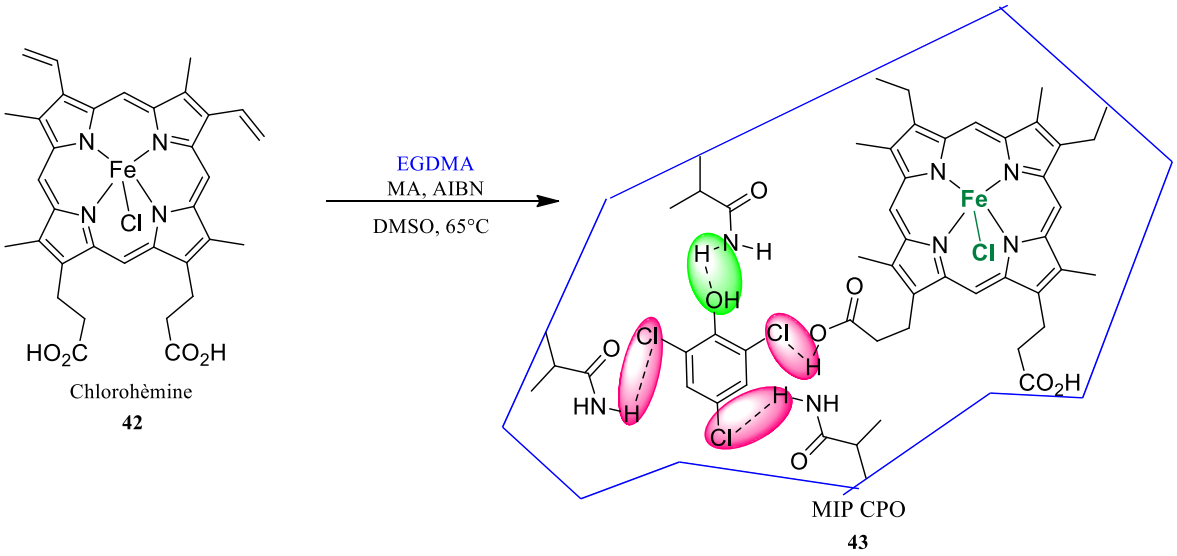


Schéma 7 : Synthèse de MIP à base d'une chlorohémine

Selon les expériences effectuées par cette équipe, les MIP de méthacrylamide et de 4-vinylpyridine imitent avec succès la capacité récemment découverte de la chloroperoxydase (CPO) capable de catalyser la réaction de déhalogénation oxydante du TCP **44** (Schéma 8). Ils présentent de bonnes propriétés catalytiques et une bonne sélectivité du substrat.

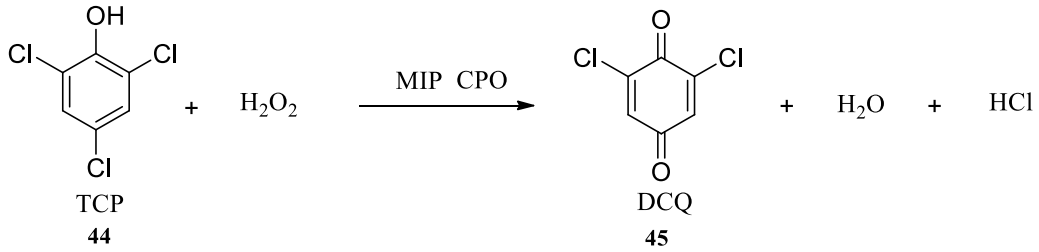


Schéma 8 : Catalyse oxydante de déhalogénation du TCP en DCQ par un MIP

I.7 Conclusion

Les polymères à empreintes moléculaires sont des matériaux de synthèse obtenus par polymérisation de monomères autour d'une molécule cible. Après élimination de ce gabarit, le polymère obtenu contient des cavités, ou empreintes, possédant des sites de reconnaissance spécifiques. Ces polymères peuvent donc être comparés à un système enzymatique ayant comme site de reconnaissance un substrat spécifique. Les polymères ont la possibilité de pouvoir reconnaître une molécule ou une famille de molécules analogues dans des mélanges complexes. Cette propriété de reconnaissance rend les polymères à empreintes moléculaires particulièrement intéressants pour différents types d'applications comme la séparation d'échantillons, la synthèse de biocapteurs ou encore de catalyseurs macromoléculaires.

Notre projet a plus particulièrement porté sur ce dernier type d'applications, avec comme objectif le développement d'un catalyseur d'oxydation à base de porphyrine, un macrocycle tétrapyrrolique bien connu puisqu'il constitue l'élément clé des enzymes à cytochrome P450. Localisés principalement dans les microsomes du foie, ces métallo-enzymes sont impliquées dans bon nombre de réactions d'oxydation-réduction au sein des organismes vivants. Bien qu'intéressante, leur utilisation sur un plan biomimétique pour oxyder des dérivés reste limitée à de faibles quantités de produits. Pour remédier à cet inconvénient, les porphyrines synthétiques ont fait l'objet d'études approfondies, en particulier pour mieux comprendre les processus naturels de catalyse et pour pouvoir réaliser des réactions sélectives.

Cependant, si le motif porphyrine est impératif pour mimer le site actif de ces enzymes, l'environnement protéique joue un rôle tout aussi déterminant dans la catalyse naturelle pour orienter le substrat vers le centre métallique de la porphyrine. La création de cavités dans un polymère autour d'un dérivé porphyrinique pourrait ainsi permettre de reproduire plus fidèlement un site actif artificiel entouré d'une partie hydrophobe.

II. Les métalloporphyrines et l'oxydation biomimétique

Mason[40] et Hayaishi[41] ont démontré qu'un ou deux atomes d'oxygène peuvent être directement incorporés dans les molécules organiques après une oxydation enzymatique. Les enzymes incorporant des atomes d'oxygène à partir du dioxygène ont été désignées « oxygénases » par Hayaishi. Elles sont largement répandues dans les végétaux, les animaux ainsi que les micro-organismes. Elles peuvent être classées en deux catégories, les monooxygénases (1) et les dioxygénases (2), selon qu'un ou deux atomes d'oxygène sont incorporés dans le substrat, où XH et AH_2 représentent le substrat et un donneur d'électron respectivement.

Monooxygènase: $XH + {}^*O_2 + AH_2 \rightarrow X^*(O)H + H_2O + A$ (1)

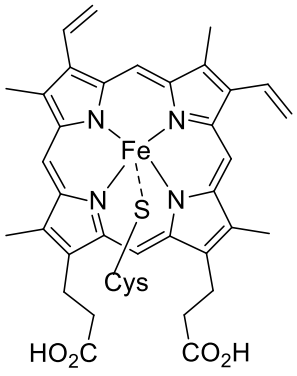
Dioxygénase: $XH + {}^*O_2 \rightarrow X^*(O_2)H$ (2)

Les monooxygénases nécessitent deux électrons pour activer dans un premier temps le dioxygène puis réduire le deuxième atome d'oxygène du dioxygène à l'eau. Ainsi, les monooxygénases sont parfois appelées « oxydases à fonction mixte » ou « oxygénases à fonction mixte » puisqu'elles fonctionnent à la fois comme une oxygénase et comme une oxydase. Les deux électrons peuvent provenir d'un agent réducteur comme le NADH (monooxygénase externe) ou du substrat lui-même (monooxygénase interne). De même, les dioxygénases sont elles-mêmes sub-divisées en classes dites intermoléculaires et intramoléculaires, selon que les deux atomes d'oxygène sont incorporés dans des substrats distincts ou dans une seule molécule. Les termes mono- et dioxygénase ne se rapportent qu'à la stœchiométrie de la réaction d'incorporation de l'oxygène et non au mécanisme d'activation du dioxygène.[42]

Les chimistes inspirés par la nature se sont largement intéressés à la synthèse de métalloporphyrines. En effet, on retrouve notamment ce type de structure au niveau de l'hémoglobine ou de la myoglobine, cofacteurs des enzymes à cytochrome P-450 impliquées dans le transport *in vivo* du dioxygène. Sous l'action d'oxygène moléculaire et d'un co-réducteur (le NADH), ces enzymes utilisent le dioxygène en tant qu'agent oxydant et montrent une activité de type catalase (décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène), mono-oxygénase pour l'hydroxylation d'alcanes et l'époxydation d'hydrocarbures (ou dérivés) insaturés.[43]

II.1 Les enzymes à cytochrome P450

Après la découverte d'oxygénases par Mason et Hayaishi, Omura et Sato[44] ont identifié une protéine hème et l'ont désigné « cytochrome P450 ». Les enzymes P-450 jouent un rôle clé dans la transformation oxydative des molécules endogènes et exogènes. Leur site actif contient une protoporphyrine IX de fer (III) liée à la protéine par l'atome de soufre d'un ligand cystéine (Figure 13). Ces enzymes sont capables de catalyser plusieurs réactions telles que la monooxygénation (principalement l'hydroxylation des liaisons saturées carbone-hydrogène et l'époxydation des liaisons insaturées), la déshydrogénation ainsi que le clivage de liaisons C=N.[42]



46

Figure 13 : La protoporphyrine IX de Fer (III)

Aujourd'hui, plus de 450 enzymes à cytochrome P450 (CYP) différentes sont connues. Ces enzymes sont présentes dans pratiquement tous les tissus et les organes de mammifères, ainsi que dans les plantes, les bactéries, les levures et les insectes. Chez les mammifères, les CYP sont présentes avec des concentrations élevées dans le foie et l'intestin grêle. Les CYP sont également présentes dans les membranes internes mitochondriales de certains tissus au niveau du cortex surrénal, des testicules, des ovaires, des seins et du placenta, et sont ainsi impliquées dans la synthèse et la dégradation des hormones stéroïdes endogènes. En outre, les CYP jouent un rôle majeur dans le métabolisme des vitamines, l'oxydation des acides gras insaturés et la biosynthèse du cholestérol.

II.2 Réactions catalysées par les enzymes à cytochrome P450

Les enzymes à cytochrome P450 sont capables de transférer un atome d'oxygène d'une molécule de dioxygène vers une très large variété de substrats. Les réactions d'oxydations qu'elles catalysent ont fait l'objet d'un grand nombre de travaux à travers le monde, focalisés notamment sur l'hydroxylation des alcanes et des arènes, la sulfoxydation de sulfures, ainsi que

l'époxydation des oléfines. Des réactions de *N*-oxydation, de déshalogénation, de *N*-, *S*- et *O*- désalkylation, de déformylation d'aldéhydes, sont susceptibles d'être catalysées par ces enzymes, mais également diverses autres réactions (Schéma 9).[45]

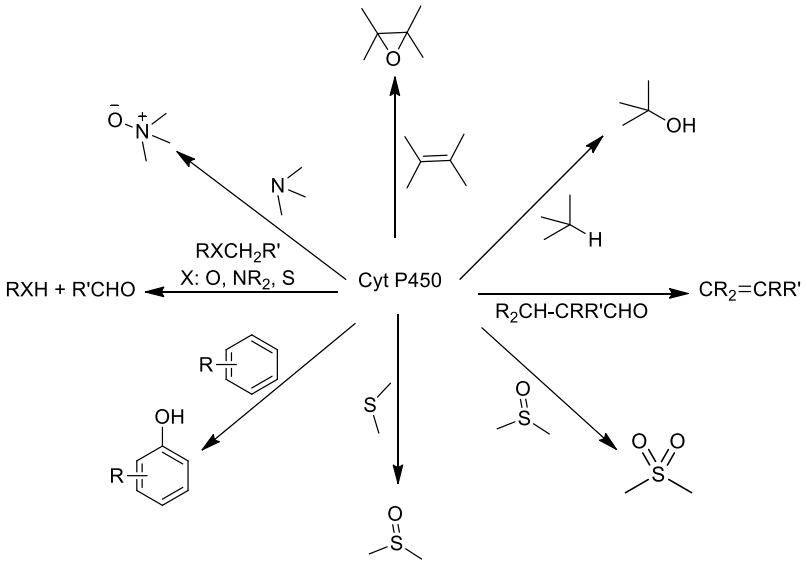


Schéma 9 : Exemples de réactions d'oxydations catalysées par les enzymes à cytochrome P450

II.3 Cycle catalytique des enzymes à cytochrome P450

Le cycle catalytique des enzymes à cytochrome P450 (Schéma 10) implique une ferro-porphyrine, du dioxygène ainsi que la présence d'un réducteur.[46]

La première étape fait intervenir le substrat qui se lie à l'enzyme. Le centre ferrique est réduit à l'état ferreux par l'apport d'un électron (étape 2). La molécule de dioxygène est ensuite liée au complexe enzyme – substrat pour donner naissance à un nouveau complexe super-oxo (étape 3). Ce complexe est transformé en un complexe peroxoferrique par l'apport d'un électron (étape 4). Le complexe est protoné, suivi de la coupure homolytique de la liaison O-O. L'élimination d'une molécule d'eau mène à l'espèce réactive fer-oxo. La dernière étape consiste en un transfert de l'atome d'oxygène du complexe oxo vers le substrat lié à l'enzyme, puis en la dissociation du produit oxydé avec la régénération de l'enzyme (Schéma 10).

Les trois premières étapes du cycle ont été déterminées de façon spectroscopique directement sur des enzymes à cytochrome P 450. En revanche, le transfert du second électron, la coupure de la liaison O-O, et l'oxydation du substrat se déroulent trop rapidement pour pouvoir être observés et ont été étudiés par analogie avec des modèles synthétiques de ces enzymes, des métalloporphyrines et sur des enzymes structuralement proches, les peroxydases.[47]

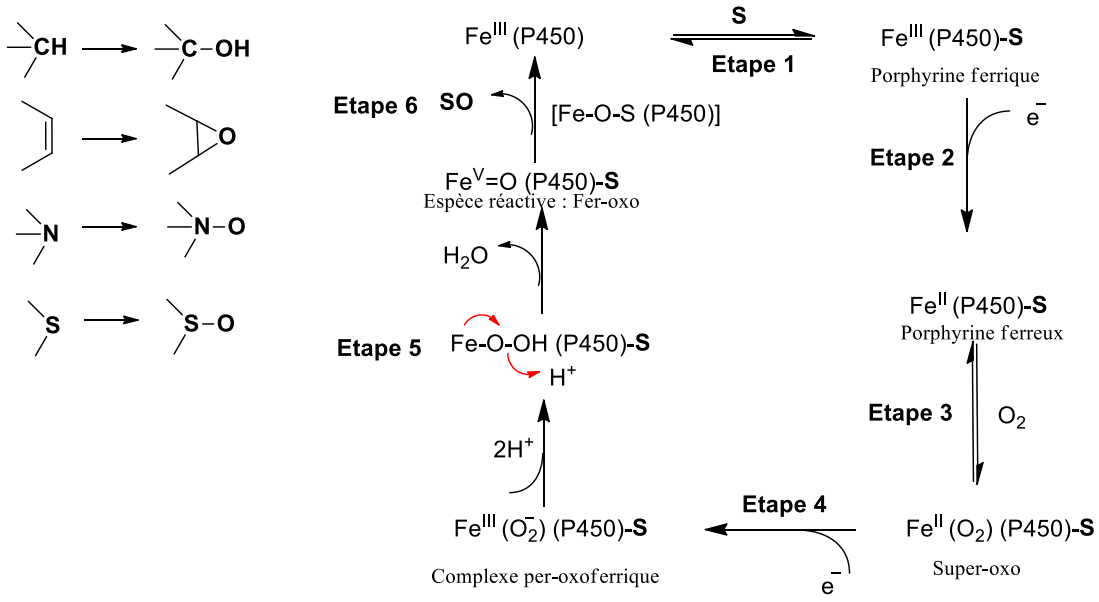


Schéma 10 : Cycle catalytique des enzymes à cytochrome P450 (monooxygénase)[47]

II.4 Mécanismes d'oxydation de réactions catalysées par des enzymes à cytochrome P450

Le mécanisme d'oxydation général est présenté dans le Schéma 8 dans le cas de l'hydroxylation des alcanes et l'oxydation des alcènes.

L'hydroxylation des liaisons C-H se produit en deux étapes : (a) l'abstraction d'un atome d'hydrogène par l'intermédiaire fer-oxo ayant une réactivité de type radical libre, et (b) l'oxydation du radical libre intermédiaire par l'espèce $Fe^{(IV)}$-OH à l'intérieur du site actif avec le transfert de son ligand OH, conduisant au substrat hydroxylé.

Plusieurs mécanismes ont été proposés pour l'oxydation des liaisons doubles d'alcènes ou des cycles aromatiques par les enzymes à cytochrome P450. Les radicaux libres ou les cations formés par addition de l'espèce Fe=O à la double liaison subiraient une réaction intramoléculaire avec la formation de l'époxyde correspondant.[48]

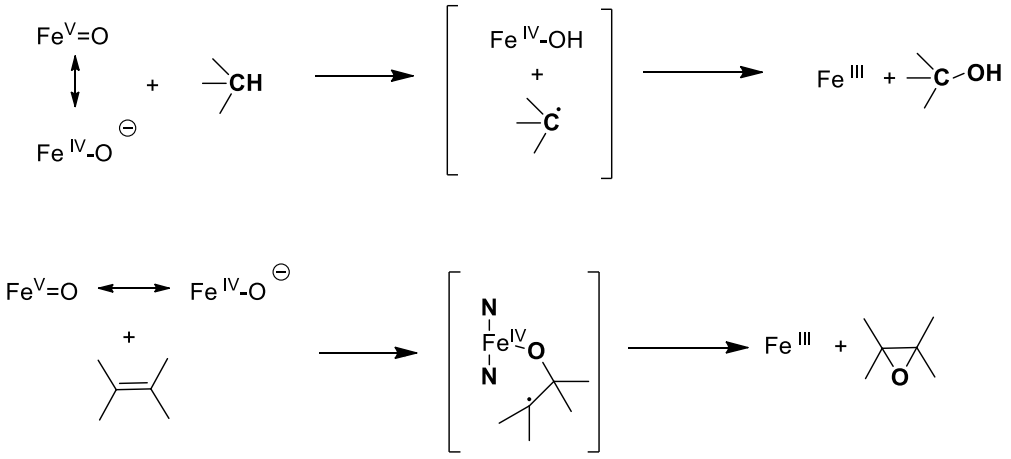


Schéma 11 : Mécanisme général d'oxydation pour l'hydroxylation des alcanes, époxydation des alcènes par les cytochrome P450[48]

Les CYP catalysent également l'oxydation d'hétéroatomes tels que l'azote et le soufre. Dans le cas de l'oxydation enzymatique de sulfures en sulfoxydes par des peroxydases, de nombreuses études ont été réalisés afin de déterminer le mécanisme d'oxydation. L'espèce réactive fer-oxo porphyrine (cation radicalaire $P^{+\bullet}$-Fe(IV)=O) de la réaction d'oxydation est obtenue par réaction de l'enzyme avec du peroxyde d'hydrogène (Schéma 12, voie a). A l'issue de cette étape, deux hypothèses sont envisageables :

- soit le sulfoxyde est formé par un transfert direct d'un oxygène à l'atome de soufre par le cation radical de l'espèce de $P^{+\bullet}$-$Fe^{(IV)}$=O (Schéma 12, voie b),
- soit le transfert d'un électron s'effectue d'abord à l'aide du cation radicalaire $P^{+\bullet}$-$Fe^{(IV)}$=O (voie c) pour former un cation radicalaire sulfure. Le sulfoxyde est ensuite formé par transfert de l'atome d'oxygène *via* l'espèce P-$Fe^{(IV)}$=O (Schéma 12 , voie d).[49]

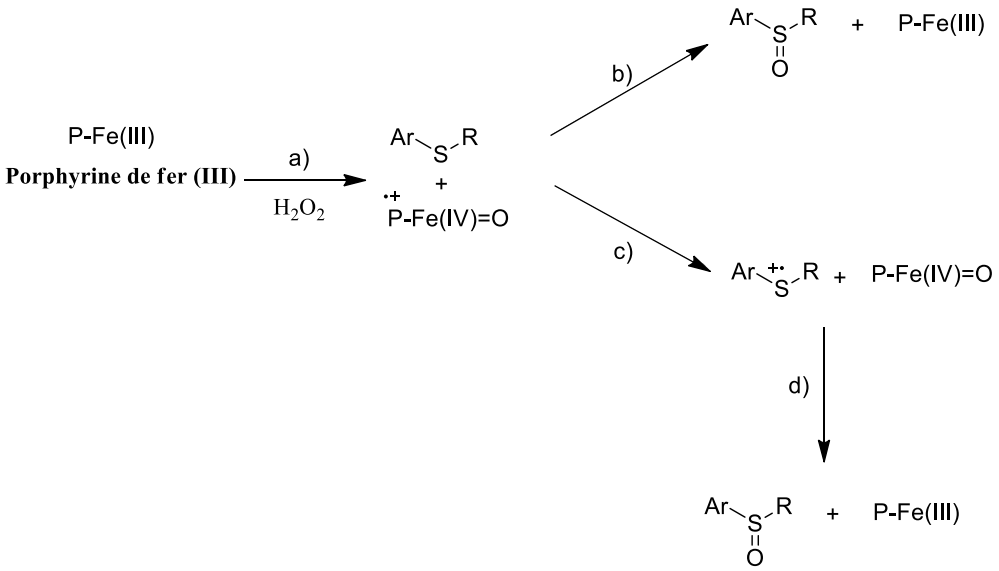


Schéma 12 : Mécanisme général d'oxydation pour la sulfoxydation des sulfures, par les cytochromes P450

Bien que ces enzymes à cytochrome P 450 constituent des catalyseurs naturels avec un fort potentiel, il n'en demeure pas moins qu'elles sont difficiles à extraire et à purifier. A ces problèmes, viennent s'ajouter ceux de leur utilisation dans des conditions proches des conditions biologiques qui nécessitent l'emploi d'un milieu lipidique et la présence d'une réductase. La fragilité de ces enzymes dans les conditions *in vitro* (l'enzyme se dénaturant après 100 à 1000 cycles) représente aussi une difficulté supplémentaire à l'utilisation pratique de ces enzymes. L'emploi de ces enzymes est donc difficile. C'est ainsi que les métalloporphyrines d'origine synthétique sont apparues extrêmement utiles à la fois pour l'étude du cycle catalytique des enzymes à cytochrome P 450, qu'en tant que catalyseur d'intérêt pour accéder à des composés parfois difficiles à obtenir par des techniques plus classiques de synthèse organique.

Les métalloporphyrines synthétiques permettent en effet de mettre en œuvre des réactions d'oxydations parfois sélectives, sans pour autant prétendre à avoir la capacité de mimer pleinement l'action des enzymes à cytochrome P450. Les systèmes oxydants à base de métalloporphyrines synthétiques se distinguent essentiellement par la nature de l'ion métallique (Fe, Mn, Ru, Ni,…) qui occupe le centre porphyrinique, l'oxydant utilisé et les solvants dans lesquelles peuvent être effectuées les réactions.

II.5 Les métalloporphyrines synthétiques

Inspirés par la réactivité des enzymes à cytochrome P450, les chimistes se sont concentrés sur la conception et la synthèse de nouvelles porphyrines et métalloporphyrines (MP).

Au cours des dernières années, de nombreux processus de synthèse des porphyrines ont été mis au point. Grâce à leurs caractéristiques physico-chimiques regroupant une bonne stabilité, leur absorption et leur émission électroniques intenses, leur géométrie planaire rigide, ainsi que leur réactivité, ces molécules ont suscité un vif intérêt dans un large panel d'applications dans des domaines aussi variés que la médecine, la catalyse et l'électronique. [50]

II.5.1 Structure, caractérisations des porphyrines et complexation

Les porphyrines sont des macrocycles tétrapyrroliques aromatiques composés de quatre unités pyrrole reliés par des ponts méthylénique. (Figure 14).

Elles jouent le rôle d'acide ou de base en fonction du pH et peuvent être métallées par presque tous les métaux de la classification périodique.[51] Elles constituent sous cette forme d'excellents agents d'oxydoréduction.

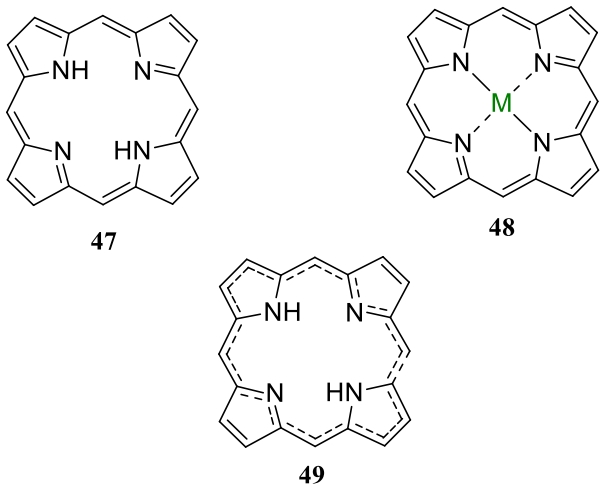


Figure 14 : Porphyrine (47), métalloporphyrine (MP, 48)), 18 électrons aromatiques (49)

II.5.1.1 Nomenclature

Hans Fischer a proposé un système de nomenclature pour désigner les porphyrines substituées sur les positions β-pyrroliques. Les atomes de carbone des positions méthyléniques aussi appelés « méso » sont numérotés α, β, γ et δ. Ils sont également numérotés 5, 10, 15, 20. Les carbones β-pyrroliques sont notés 2, 3, 7, 8, 12, 13, 17, 18 (Figure 15).[52]

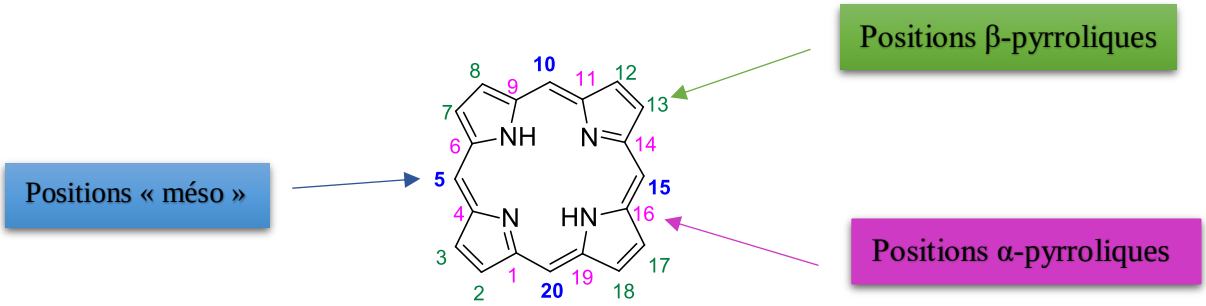


Figure 15 : Nomenclature des porphyrines

La nomenclature de type α, β, est employée pour caractériser l'orientation des groupements en position méso de la porphyrine. Dans le cas des méso-arylporphyrines **50**, les substituants s'orientent perpendiculairement au plan du macrocycle de sorte à limiter les interactions stériques avec les hydrogènes β-pyrroliques. Les substituants en position *ortho* des groupements aryle se positionnent soit au-dessus du plan (face α), soit en dessous du plan (face β). Ces interactions, sont à l'origine de l'existence de quatre atropoisomères notés αααα, αααβ, αβαβ et αββα (Figure 16).

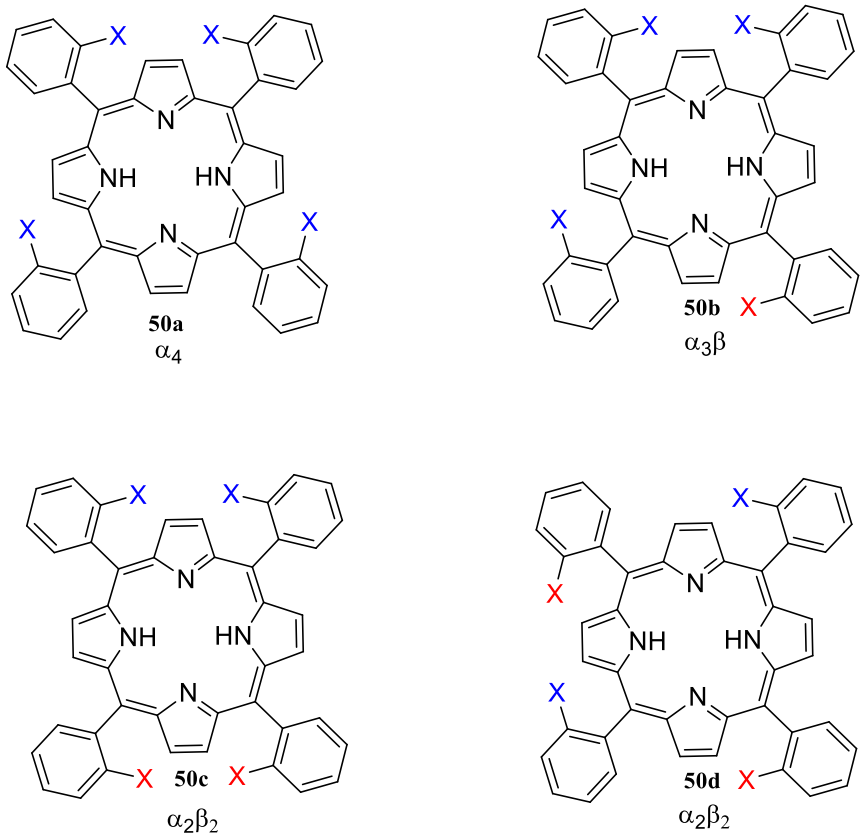


Figure 16 : Représentation des atropoisomères méso-arylporphyrines

II.5.1.2 Caractérisation des porphyrines par Résonance Magnétique Nucléaire ^{1}H

Les porphyrines présentent deux signaux caractéristiques en résonance magnétique nucléaire du proton. Les protons β-pyrroliques se trouvent aux alentours de 8-9 ppm. La multiplicité des protons du cycle aromatique est influencée par la symétrie et la nature des substituants de la porphyrine. Les protons des azotes pyrroliques très blindés, se situent aux alentours de -2 ppm. Ces déplacements chimiques peuvent s'expliquer par la présence d'un cône d'anisotropie (Figure 17) dû au grand nombre d'électrons aromatiques délocalisés. Ainsi, les protons situés à l'intérieur de ce cône sont blindés alors que les protons situés à l'extérieur, dans le plan de la molécule, sont déblindés (β-pyrroliques).[53]

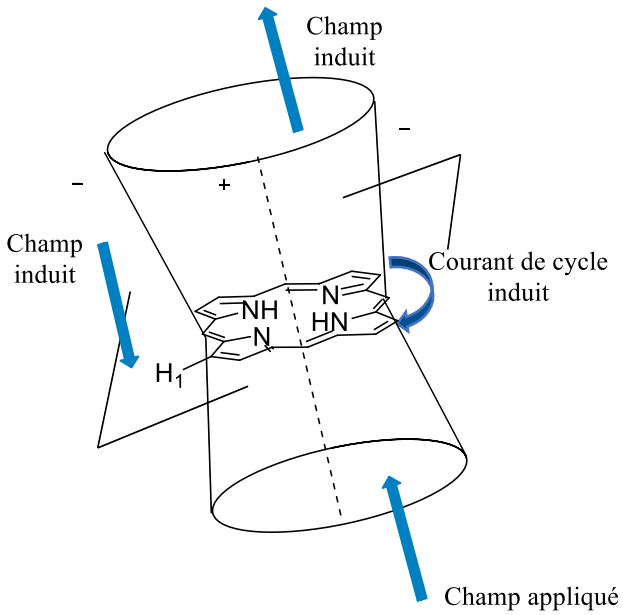


Figure 17 : Cône d'anisotropie d'une porphyrine

II.5.1.3 Caractérisation des porphyrines par Spectroscopie UV-Visible

Les porphyrines possédant un système d'électrons π, ce sont des molécules qui absorbent dans le domaine du visible en présentant des bandes d'absorptions très caractéristiques dues à des transitions de type π-π*. Le spectre d'absorption (Figure 18) d'une porphyrine se décompose en deux parties :

- une bande intense ($\varepsilon > 100\ 000\ L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$) entre 390 et 430 nm (proche UV) appelée bande de Soret
- et quatre autres bandes situées entre 480 et 700 nm (Visible) d'intensité dix à vingt fois plus faible appelées bandes Q. Leur nombre varie en fonction de la nature de la porphyrine, elles sont aux nombres de deux pour les manganoporphyrines.[54]

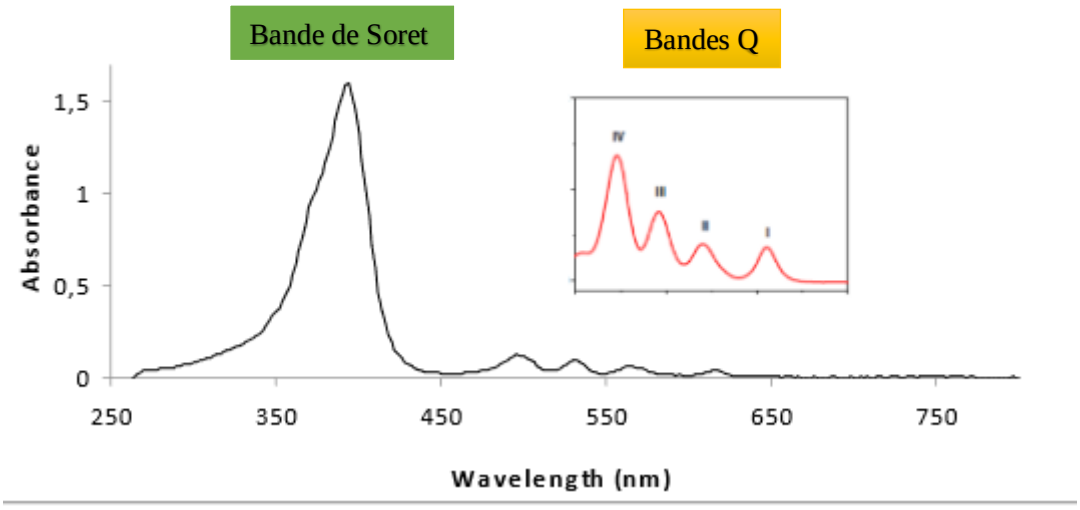


Figure 18 : Spectre UV-visible d'une porphyrine

II.5.1.4 Formation de complexes avec les métalloporphyrines

Dans cette partie bibliographique, nous nous intéresserons à la coordination des ligands vis-à-vis des porphyrines de manganèse. La spectroscopie UV-visible est la méthode la plus courante pour observer la métallation de la porphyrine et identifier les complexes formés.

Les porphyrines de manganèse sont facilement obtenues à partir d'une porphyrine libre au reflux de l'acide acétique en présence d'un excès de $Mn(OAc)_2$.[55] La porphyrine Mn^{II} initialement formée est rapidement oxydée à l'air en Mn^{III} (Schéma 10). D'autres méthodes de coordination du métal peuvent être réalisées comme celle en présence de $MnCl_2$ dans l'acide acétique.[56]

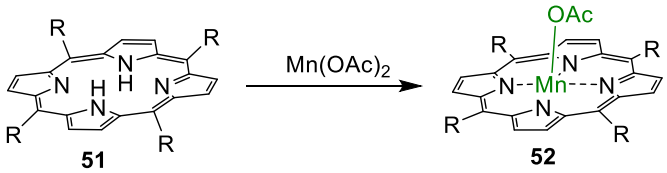


Schéma 13 : Complexation du manganèse par une porphyrine.

Les porphyrines de manganèse présentent un état d'oxydation du métal compris entre +II et +V, les porphyrines de Mn^{III} étant les plus stables. L'ion Mn^{III} peut exister sous deux formes, haut spin ou bas spin induisant deux types de coordination. Un ou deux ligands axiaux peuvent se coordinner au métal de manganèse. Le ligand axial de la manganoporphyrine peut être échangé par d'autres ligands tels que les halogénures, l'azide, le nitrile, l'eau et le nitrate par le traitement d'un excès d'anions dans une solution aqueuse en présence de méthanol ou d'acide dans des solvants organiques.[57]

Certains complexes formés sont haut spin et ont une géométrie bipyramidale à base carrée avec l'ion manganèse placé hors du plan de la porphyrine qui est hexa-coordinnée.[58]

L'oxydation du Mn^{III} donne les complexes Mn^{IV} correspondants. Ces porphyrines ont reçu beaucoup d'attention en raison de leur activité oxydante sur une variété de substrats organiques. Les porphyrines oxo-manganèse^{IV} sont accessibles par le traitement des porphyrines Mn^{III} en présence de NaOCl, m-CPBA ou par une décomposition de porphyrines de peroxycarbonate du Mn^{III}.[59] Ces complexes sont raisonnablement stables à très basse température (-78 °C), mais sont réduits à l'espèce Mn^{III} à température ambiante. Le centre métallique contient un ligand oxo lié axialement et se coordinne préférentiellement à un ligand donneur d'oxygène sur l'autre position axiale.

Des études de coordination ont été effectuées par l'équipe du Pr. Karl Kadish sur des manganoporphyrines avec des ligands connus pour avoir une bonne affinité avec les manganoporphyrines comme l'imidazole, la pyridine et le diméthylsulfoxide. Kadish *et al.* ont utilisé deux manganoporphyrines (les tétraphénylporphyrines de perchlorate ou de chlore (TPP)$MnClO_4$ et ((TPP)MnCl) pour effectuer des études de coordination à une concentration de l'ordre de 10^{-5} mol·L^{-1} dans le dichloroéthane.[60]

Les spectres d'absorbance réalisés montrent un déplacement hypsochrome (2-5 nm) lorsque la manganoporphyrine est penta- ou hexacoordinée. Compte-tenu des valeurs respectives des constantes d'équilibre K_1 et K_2, la formation du complexe bi-ligandé est favorisée en solution ($K_1 = 2{,}2\cdot10^4$, $K_2 = 2{,}8\cdot10^8$ pour un ligand imidazole).

$$(TPP)MnCl \underset{L}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} (TPP)Mn(L)Cl \underset{L}{\overset{K_2}{\rightleftharpoons}} (TPP)Mn(L)_2{}^{+}Cl^{-}$$

Equation 1 : Formation de complexes avec une manganoporphyrine

Hambright *et al.* ont déterminé des constantes thermodynamiques de formation des complexes hexacoordinés manganoporphyrine/pyridine et manganoporphyrine/imidazole respectivement de 3,46 et $2{,}8\cdot10^6$.[61]

II.5.2 Synthèse des métalloporphyrines (MP)

La synthèse de porphyrine la plus célèbre est celle impliquant un pyrrole et le benzaldéhyde pour former la tétraphénylporphyrine **51** (Schéma 11). Cette voie de synthèse a connu trois phases principales de développement : elle a d'abord été réalisée par Rothemund en 1935[62] et ensuite optimisée par Adler et Longo en 1967[63], puis Lindsey en 1987[64].

La voie de Rothemund consiste à obtenir la porphyrine en une seule étape par réaction du benzaldéhyde **54** et du pyrrole **53** dans la pyridine à 150 °C pendant 24 heures (Schéma 14). Les rendements sont faibles, et les conditions expérimentales employées sont drastiques conduisant à une conversion minime du benzaldéhyde en porphyrine avec polymérisation du pyrrole et formation d'une chlorine méso-substituée **55**.[65] Calvin et ses collaborateurs (1946)[66] ont découvert que l'ajout de sels métalliques au mélange réactionnel, comme l'acétate de zinc, augmente le rendement de la porphyrine de 4 à 5 % et diminue la quantité du sous-produit **55**. Ce dernier peut être transformé en porphyrine **51** dans des conditions oxydantes par l'intermédiaire de la 2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone (DDQ).

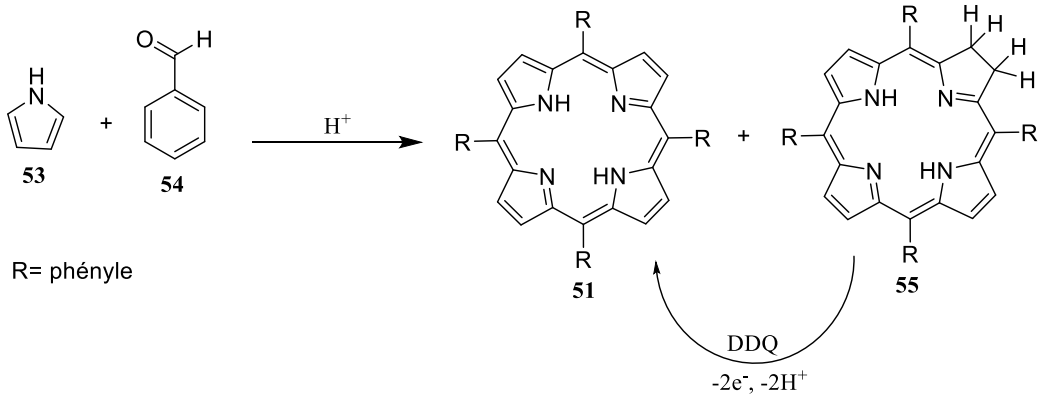


Schéma 14 : Synthèse de la 5,10,15,20-tétraphényl-porphyrine

La méthode d'Adler et Longo[63] implique une condensation du pyrrole et d'un aldéhyde catalysée en milieu acide et en présence d'air (Schéma 15). Les réactions sont effectuées à haute température, dans différentes gammes de solvants et de concentrations des réactifs. Elles donnent des rendements de 30 à 40%, et limitent la formation du produit secondaire **55** par comparaison avec la synthèse de Rothemund.

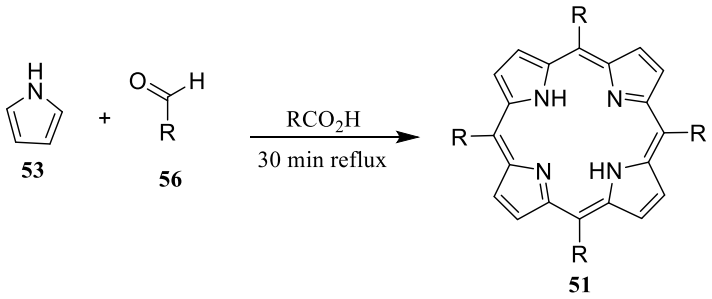


Schéma 15 : Méthode de synthèse des méso-porphyrines substituées par Adler-Longo

En utilisant les conditions de Lindsey,[64] la synthèse des porphyrines peut être effectuée à température ambiante en deux étapes, en employant des conditions plus douces pour la condensation de l'aldéhyde et du pyrrole. Cette méthode de synthèse débute par une condensation entre le pyrrole **53** et un dérivé d'aldéhyde **56** en milieu acide dans le

dichlorométhane à température ambiante. L'intermédiaire **57** est ensuite oxydé en présence de DDQ **58** pour obtenir la porphyrine **51**. Cette stratégie permet d'atteindre l'équilibre pendant la condensation et de limiter les réactions secondaires (Schéma 16).

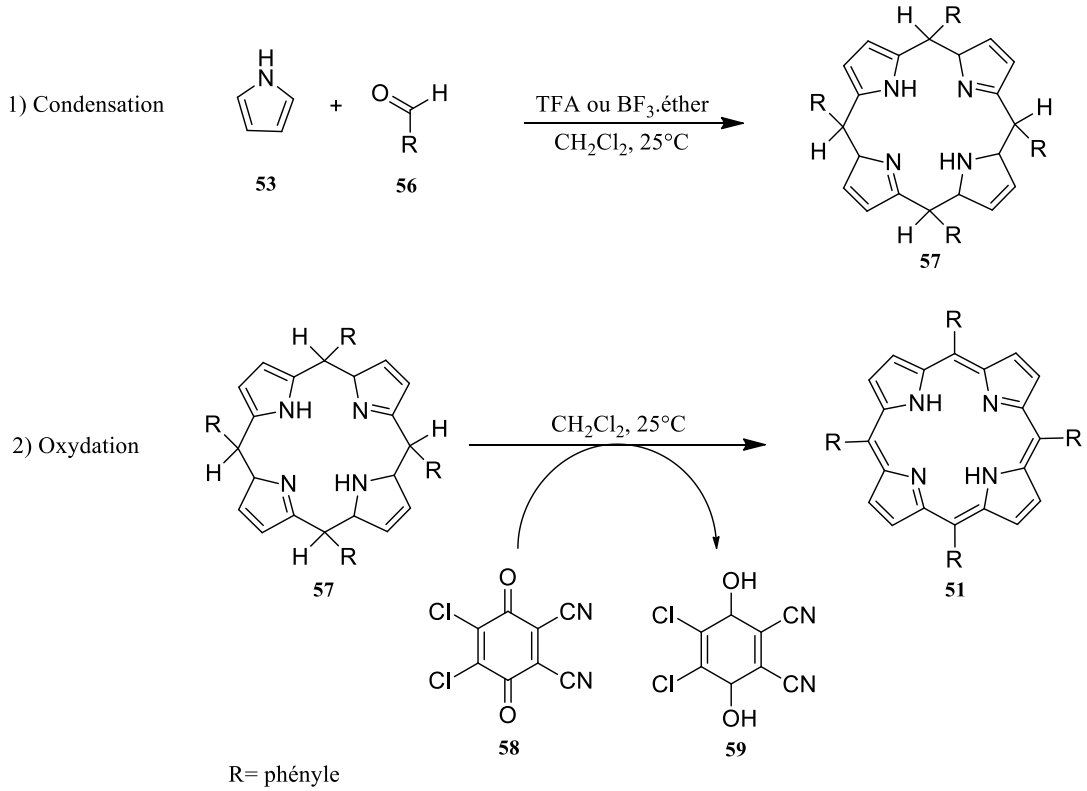


Schéma 16 : Méthode de Lindsey pour la synthèse des méso-porphyrines substituées

Une autre stratégie de synthèse des porphyrines a été décrite par MacDonald (1960)[67] à partir de dipyrrylméthane **61**. Elle consiste à aboutir à une porphyrine avec les positions méso 5 et 15 ainsi que 10 et 20 identiques suivant une condensation de type [2+2] en présence d'un aldéhyde. Cette méthode permet d'obtenir de meilleurs rendements qu'une synthèse purement statistique tout en s'épargnant de purifications difficiles (Schéma 17).

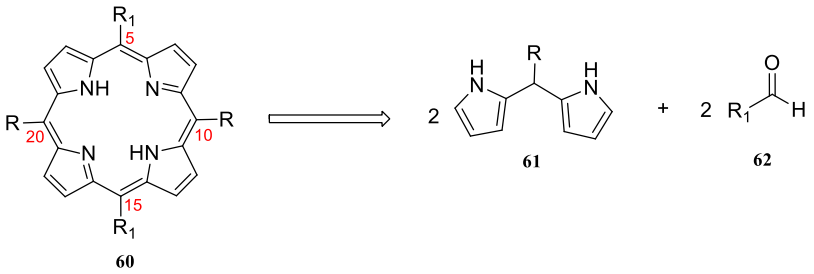


Schéma 17 : Méthode de synthèse des méso-porphyrines substituées à partir d'un dipyrrylméthane et d'un aldéhyde

II.6 Systèmes oxydants à base de métalloporphyrines (MP)

II.6.1 Le peroxyde d'hydrogène

Dans le cas des porphyrines synthétiques, plusieurs oxydants, tels que l'iodosylbenzène (PhIO), NaOCl, l'oxone ou encore H_2O_2 peuvent être utilisés. Le critère principal dans le choix de l'oxydant est la proportion massique en oxygène susceptible d'être transférée au substrat d'intérêt. L'oxydant le plus utilisé en milieu organique reste le PhIO avec un pourcentage massique de 7,3% en oxygène actif. L'hypochlorite de sodium, l'acide paracétique ou encore l'hydroperoxyde de *tert*-butyle sont quant à eux caractérisés par des pourcentages massiques en oxygène actif inférieurs à 22%. Tous ces oxydants conduisent à la formation de sous-produits plus ou moins gênants lors des réactions d'oxydations, alors que le seul sous-produit formé lors de la réaction d'oxydation avec le peroxyde d'hydrogène est l'eau et que celui-ci possède un important pourcentage massique en oxygène actif de 47%. Son utilisation nécessite l'emploi de solvants organiques miscibles avec l'eau, en raison de la faible hydrosolubilité souvent présentée par les substrats à oxyder (Tableau 3).[68]

Oxydants	**Sous-produit**	**Oxygène actif (% massique)**
O_2	H_2O	100
H_2O_2	H_2O	47
NaOCl	NaCl	21.6
CH_3CO_3H	CH_3CO_2H	21.1
t-BuOOH	tBuOH	17.8
$KHSO_5$	$KHSO_4$	10.5
PhIO	PhI	7.3

Tableau 3 : Oxydants utilisés pour des réactions d'oxydations avec des métalloporphyrines[68]

II.6.2 Co-catalyseur : base azotée (imidazole)

L'emploi d'un cocatalyseur azoté est nécessaire pour favoriser le bon déroulement du cycle catalytique dans certains systèmes à base de manganoporphyrine. Ce cocatalyseur joue d'une part le rôle de ligand axial du métal permettant l'adoption d'une géométrie de type bipyramide à base carrée, et d'autre part de cocatalyseur basique en fragilisant la liaison H-O du peroxyde d'hydrogène. La base axiale ou ligand axial permet par son effet électronique donneur, le clivage hétérolytique de la liaison O-O dans l'intermédiaire per-oxo. Son utilisation permet d'obtenir ainsi de meilleurs rendements d'oxydation (Schéma 18).[48]

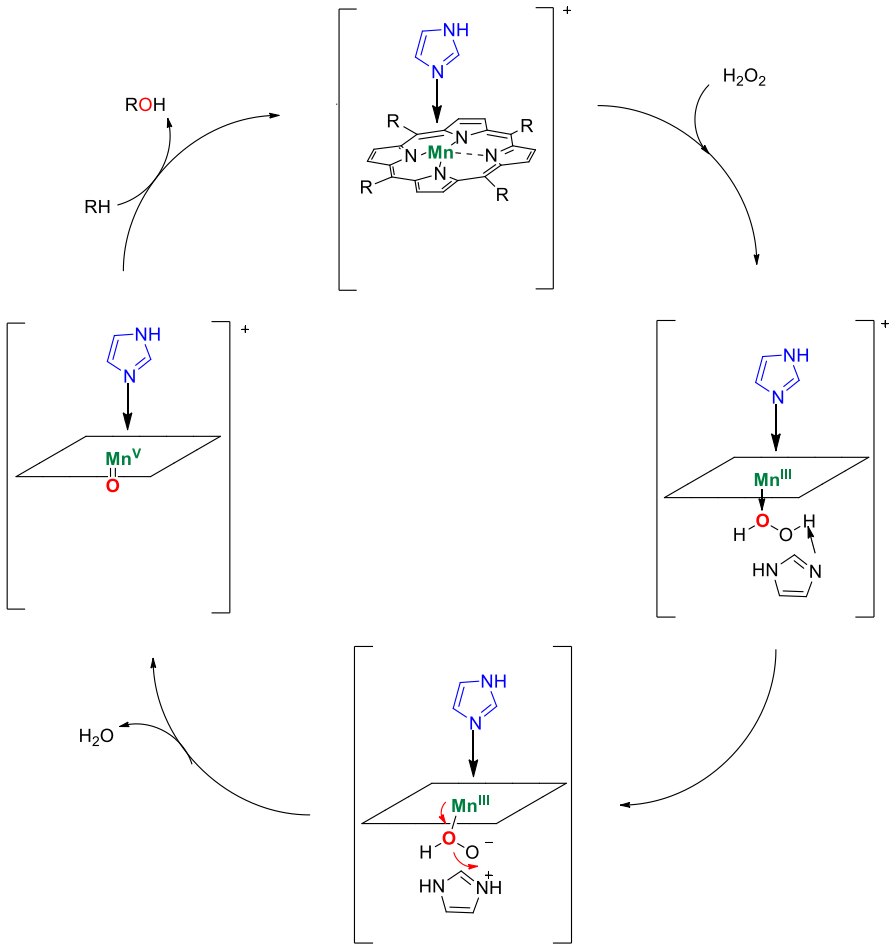


Schéma 18 : Rôle d'un co-catalyseur[69]

Le rôle clé de l'imidazole dans les oxygénations catalysées par des métalloporphyrines en présence de H_2O_2 a également été mis en évidence par Mansuy *et al.* pour l'époxydation des oléfines. Les co-catalyseurs imidazole, 2-méthylimidazole et 4-méthylimidazole se sont avérés efficaces pour l'époxydation du cyclooctène avec H_2O_2 comme oxydant et la Mn(TDCPP)Cl[70] comme catalyseur. Les métalloporphyrines robustes comme la Mn(TDCPP)Cl ne sont pas dégradées lorsque l'hydroperoxyde est progressivement ajouté au mélange réactionnel. Le cocatalyseur peut également jouer le rôle de base favorisant le clivage de la liaison O-O pour former l'espèce réactive Mn=O.[48] Il peut par contre subir une dégradation lors de la réaction d'oxydation.[71]

II.6.3 Catalyseurs porphyriniques synthétiques

Dans les années 1970, Groves *et al.* ont publié le premier article sur l'utilisation d'une porphyrine de fer synthétique comme catalyseur pour l'époxydation des alcènes et l'hydroxylation des alcanes avec l'iodosylbenzène comme oxydant. Depuis, de nombreux auteurs ont utilisé des MP contenant différents métaux pour catalyser l'oxydation de divers

substrats organiques. De nouvelles voies synthétiques ont également été conçues pour améliorer la performance catalytique de ces complexes.[72]

En 1997, Dolphin et Traylor[73] ont proposé une classification des nombreuses porphyrines utilisées en catalyse sur la base de leur structure. Ces auteurs ont désigné la première MP synthétique que Groves avait utilisée en tant que modèle biomimétique des enzymes à cytochrome P450, la tétraphénylporphyrine de fer, [Fe(TPP)]Cl, comme porphyrine de première génération (Figure 19a)). Ce complexe présente une activité catalytique modeste car la structure des porphyrines est facilement détruite dans les conditions oxydantes de réaction.

Les porphyrines portant en position méso des dérivés aryles substitués par des groupes électronégatifs et/ou volumineux sont désignés comme porphyrines de deuxième génération (Figure 19b). De tels complexes présentent d'excellentes performances catalytiques, principalement dans les réactions d'oxydation les plus difficiles, à savoir l'hydroxylation d'alcanes. En effet, la présence de groupements électroattacteurs rend les espèces intermédiaires catalytiques plus électrophiles. Les groupes volumineux évitent quant à eux les interactions intermoléculaires pouvant générer des espèces catalytiques inactives ou favoriser l'auto-oxydation des MP en solution. Ces deux facteurs confèrent aux porphyrines de deuxième génération une nature plus robuste.

L'introduction de groupes électronégatifs sur les positions β-pyrroliques des porphyrines de deuxième génération a conduit au développement d'une troisième génération de porphyrines (Figure 19c).

Malgré l'introduction de groupes électroattracteurs supplémentaires ou de groupes encombrants susceptibles de rendre le macrocycle encore plus robuste et résistant à l'auto-oxydation et ainsi d'augmenter l'activité catalytique des MP, la plupart des publications sur ces porphyrines au cours des deux dernières décennies ont révélé que celles-ci fournissaient des résultats catalytiques plus faibles que leurs homologues de deuxième génération.[74]

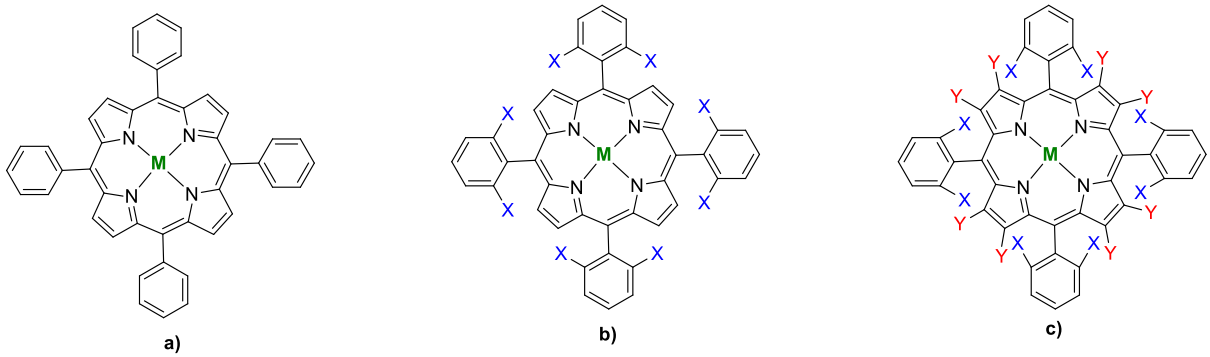


Figure 19 : Métalloporphyrines de première génération a), deuxième génération b) et de troisième génération c), avec X = groupement électroattracteur ou volumineux, Y = halogène, M = Fe ou Mn.

Les métalloporphyrines de deuxième génération sont donc ainsi les plus utilisées dans les réactions d'oxydations, pouvant selon les cas conduire à d'excellents rendements en milieu homogène ou hétérogène.

II.6.3.1 Catalyseurs homogènes

Des manganoporphyrines ont été synthétisées pour mimer l'activité d'enzymes, notamment celles à cytochrome P450. Ces catalyseurs ont été utilisés en présence de plusieurs oxydants afin de réaliser des réactions d'oxydations sur des dérivés soufrés en milieu homogène. Quelques exemples de sulfoxydation catalysées par des manganoporphyrines décrites dans la littérature sont présentés ci-après.

L'oxydation bio-inspirée des sulfures en sulfoxydes, publiée par Oae et ses collaborateurs (1982),[75] a attiré l'attention de nombreux chercheurs. L'équipe d'Oae a démontré qu'un modèle enzymatique, composé de $Fe^{(III)}$TPPCl(chloro-méso-tétraphénylporphyrine de fer) et d'imidazole pouvait, en présence de peroxyde d'hydrogène, catalyser des réactions d'oxydation de dérivés soufrés. Cette réaction biomimétique a été comparée à l'oxygénation dépendante de H_2O_2 catalysée par les enzymes à cytochrome P450 (Schéma 19). L'imidazole a permis d'accélérer la réaction d'oxydation du 4-méthylthioanisole en sulfoxyde. Cette base azotée s'est avérée être un composé même essentiel lors de l'oxydation dans le chloroforme au lieu de l'acétonitrile.

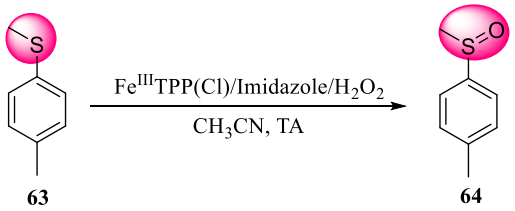


Schéma 19 : Réaction de sulfoxydation bioinspirée

Simonneaux et ses collègues ont étudié l'oxydation énantiosélective de sulfures en présence de peroxyde d'hydrogène aqueux à 35 % et d'une porphyrine chirale : la porphyrine d'Halterman **70** soluble dans l'eau. Ces expériences ont conduit à l'obtention de sulfoxydes avec des énantisélectivités comprises entre 78% et 90% sur les dérivés sulfures d'aryle correspondants (Schéma 20a)).[76]

Un autre exemple d'oxydation énantiosélective des sulfures catalysés par une porphyrine de manganèse chirale **70** dans une solution aqueuse de méthanol en présence de H_2O_2 a fourni un principe actif anti-inflammatoire non stéroïdien, le sulindac (Schéma 20b).[77]

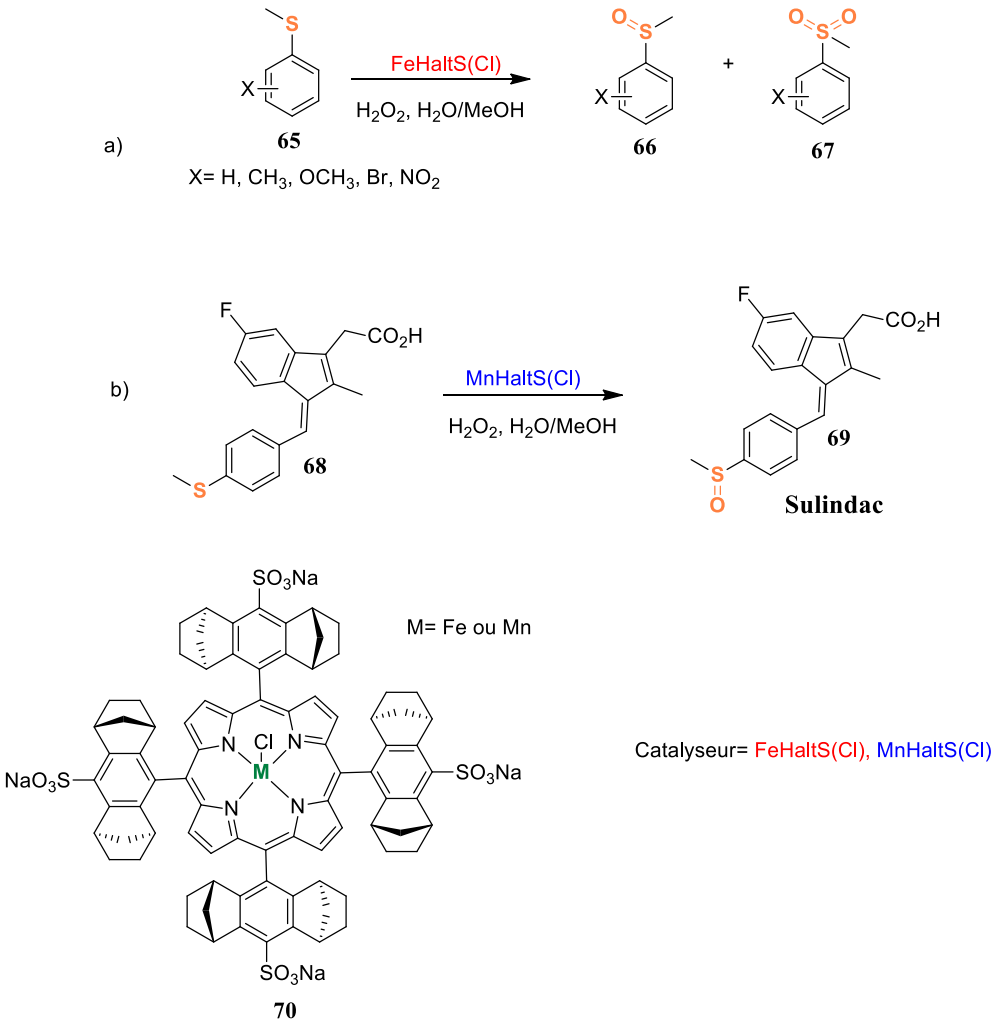
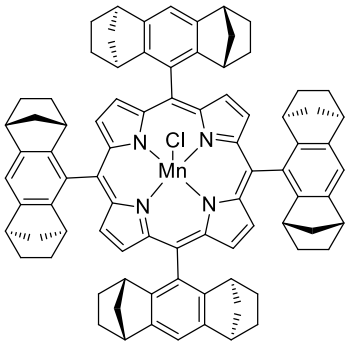


*Schéma 20 : Réaction de sulfoxydation catalysée par une métalloporphyrine d'Halterman **70***

Halterman *et al.* ont ainsi décrit une réaction de sulfoxydation catalysée par une porphyrine de manganèse. Le catalyseur est capable d'effectuer des réactions d'oxydations en présence de PhIO avec d'excellents rendements variant de 82 à 99%, avec formation majoritaire du dérivé sulfoxyde par rapport à la sulfone (Figure 20).[78]



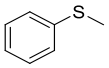
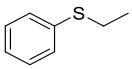
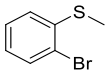
Réactifs			
Rendement (%)	93	82	99
Sulfoxyde/Sulfone	44 :1	13 :1	>95 :1

Figure 20 : Réaction d'oxydation des travaux de Simmoneaux

Zhou *et al.* ont synthétisé une *méso*-tétraphénylporphyrine de manganèse capable d'oxyder des fonctions sulfures en sulfoxyde ou sulfone en présence de peroxyde d'hydrogène. Cette méthode efficace conduit à de très bons rendements variant entre 83 et 99% avec une sélectivité totale pour la sulfone.[79]

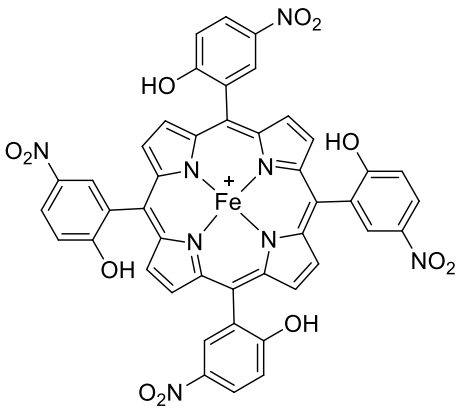
Bien que dans les systèmes catalytiques homogènes les interactions avec les réactifs restent facilitées et permettent souvent une performance améliorée par rapport aux systèmes hétérogènes, plusieurs facteurs peuvent limiter la catalyse homogène fondée sur les MP. En effet, la structure du noyau porphyrinique, la solubilité des MP dans le milieu de réaction et les interactions intermoléculaires des MP sont des facteurs potentiellement limitants. Ces derniers peuvent désactiver le catalyseur et induire sa décomposition ou la formation d'espèces inactives. Une autre difficulté inhérente aux systèmes homogènes est le recyclage de la MP du milieu de réactionnel car dans la plupart des cas, la MP est détruite en fin de réaction.

Pour surmonter ces problèmes, une stratégie consiste à immobiliser les MP sur des supports inorganiques ou organiques, par exemple des polymères, de façon à pouvoir récupérer le catalyseur et le réutiliser dans des cycles catalytiques successifs.[80]

II.6.3.2 Catalyseurs hétérogènes

De nombreuses études confirment que l'immobilisation des métalloporphyrines sur un matériau support améliore la stabilité des catalyseurs et la sélectivité du produit tout en garantissant une réutilisation du système catalytique.[81]

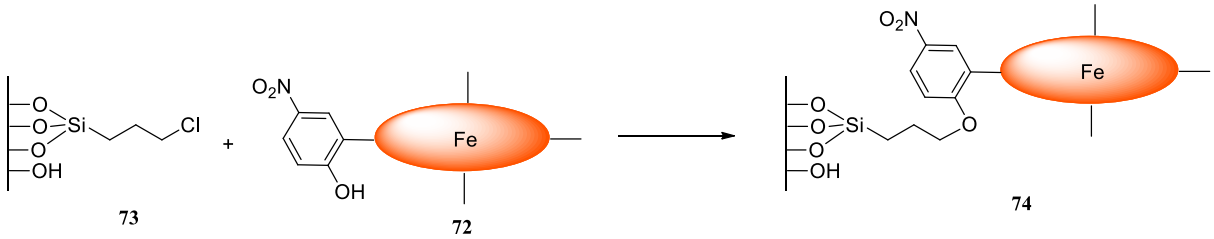
L'immobilisation de la porphyrine de fer **72** sur trois silices modifiées différentes a été étudiée par l'équipe de Gandini (Figure 21). La métalloporphyrine contient entre autres des substituants nitro électroattracteurs sur les positions mésophényles.



72

Figure 21 : MP de fer immobilisée sur silice par l'équipe de Gandini

Une des silices utilisées a été la silice « chloropropyle » (Schéma 21), sur laquelle la porphyrine de fer **72** a été immobilisée par substitution nucléophile du groupe *ortho*-hydroxyle des « mésophényles » de la porphyrine, pour former un lien éther. La silice « propylimidazole » a été employée afin de créer des interactions électrostatiques entre la porphyrine de fer anionique et les supports cationiques. En outre, le groupe imidazole présent sur la surface solide peut ainsi jouer le rôle de ligand axial qui se coordonne au centre du fer et peut agir comme les ligands des enzymes comportant une structure de type hème. Le développement de cette porphyrine de Fer $[Fe(T_2H_5NPP)]^+$ a permis la formation de matériaux stables sur différents supports de silice, par liaison ionique ou covalente à travers les positions méso-aryl *ortho* de la porphyrine. Les matériaux se sont avérés être des catalyseurs efficaces dans l'époxydation du cyclooctène (Z) par PhIO, et ce même après trois étapes successives de recyclage.[82]



73 72 74

*Schéma 21 : Support silice chloropropyle et porphyrine de Fe **72***

Un exemple intéressant de polymères de métalloporphyrines a été décrit par Simmoneaux et ses collaborateurs. Ils ont développé des polymères chiraux de porphyrines de Fer et de Ruthénium **75** mettant en évidence leurs activités oxydatives sur des sulfures et des oléfines. Ces polymères ont été synthétisés en utilisant une porphyrine d'Halterman qui est un monomère fonctionnalisé par 4 groupements vinyles (Figure 22). Le divinylbenzène (DVB) est utilisé comme agent réticulant lors de la polymérisation. Les polymères de porphyrines de fer ont montré de bons résultats sur des dérivés de thioanisole en présence de PhIO (oxydant).

Contrairement aux conditions homogènes (utilisation du monomère porphyrinique), les réactions menées en catalyse hétérogène ont donné des rendements largement supérieurs (entre 75 et 89% en catalyse hétérogène contre 43% en catalyse homogène).[83]

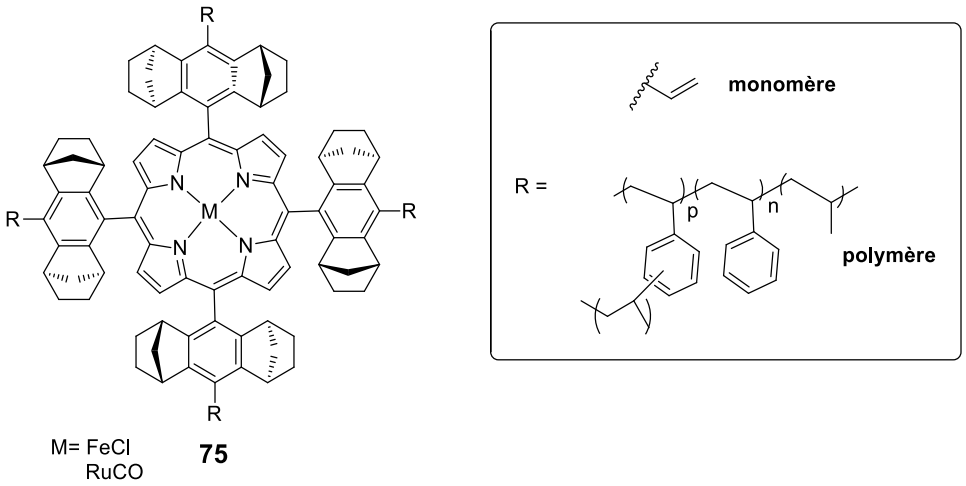


Figure 22 : Réaction de sulfoxydation par PhIO catalysée par des polymères de porphyrines

L'importance de ce système catalytique hétérogène par rapport à son analogue homogène prouve qu'il est possible d'effectuer des réactions de sulfoxydation en présence de porphyrines immobilisées sur des polymères tout en améliorant considérablement les rendements.

II.7 Conclusion

Dans le cas de notre projet, nous souhaitons développer un MIP à base de porphyrine en tant que catalyseur macromoléculaire de réactions d'oxydation. Pour mettre au point un tel système catalytique, notre choix s'est porté sur l'utilisation du peroxyde d'hydrogène qui apparait comme l'oxydant le plus doux et n'entrainant pas de formation de sous-produit autre que l'eau. De fait, le recours aux métalloporphyrines de manganèse est apparu le choix le plus judicieux, car elles répondent le mieux aux critères de stabilité et d'efficacité avec cet oxydant, contrairement aux catalyseurs à base de fer qui de plus favorisent la dismutation du peroxyde d'hydrogène.

De façon à exemplifier l'intérêt d'un MIP à base de porphyrine, nous nous sommes focalisés sur l'oxydation de sulfures. Ces réactions sont effectivement intéressantes en chimie organique fine, dans le cas de certains processus industriels ou bien encore pour accéder à des produits d'intérêt sur un plan thérapeutique. De surcroit, cette voie d'oxydation représente une voie primordiale de détoxification d'armes chimiques tels que l'ypérite ou le VX. Compte-tenu

de l'engagement par ailleurs de notre équipe dans la lutte contre les armes chimiques, nous avons décidé d'orienter nos futurs développements dans cette direction.

III. Les armes chimiques

Les armes chimiques provoquent encore de nombreuses victimes dans des contextes aussi variés que ceux d'assassinats ciblés, d'attaques terroristes ou bien encore en cas de guerres asymétriques. Malgré leur interdiction, de récentes attaques à l'arme chimique en Malaisie, en Syrie, en Iraq et au Royaume-Uni ont été perpétrées. Ces composés continuent de susciter non seulement de vives inquiétudes, mais ils représentent de surcroit une réelle menace.

Selon la classification officielle retenue, on distingue :

- les agents neurotoxiques. Ils affectent le fonctionnement du système nerveux de façon irréversible et peuvent provoquer des convulsions et une perte de contrôle musculaire pouvant aller jusqu'à la mort de l'individu intoxiqué [84];
- les agents vésicants (ypérite de soufre ou gaz moutarde, lewisite) qui provoquent des cloques, des irritations des yeux et des poumons, une exposition à ce type de composé est rarement fatale si des soins médicaux appropriés sont mis en œuvre ;[85]
- les agents suffocants (phosgène, ammoniac, chlore) sont des gaz qui irritent les poumons et peuvent entrainer une issue fatale pour les victimes ;[85]
- les agents sanguins (cyanure d'hydrogène, chlorure de cyanogène) potentiellement mortels ;[86]
- les gaz lacrymogènes ;[87]
- les agents agissant sur le système nerveux central (anesthésiques, opioïdes et herbicides) ;[88]
- les toxines (ricine, saxitoxine).[89]

Notre étude va se focaliser essentiellement sur les agents vésicants tels que l'ypérite **76** (HD) et les agents neurotoxiques de type V dont la voie de détoxification principale passe par une oxydation sélective au niveau de l'atome de soufre de ces dérivés (Schéma 22).

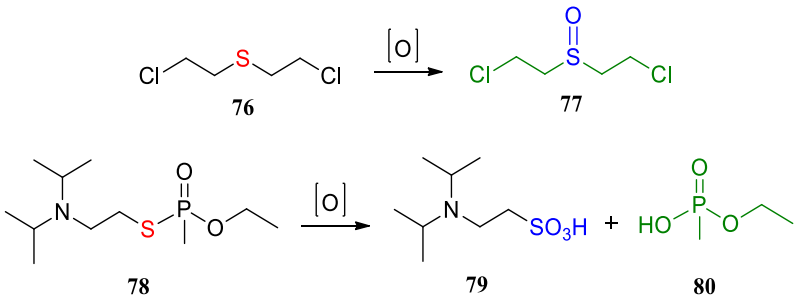


Schéma 22 : Oxydation du HD et du VX

Ainsi, l'ypérite doit être métabolisé en sulfoxyde non toxique, mais les conditions d'oxydation doivent être suffisamment douces pour éviter toute suroxydation qui conduirait à une sulfone qui est un produit toxique. Dans le cas de VX, la voie de décontamination résulte d'un clivage régiocontrôlé de la liaison PS qui conduit au produit EMPA non toxique, alors qu'un clivage compétitif de la liaison PO donnerait un sous-produit tout aussi toxique que le VX lui-même. A cette fin, l'oxydation intramoléculaire du soufre est essentielle pour conduire au produit non toxique.

III.1 Décontamination par voie oxydative de l'ypérite

L'ypérite (HD) **76** (Schéma 23), également appelé gaz moutarde, est un agent vésicant puissant et persistant. Les voies de dégradation possibles de ce composé passent par :

- soit une hydrolyse pour former les dérivés hydroxyles **81** et **82** par attaque nucléophile d'une molécule d'eau. Cependant, le HD ayant une très faible solubilité dans ce milieu, il a tendance à former une croûte polymérisée limitant l'efficacité de l'hydrolyse.[90]
- soit une oxydation partielle en sulfoxyde **83** (HDO) qui représente la voie plus étudiée, mais si l'oxydation n'est pas contrôlée, elle peut conduire à la formation d'une sulfone **84** (HDO_2) qui est un composé aussi toxique que le HD.
- soit une déshydrohalogénation pour former les dérivés vinyliques **85** et **86**.

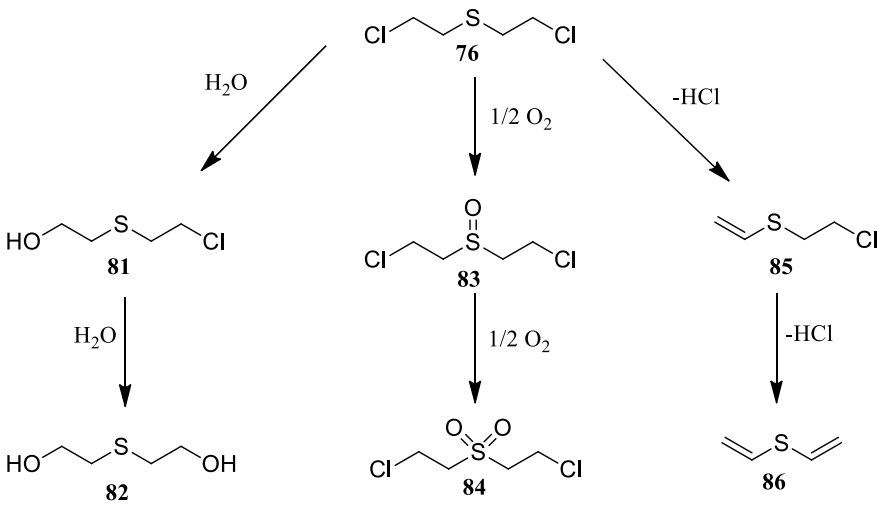


Schéma 23 : Détoxification du HD 76[90]

De manière non exhaustive, nous citons ci-après quelques travaux concernant la dégradation oxydante du HD. Comme pour tous les agents de guerre chimiques, les essais avec l'agent réel sont souvent très coûteux. Par ailleurs, si la manipulation du HD n'est pas interdite en milieu académique, elle est en revanche rigoureusement contrôlée et soumise à autorisation émanant du Ministère de la Défense, sans compter les précautions strictes à respecter en matière

de sécurité. Par conséquent, une grande partie des travaux portant sur la détoxification du HD a été effectuée sur des simulants ou des analogues du HD.

Marken *et al.* se sont notamment intéressés à l'oxydation du sulfure **87** (CEES) à l'aide d'un complexe d'urée-peroxyde d'hydrogène (Schéma 24) en présence d'une quantité catalytique de diphényl disélénide. L'oxydation du CEES a été effectuée pendant 24 heures dans le dichlorométhane à température ambiante. Le sulfoxyde **88** (CEESO) a été obtenu avec un taux de conversion supérieur à 99%. La présence de diphényl disélénide est indispensable pour que la réaction soit efficace.[91]

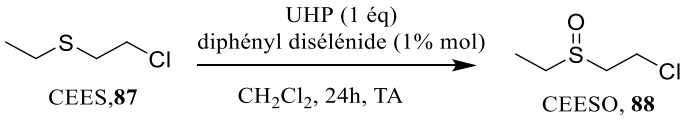


Schéma 24 : Oxydation du CEES en sulfoxyde CEESO

Une étude récente publiée 2018 par l'équipe de J.K. Li *et al.* décrit l'oxydation du CEES **87** en présence d'un catalyseur hétérogène basé sur un cluster de manganèse $[Mn(mIM)_4]^{2+}$ et d'un polyanion de vanadium ($[H_2V_{10}O_{28}]^4$, associant le peroxyde d'hydrogène. Cette oxydation est réalisée dans le méthanol à 50°C durant 4 heures. Le recours à un tel catalyseur hétérogène a permis d'améliorer la sélectivité de la réaction en conduisant à la formation de 85,5% de sulfoxyde **88** et seulement 14,5% de sulfone **89** [91-92] et la partie anionique du vanadium a contribué à l'augmentation de la conversion du dérivé sulfure (Schéma 25). Des efforts restent toutefois encore à faire afin de développer une méthode efficace d'oxydation sélective, compte tenu de la toxicité du dérivé sulfone de HD, le composé HDO_2 **84**

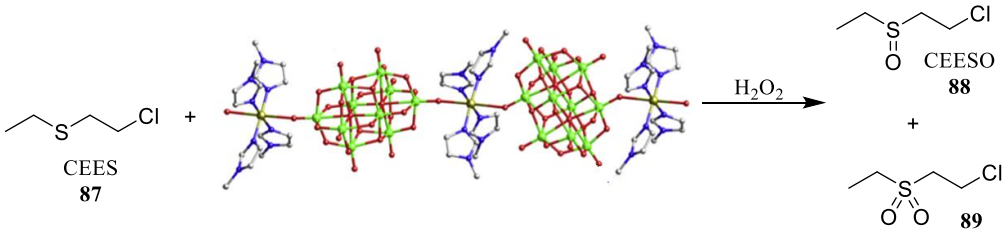


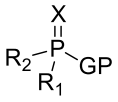
Schéma 25 : Oxydation du CEES en sulfoxyde CEESO par un catalyseur de manganèse et vanadium ; manganèse en jaune, vanadium en vert, azote en bleu, oxygène en rouge et carbone en gris[92]

Nous citerons également les travaux récents effectués par J. Legros et *al.*[93] qui ont développé un dispositif portable à flux continu. La preuve de concept a été apportée sur un simulant du HD. La réaction conduisant à une sélectivité totale de l'oxydation en sulfoxyde est effectuée sous l'action d'une solution alcoolique de peroxyde d'hydrogène-urée en présence d'acide méthylsulfonique.

III.2 Décontamination du VX

Le VX fait partie des agents neurotoxiques organophosphorés développés en tant qu'armes chimiques. Leur structure s'organise autour d'un atome de phosphore pentavalent, avec :

- un phosphore lié par une double liaison à un soufre ou un oxygène,
- un groupe partant (halogènure, cyanure, phénolate ou thiolate),
- ainsi que deux substituants R_1 et R_2 de nature variée (alkyle, alkoxy, thioalkyle ou aminoalkyle) suivant la classe du composé.[94]



90

X= O, S
GP= Groupe partant
R_1 et R_2= alkyl, O-alkyl ou NH_2

Figure 23 : Structure générale des agents organophosphorés neurotoxiques

En dépit de cette structure de base commune, les composés organophosphorés peuvent être classés en trois catégories. On distingue ainsi :

- les pesticides organophosphorés (Figure 24) dont l'utilisation est prohibée en Europe, mais elle persiste dans bon nombre de pays en voie de développement.

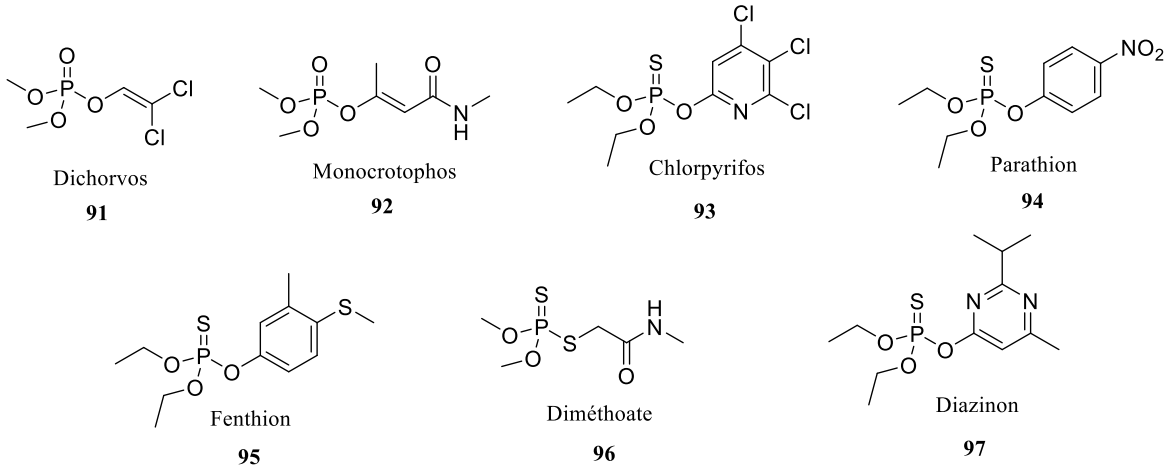


Figure 24: Structures d'organophosphorés insecticides

- Les agents G (pour « German ») qui sont de véritables armes chimiques (Figure 25). Leur grande volatilité fait que ce sont des composés non persistants dont la pénétration dans l'organisme se fait essentiellement par voie respiratoire.

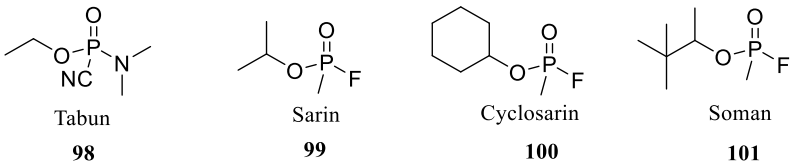


Figure 25 : Agents G

- Les armes chimiques de la famille des agents V (Figure 26), dont le principal représentant est le VX. Contrairement aux agents G, le VX est difficile à détruire dans des conditions relativement douces.[95] C'est un agent persistent et lipophile, sa voie de pénétration dans l'organisme est essentiellement cutanée.

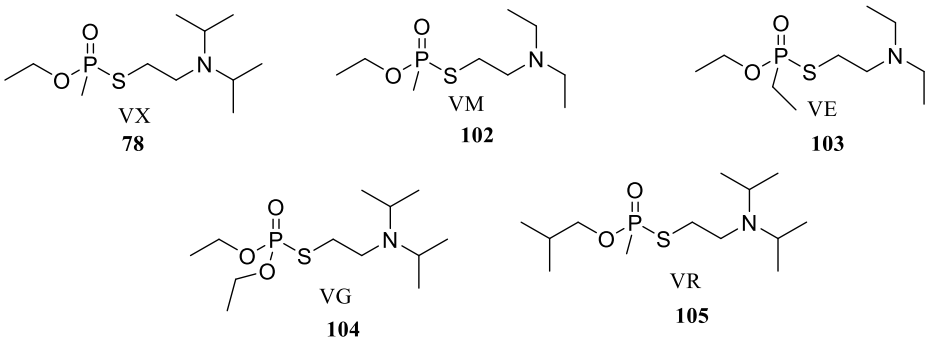


Figure 26 : Les agents V

La toxicité de ces composés est due à leur capacité à inhiber les acétylcholinestérases (AChE). L'activité anti-cholinestérasique dépend de deux paramètres qui déterminent la vitesse de phosphorylation de l'enzyme inhibée[96] :

- la réactivité de la liaison P-X (X groupe partant). Plus la force de liaison entre le groupe partant et l'atome de phosphore est faible, et plus la toxicité du composé augmente. L'activité anticholinestérasique du toxique est ainsi accrue lorsque l'électrophilie du phosphore est renforcée.

- l'analogie structurale existant entre le substrat naturel et l'agent neurotoxique, comme cela peut être le cas pour le VX (Figure 27).

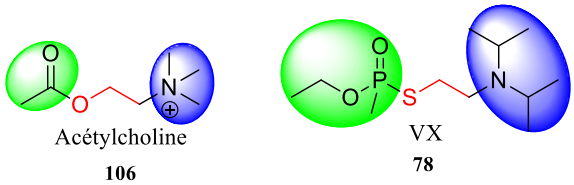
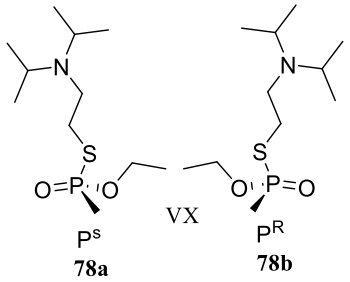


Figure 27 : Acétylcholine et VX

Ces agents neurotoxiques possèdent par ailleurs le plus souvent un ou plusieurs centres asymétriques. La configuration absolue de l'atome de phosphore (exemple du VX, Figure 28) est à ce titre particulièrement déterminante dans la toxicité du produit.



** Exception à la règle CIP : le substituant alkoxyle est prioritaire sur la liaison P=O* [97]

*Figure 28 : Enantiomères du VX **78***

Il a ainsi été constaté pour le VX, mais également de manière plus générale pour d'autres organophosphorés, que l'énantiomère lévogyre (correspondant ici au dérivé du VX **78a**) est plus toxique que l'énantiomère dextrogyre (+) (Tableau 4).

Stéréoisomères agents neurotoxiques	**Constante de vitesse d'inhibition sur l'acétylcholiestérase $M^{-1}.min^{-1}$ (25°C) [a]**	**DL_{50} (souris) (µg/kg)**
(-) VX	4.10^8	12,6 (ii)
(+) VX	2.10^6	165 (ii)

Tableau 4 : Toxicité des énantiomères du VX

III.2.1 Mécanisme d'inhibition des acétylcholinestérases

Le site actif des AChE est constitué d'une triade catalytique comprenant les résidus glutamate, histidine et sérine. L'hydrolyse s'effectue par une cascade catalytique dans laquelle le noyau imidazole de l'histidine joue un rôle clé (Schéma 26). Une liaison hydrogène est formée entre le noyau imidazole de l'histidine et le groupement acétate de l'acide glutamique. Ceci permet à l'imidazole, *via* un mécanisme concerté, de déprotonner la fonction alcool de la sérine pour former un alcoolate. Ce dernier réalise alors une addition nucléophile sur le groupement carbonyle de l'acétylcholine pour conduire à un intermédiaire tétraédrique qui se décompose en éliminant une molécule de choline. L'enzyme ainsi acétylée est attaquée par une molécule d'eau assistée par le noyau imidazole de l'histidine. Ceci entraine la libération d'une

molécule d'acide acétique, tout en régénérant l'enzyme sous sa forme active susceptible de prendre en charge une nouvelle molécule d'acétylcholine.

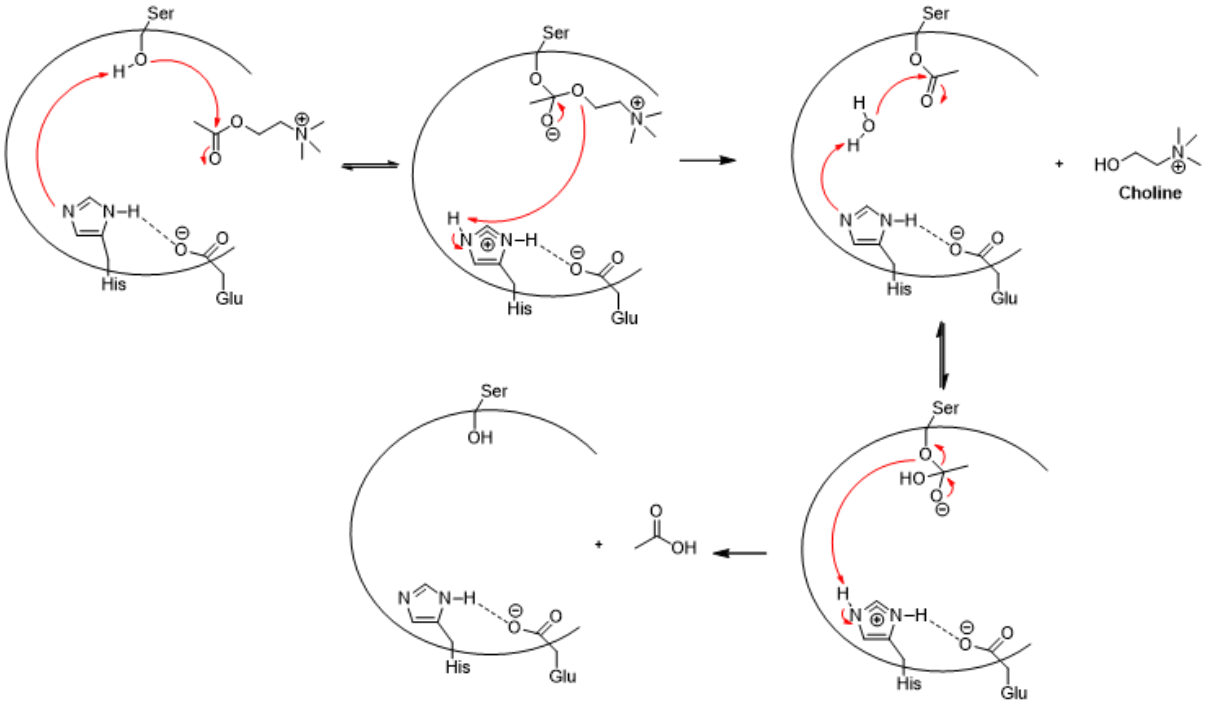


Schéma 26 : Mécanisme concerté d'hydrolyse de l'acétylcholine

En cas d'intoxication par un agent organophosphoré, le toxique vient occuper le site estérasique de l'enzyme en le phosphorylant, bloquant ainsi l'hydrolyse physiologique de l'acétylcholine en choline et acide acétique. Par une réaction similaire à celle de l'enzyme avec l'acétylcholine, une cascade catalytique est mise en jeu entre trois résidus formant une triade catalytique (sérine, histidine et acide glutamique).[98] L'oxygène de la sérine activé par un réseau de liaisons hydrogènes va attaquer l'atome de phosphore de l'organophosphoré conduisant au départ du groupe partant. L'organophosphoré hydroxylé génère une enzyme phosphorylée relativement stable, s'opposant ainsi à un retour à l'acétylcholinestérase libre. Cette forme inhibée de l'enzyme, peut persister de quelques heures à plusieurs jours, conduisant à une accumulation de neuromédiateur au niveau des synapses (Schéma 27).

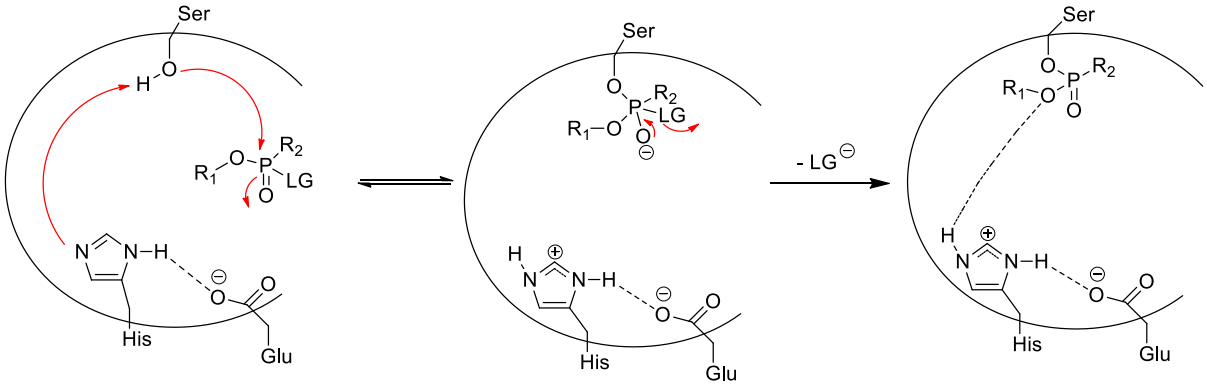


Schéma 27 : Mécanisme d'inhibition des acétylcholinestérases par les organophosphorés (LG= Leaving Group)

A ce stade, l'enzyme naturelle peut être réactivée, notamment en ayant recours à des agents nucléophiles pour libérer le site actif de l'enzyme. Cette stratégie fait d'ailleurs partie de l'arsenal thérapeutique actuel et l'objet de nombreuses investigations dans le domaine de la recherche. [99] Cette partie ne sera cependant pas développée car ne faisant pas partie de l'objectif de cette étude.

Quoi qu'il en soit, l'enzyme peut aussi évoluer vers une forme dite vieillie encore plus difficilement réactivable. [100] De surcroit, la stratégie de réactivation est aussi limitée par le fait qu'il est difficile d'atteindre les cholinestérases au niveau central. Pour cela, une approche complémentaire vise cette fois à détruire les organophosphorés avant qu'ils n'atteignent leur cible biologique. Cette voie s'appuie sur le développement de bio-épurateurs [101] et d'épurateurs chimiques [102]. C'est plus particulièrement ce dernier point qui a fait l'objet de nombreuses investigations au sein de notre équipe en se basant sur le développement de dérivés de cyclodextrines dont certains ont montré une très bonne efficacité vis-à-vis des agents G. [103]

Les travaux de cette thèse ont donc vocation à s'inscrire dans le développement de nouveaux systèmes décontaminants applicables cette fois dans le cas des agents V, de façon à pouvoir couvrir l'ensemble du spectre des armes chimiques. Cette voie de détoxification du VX va s'appuyer sur la coupure sélective de la liaison PS du toxique facilitée par l'oxydation au niveau du soufre.

III.2.2 Voies possibles de détoxification du VX

Nous nous focaliserons plus particulièrement sur deux grandes approches :

- la voie nucléophile
- la voie oxydative

Si de nombreux travaux de décontamination par voie nucléophile sont décrits pour la détoxification des agents G, peu d'exemples existent sur la dégradation par voie nucléophile du VX en raison du risque important de former des produits tout aussi toxiques que le VX. La dégradation par voie oxydative peut être une alternative plus efficace pour contourner ce problème.

III.2.2.1 Décontamination par voie nucléophile du VX

L'efficacité de la voie nucléophile pour la décontamination du VX dépend de la nature des sous-produits de réaction qui sont générés. En effet, en milieu nucléophile et basique, la dégradation du VX est non sélective.

Elle peut en effet conduire (Schéma 28) :

- à la rupture de la liaison P-S, qui génère la formation de sous-produits non toxiques **108** et **109**,
- mais également à la rupture de la liaison P-O qui amène la formation du composé toxique **107**, le phosphonothioate **EA-2192**.

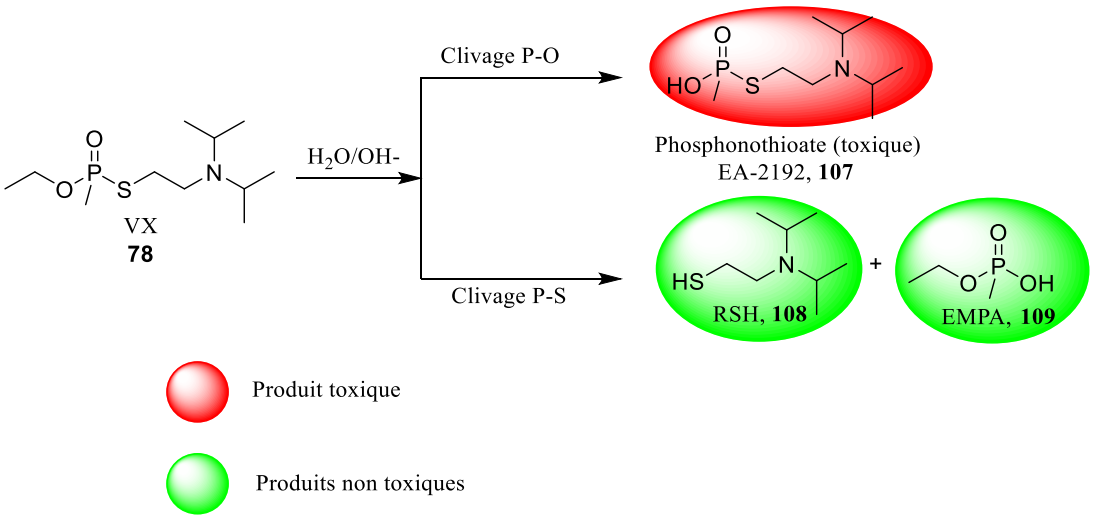


Schéma 28 : Dégradation non sélective du VX en milieu basique

Wagner *et al.* ont démontré qu'il était aussi possible de décontaminer le VX par vaporisation de peroxyde d'hydrogène seul ou combiné avec de l'ammoniac. L'ion peroxyde

(HO_2^-) joue alors le rôle de nucléophile *alpha* et promeut la rupture de la liaison P-S. Si la réaction par vaporisation de peroxyde d'hydrogène semble plus prometteuse car elle conduit à la formation des produits non toxiques **108** et **109** en fin de réaction, on observe néanmoins dans ces conditions la formation d'un composé toxique, le VX pyro **110** (Schéma 29). La combinaison peroxyde d'hydrogène / ammoniac (*m*VHP) a montré que cette approche améliorait grandement la dégradation du VX, mais elle était malgré tout accompagnée de la formation du composé toxique EA-2192 **107** à hauteur de 22%.[104]

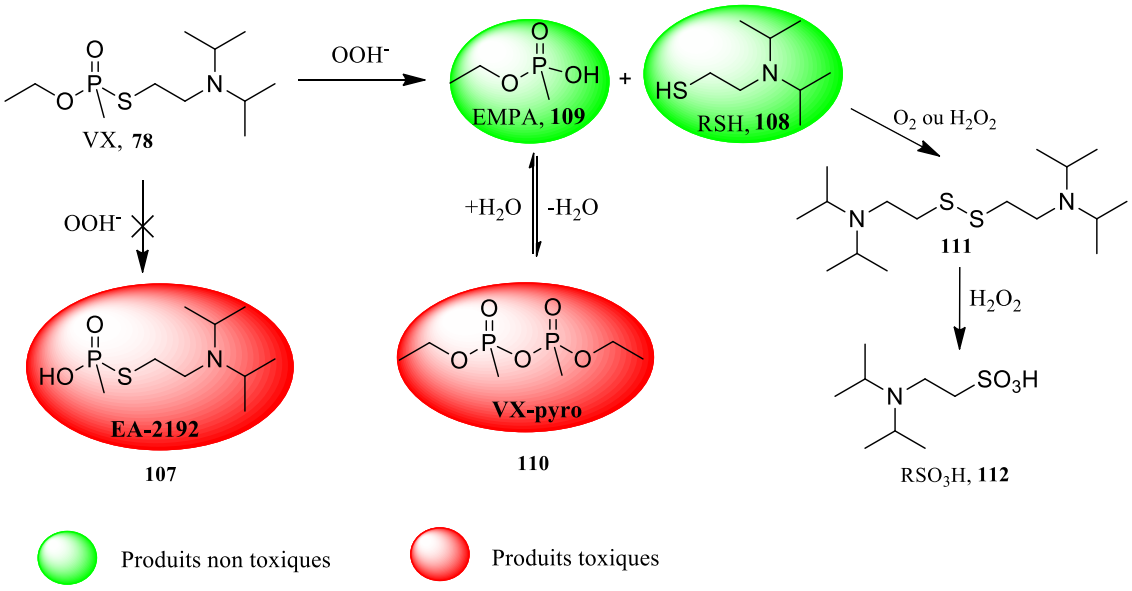


Schéma 29 : Décontamination du VX par vaporisation de peroxyde d'hydrogène

Une stratégie plus récente de détoxification a été développée par l'équipe de Schneider en utilisant des calixarènes substitués par un groupement « acide hydroxamique ».[105] L'agent neurotoxique est ainsi piégé par le sulfonatocalixarène **113** qui joue le rôle de cavitant. Le VX peut alors être dégradé en produits non toxiques (produits **109** et **114**) sous l'action du nucléophile α introduit sur le macrocycle. Alors que l'hydrolyse spontanée du VX conduit à l'apparition d'un mélange constitué d'un produit non toxique, l'acide éthylméthylphosphonique **109 (**EMPA), et du métabolite toxique EA-2192 **107**, l'utilisation du calixarène **113** permet d'éviter la formation de ce composé toxique **107**. (Schéma 30)

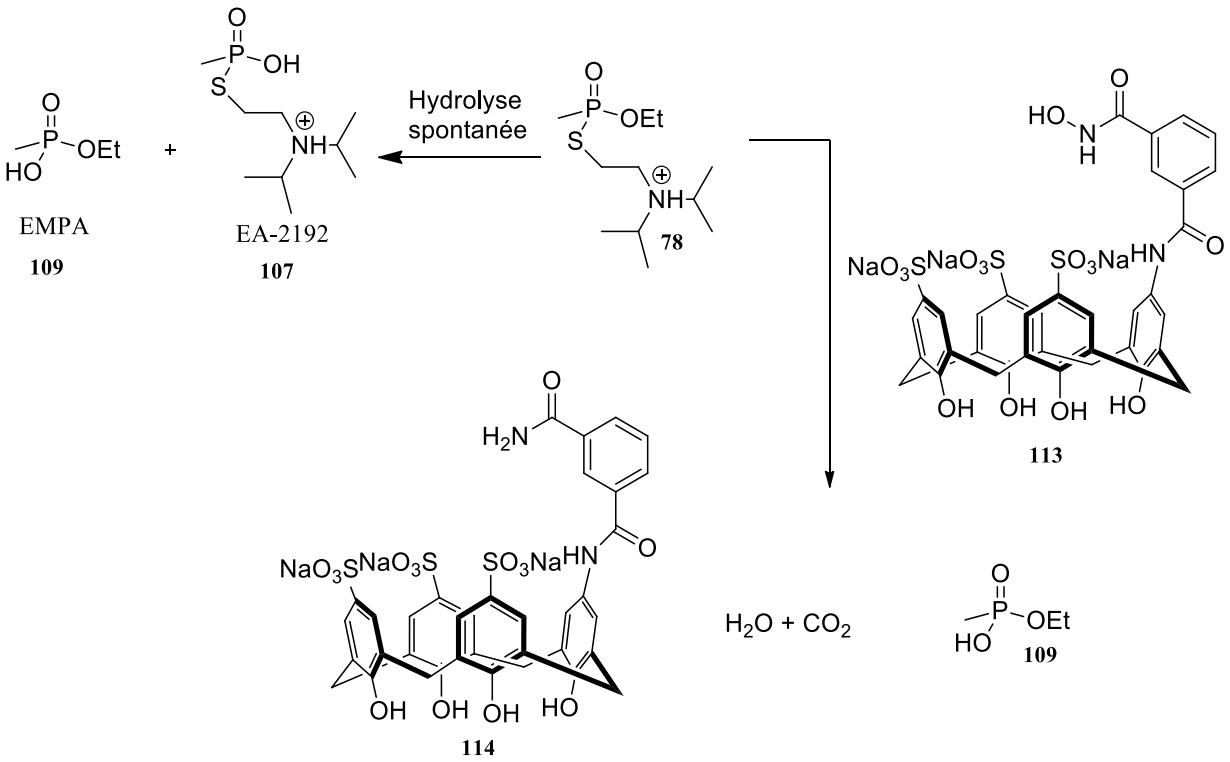


*Schéma 30 : Détoxification du VX en présence de sulfonatocalix[4]arènes **113***

III.2.2.2 Décontamination par voie oxydative du VX

De nombreux décontaminants oxydatifs comme le peroxyde d'hydrogène, des peroxymonosulfates, des nanomatériaux ou encore des oxydants inorganiques ou les hypochlorites peuvent être utilisés, ces derniers étant connus pour être les plus efficaces. En effet, l'utilisation d'hypochlorite de sodium, en poudre ou en solution (eau de javel) conduit à des composés moins toxiques ou non toxiques. Cependant, cette méthode s'est avérée très agressive, présentant un risque pour les yeux ou la peau en raison du fort potentiel corrosif de cet oxydant.

Un mélange d'hypochlorite de calcium (93%) et d'hydroxyde de sodium (7%), appelé eau de javel super tropicale, a été utilisé pour la décontamination du matériel avec une grande efficacité. Par contre, cette alternative présente aussi des désavantages, à savoir l'utilisation d'une grande quantité d'eau de javel ainsi que de peroxyde d'hydrogène, dont les propriétés corrosives du mélange empêchent son utilisation avec le matériel sensible et les individus.[106]

Kumar G. *et al.* ont réalisé la décontamination oxydative du VX en utilisant une espèce chlorée, le *N*,*N*-dichlorovaléramide **115** (NCV, Schéma 31). Les principaux composés de dégradation, l'EMPA **109** et le 2-(diisopropylamino)-éthanesulfonate **116** (DIES) sont non toxiques et obtenus à température ambiante.[107]

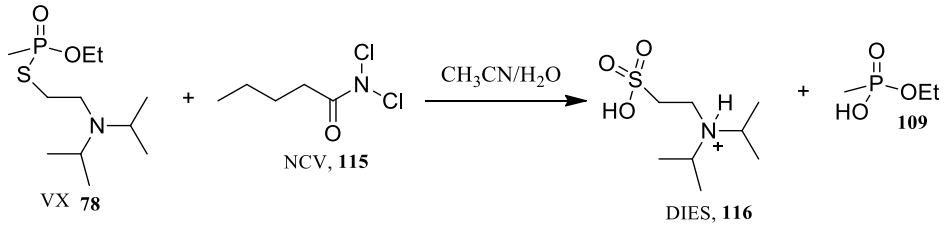


*Schéma 31: Détoxification oxydative du VX en présence de N,N-dichlorovaleramide **115***

L'inconvénient principal de la décontamination oxydative du VX reste cependant une possible compétition entre l'oxydation de l'atome de soufre et celle de l'atome d'azote. Dans ce dernier cas, l'hydroxylamine correspondante formée peut entrainer la formation de produits aussi toxiques que le VX, tels que le VX-pyro **110** ou le composé EA-2192 **107** (Figure 29).

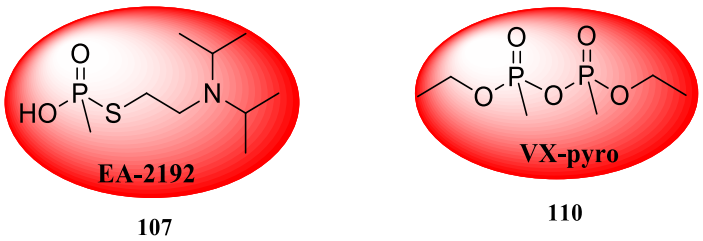


Figure 29 : Produits toxiques VX-pyro et EA-2192

De nombreux oxydes métalliques inorganiques comme l'oxyde de calcium, le dioxyde de titanium, l'oxyde de zinc ou encore l'oxyde de magnésium peuvent aussi dégrader les agents neurotoxiques en catalyse hétérogène. Récemment, l'équipe de Sellik a utilisé l'oxyde de magnésium pour neutraliser le paraoxon.[108]

III.3 Conclusion

Nous souhaitons développer des polymères à empreinte moléculaire (MIP) via l'utilisation d'une métalloporphyrine polymérisable, en créant des cavités artificielles qui mimeraient l'environnement protéique existant autour du site actif des enzymes naturelles. Nous espérons qu'à l'instar des enzymes, ces cavités joueront un rôle déterminant dans l'orientation du substrat à oxyder vis-à-vis du métal pour une oxydation efficace et sélective de dérivés soufrés. L'application recherchée s'inscrira plus largement dans la thématique de l'équipe visant à développer de nouveaux moyens de lutte contre les armes chimiques, par exemple en proposant à terme une nouvelle voie de détoxification du VX dans des conditions relativement douces (Schéma 32).

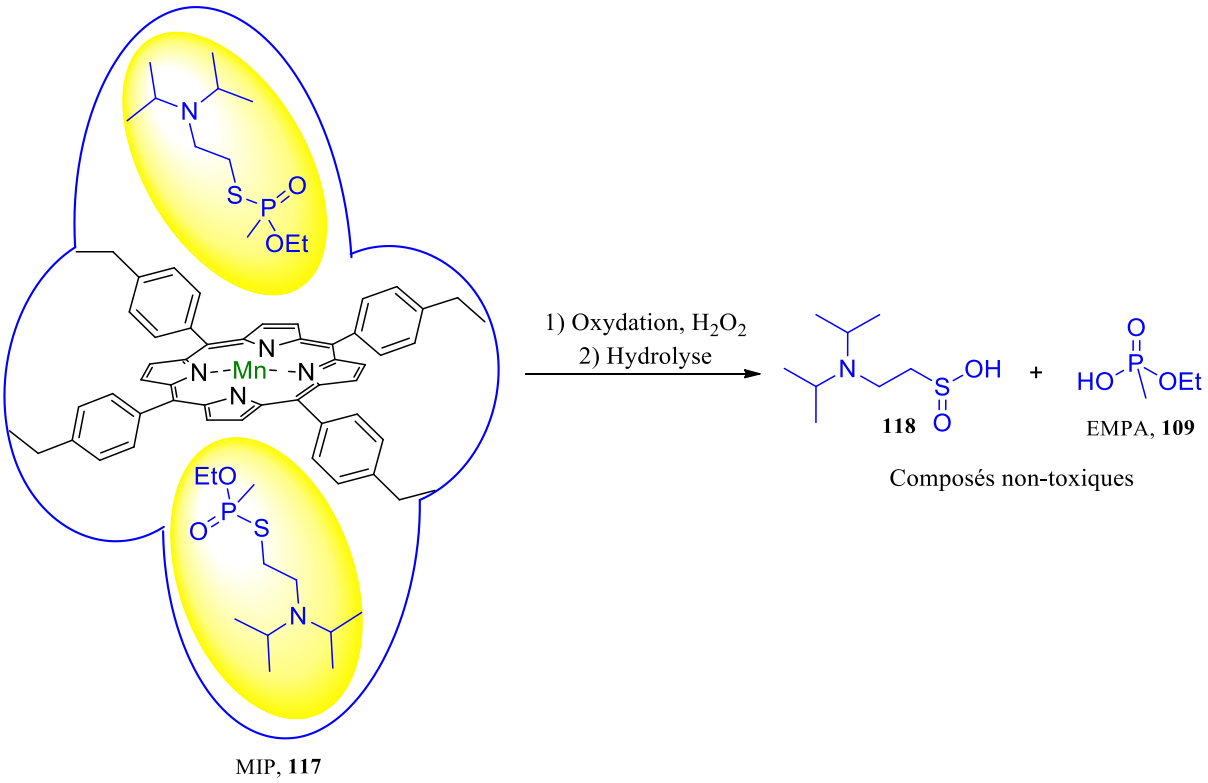


Schéma 32 : Oxydation du VX en présence d'un catalyseur hétérogène de MIP de manganoporphyrine pour former des produits non toxiques par dégradation oxydative

TRAVAUX PERSONNELS

Partie 1 :

Formulation des MIP à base d'une manganoporphyrine

I. Développement et caractérisation de MIP

Dans cette première partie, nous aborderons la préparation d'un polymère imprimé (MIP) basé sur une métalloporphyrine (MP) jouant le rôle de catalyseur d'oxydation.

Afin de rendre compte le mieux possible des travaux réalisés, cette partie est divisée en différentes tâches :

1) la synthèse d'une métalloporphyrine polymérisable portant des groupements styrène : comme nous l'avons introduit dans la partie bibliographique, nous avons choisi une MP de manganèse présentant de nombreux avantages lors des réactions d'oxydation. En effet, une MP de manganèse a été préférée à une MP de fer, afin d'éviter les réactions de dismutation du peroxyde d'hydrogène régulièrement observées avec cet oxydant. Afin d'évaluer l'efficacité ultérieure du MIP en catalyse oxydante par comparaison avec des études en phase homogène, des synthons prophyriniques supplémentaires ont été préparés.

2) La synthèse de molécules gabarit utilisées pour coordinner le métal de la MP afin de former un complexe de pré-polymérisation.

3) Les études de coordination des molécules gabarit avec le métal de la porphyrine.

4) La formulation du polymère par la création d'empreintes autours d'une molécule gabarit, l'extraction de la molécule gabarit et la caractérisation du MIP.

Deux cavités, de part et d'autre du plan de la MP, peuvent être ainsi obtenues après polymérisation, comme cela est illustré dans la Figure 30.

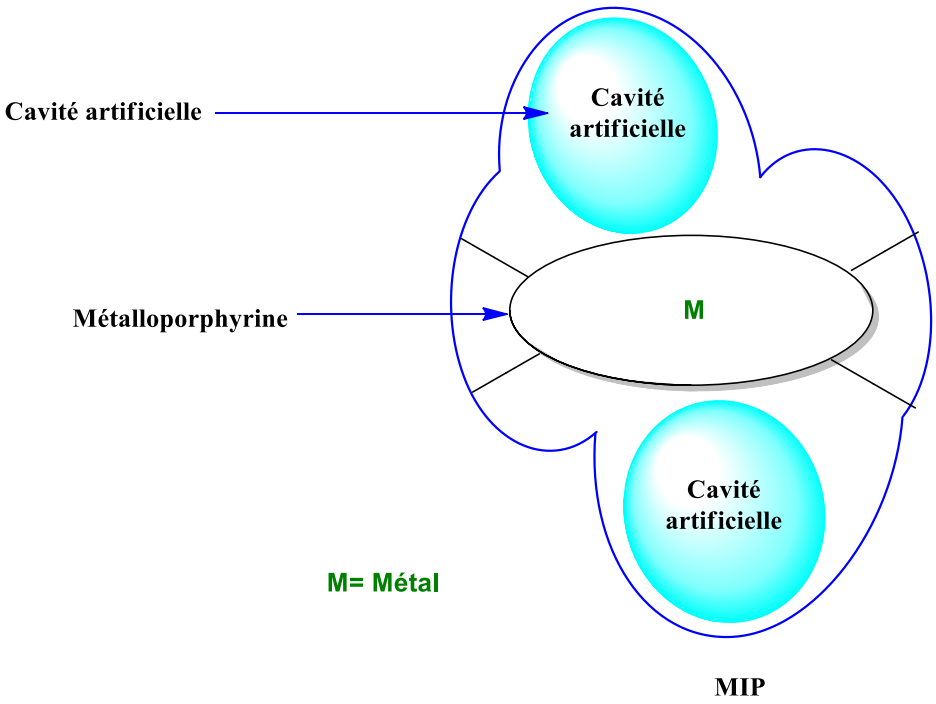


Figure 30: Polymères à empreintes moléculaires basés sur une métalloporphyrine

I.1 Synthèses des manganoporphyrines

Notre choix s'est ainsi porté sur la synthèse de trois métalloporphyrines de manganèse pour étudier leurs réactivités dans le cadre d'une réaction d'oxydation sur des substrats soufrés en milieu homogène *versus* un milieu hétérogène.

Pour les réactions d'oxydation en phase homogène, deux MP de manganèse ont été synthétisés, à savoir les composés **119a** et **119c** (Figure 30). Il est important de retenir que certaines métalloporphyrines sont effectivement connues pour s'autodégrader en conditions oxydantes. Cette dégradation résulte souvent de l'oxydation des positions méso du noyau porphyrinique, et l'introduction d'atomes de chlore sur les groupements phényle, placés perpendiculairement par rapport au plan de la porphyrine, permet en partie de protéger le macrocycle de cette dégradation. Nous avons ainsi opté pour l'utilisation de la 5,10,15,20-tétrakis(2,6-dichlorophényl)porphyrine (Mn(TDCPP)Cl) **119c**, connue pour sa stabilité dans les conditions d'oxydations en présence de peroxyde d'hydrogène. La présence de groupements électroattracteurs rend de surcroit l'espèce métal-oxo active plus électrophile et donc plus réactive par rapport à une métalloporphyrine simple.

Pour effectuer les réactions d'oxydations en milieu hétérogène, nous avons par ailleurs synthétisé un précurseur porphyrinique **119b** possédant des groupements polymérisables (Figure 31).

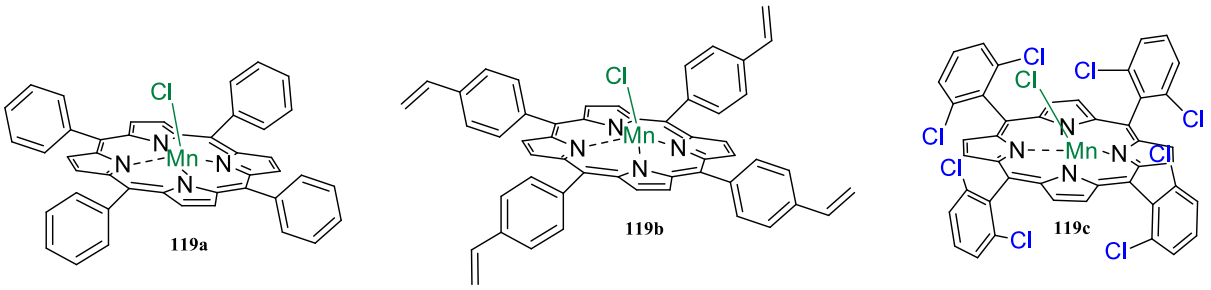
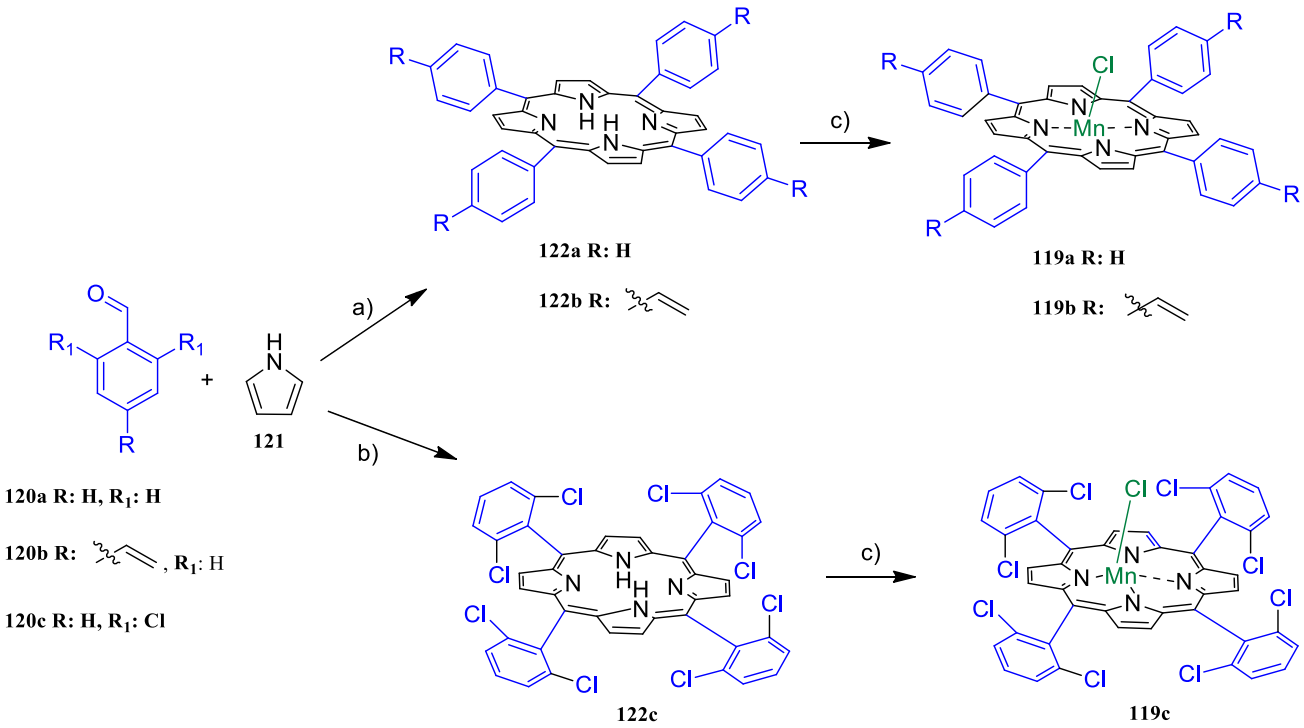


*Figure 31 : Manganoporphyrines **119a, 119b et 119c***

La première étape pour accéder aux porphyrines **119a** et **119b** consiste à créer le noyau porphyrinique en utilisant la méthode d'Adler et Longo (voie a) en faisant intervenir le pyrrole **121** et un aldéhyde **120a** ou **120b** (Schéma 33) pour accéder aux composés symétriques **122a** et **122b**. Si l'aldéhyde **120a** est un dérivé commercial, l'aldéhyde **120b** a été lui-même préalablement synthétisé à partir du 4-bromostyrène et du magnésium dans le DMF.[109]



a) Méthode Adler et Longo, aldèhyde **120a, ou 120b**, pyrrole **121**, acide propionique, reflux, 21% ; b) Méthode de Lindsey, aldéhyde **120c,** BF_3MeOH, chloranil, dichlorométhane, température ambiante, 21% ; c) porphyrine **122a, 122b** ou **122c**, diacétate de manganèse hydraté, DMF, reflux, 30 minutes, HCl 6N, 78%.

*Schéma 33 : Synthèses des manganoporphyrines **119a, 119b** et **119c***

A titre d'exemple, la porphyrine **122b** a été analysée par RMN et par spectrométrie de masse (MALDI-TOF). La présence d'un singulet caractéristique des protons β-pyrroliques a été identifiée par RMN ^{1}H à 8.90 ppm, le signal correspondant aux groupes NH apparait relativement blindé à -2,74 ppm. Enfin, dans la zone comprise entre 5,5 et 9 ppm, on

retrouve les signaux correspondant aux protons éthyléniques et ceux des groupements phényles (Figure 32).

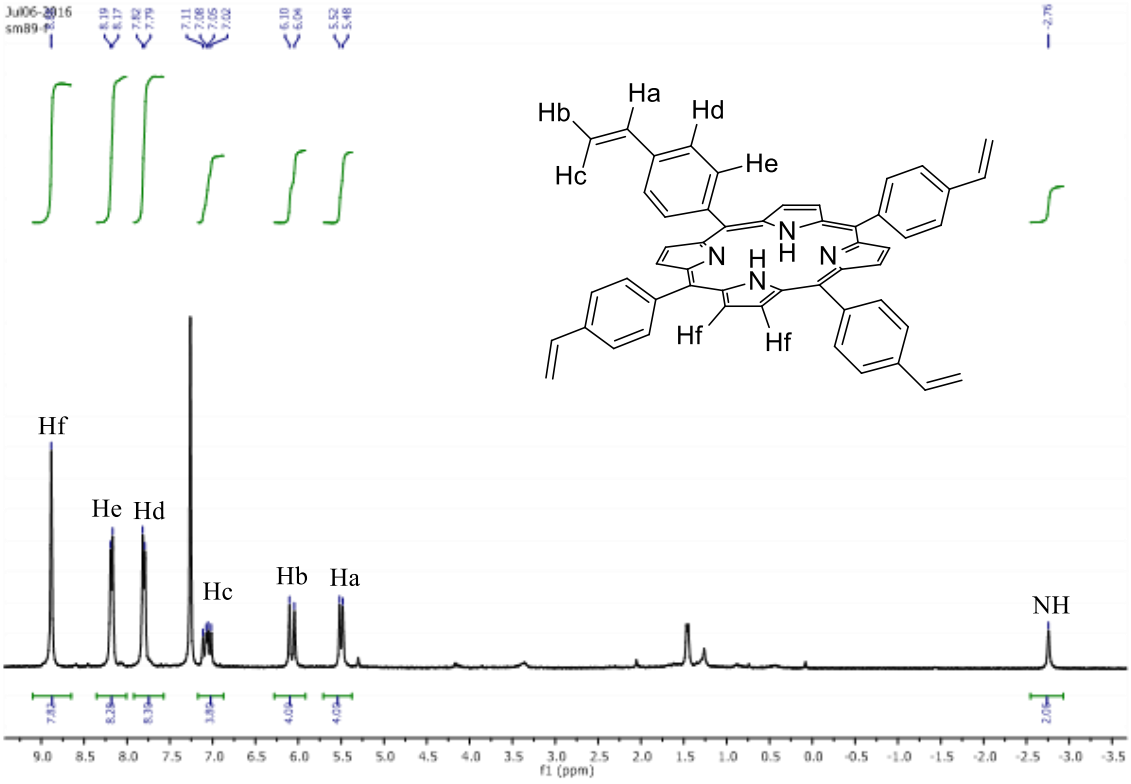


*Figure 32 : Spectre RMN ^{1}H de la porphyrine **122b***

La métallation des porphyrines **122a** et **122b** a été ensuite effectuée par action du diacétate de manganèse dans le DMF. Après ajout d'une solution d'acide chlorhydrique 6N, les manganoporphyrines ont été obtenues sous la forme d'une poudre verte avec des rendements respectifs de 81 et 78%.

Les métalloporphyrines **119a** et **119b** ont été analysées par spectroscopie UV-Visible, celle-ci présentent la bande de Soret caractéristique se situant à une longueur d'onde de 479 nm.

La synthèse de la porphyrine **119c** a quant à elle été réalisée selon les conditions de Lindsey (voie b) à partir d'un mélange équimolaire de 2,6-dichlorobenzaldéhyde **120c** et de pyrrole **121** dans une solution diluée de dichlorométhane. Afin d'obtenir la porphyrine **122c**, un oxydant, la chloranile, est nécessaire pour aboutir au composé souhaité avec un rendement de 21%. La dernière étape est la métallation qui a été obtenue selon un protocole identique à celui utilisé pour les dérivés **119a** et **119b**. Cette réaction a conduit à la MP **119c** souhaitée avec un rendement de 78% (Schéma 33).

I.2 Synthèse des molécules gabarits

Comme preuve de concept, nous nous sommes concentrés sur la conception et la préparation de MIP comme catalyseurs d'oxydation de dérivés soufrés développés en tant qu'armes chimiques, et plus particulièrement l'ypérite et le VX. À cet égard, la forme des cavités est déterminante pour le positionnement du substrat par rapport au centre métallique de la manganoporphyrine. Dans ce contexte, la création des cavités appropriées dans le polymère était cependant assez délicate, car les substrats HD et VX eux-mêmes ne pouvaient pas être utilisés.

Comme cela a déjà été fait pour d'autres MIP,[110] un pseudo-substrat faisant office de gabarit devait donc être développé pour réaliser la synthèse de MIP. Pour créer l'empreinte moléculaire lors du processus de polymérisation, nous avons donc eu recours à des molécules « gabarit » présentant un encombrement stérique proche de celui de la molécule « substrat » et susceptible de se complexer à l'ion métallique de la porphyrine.

Le MIP ciblé a été conçu en utilisant les dérivés **123b** et **124** comportant un hétérocycle azoté de type pyridine ou imidazole lié à un fragment diisopropylamine par l'intermédiaire d'un bras espaceur structuralement proche du groupement soufré du VX (Figure 33). Le choix a été basé sur la structure VX compte-tenu de son encombrement stérique plus important comparativement à la molécule HD. Ainsi, l'azote hétérocyclique pourra coordinner le métal, tandis que le fragment diisopropylamine favorisera la formation de cavités avec un espace bien défini une fois que le polymère est formé et que le gabarit a été extrait.

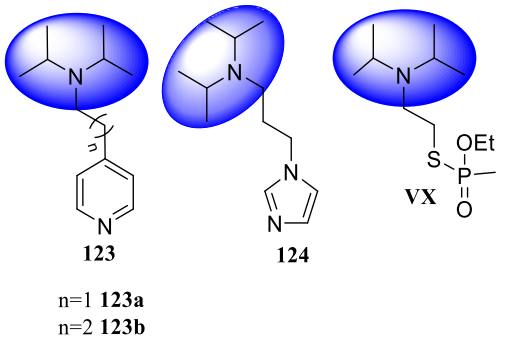


*Figure 33 : Gabarits pyridinique **123** et imidazolique **124***

L'hétérocycle azoté jouera ainsi le rôle de ligand axial de la métalloporphyrine pour donner un complexe bipyramidal à base carrée (Schéma 34). L'imidazole et la pyridine sont en effet connus pour avoir une bonne affinité de coordination avec le manganèse.

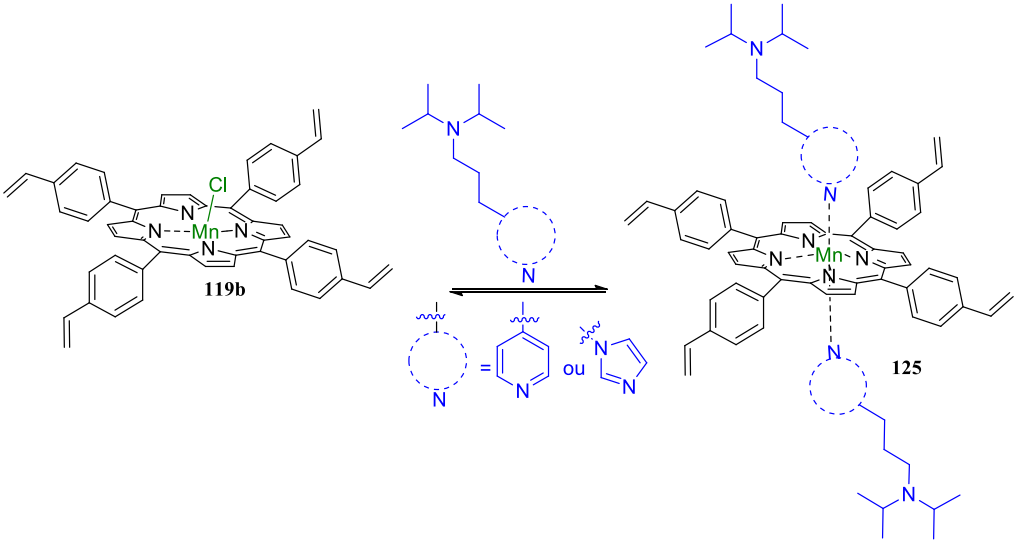


*Schéma 34 : Coordination des gabarits **123b** et **124** à la manganoporphyrine polymérisable **119b***

I.2.1. Synthèse du gabarit pyridinique **123**

Dans le cas du gabarit pyridinique, nous avions choisi initialement une molécule présentant une chaine carbonée identique à celle du VX (Figure 34). Cependant, nous avons rencontré de nombreux problèmes lors la synthèse du dérivé pyridinique **123a** possédant deux atomes de carbone pour relier la partie diisopropylamine.

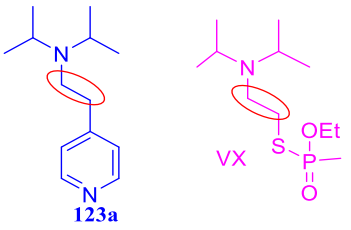
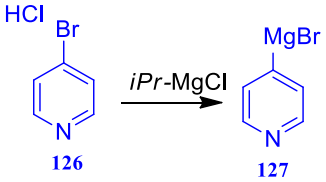


*Figure 34 : Dérivé pyridinique **123a** avec deux carbones sur la chaine aliphatique*

Nous avons en effet tenté d'obtenir ce composé en passant par le dérivé organomagnésien **127**, préalablement préparé à partir du chlorure de 4-bromopyridinium **126** en présence de chlorure d'isopropylmagnésium (Schéma 35).

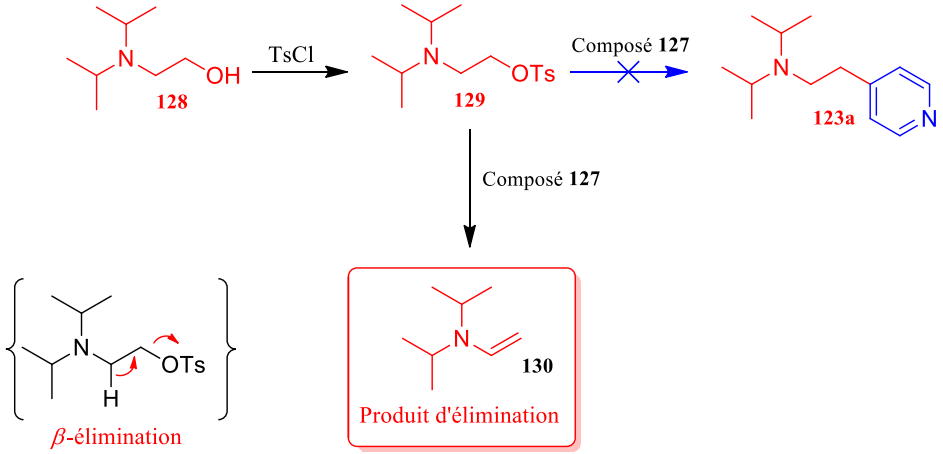


*4-bromopyridinium **126**, chlorure d'isopropylmagnésium, THF, température ambiante, 30 minutes*

*Schéma 35 : Organomagnésien **127** en présence d'isopropylmagnésium*

Différentes conditions opératoires ont été employées en faisant notamment varier la température du milieu réactionnel, sans pour autant obtenir la formation du composé désiré.

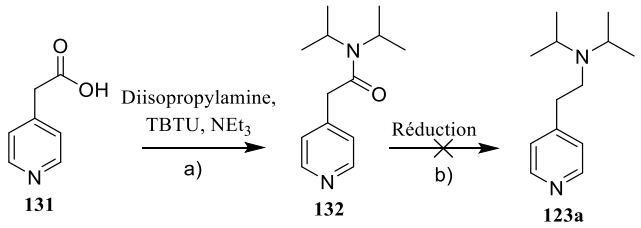
Une autre voie de synthèse a alors été envisagée en partant du dérivé **128** commercial (Schéma 36). L'activation de la fonction alcool par un groupement tosylate a conduit au composé **129**. Cependant, sous l'action du composé **127**, ce dernier a conduit préférentiellement à une réaction de β-élimination au détriment de la substitution nucléophile souhaitée pour conduire au produit **130**.



*TsCl, DIPEA, acétonitrile, 2 heures, ajout du composé **127** in-situ*

*Schéma 36 : Réaction de β-élimination avec formation du produit d'élimination **130***

Nous avons alors envisagé une autre alternative pour la synthèse du composé **123a** en partant du dérivé **131** (Schéma 37). La synthèse du composé **132** a ainsi été réalisée par couplage peptidique entre l'acide **131** et la diisopropylamine en présence de TBTU. L'amide **132** a été obtenu avec un rendement de 54%. Le traitement de l'amide **132** par $LiAlH_4$ au reflux de l'éther diéthylique ne nous a cependant pas permis de mettre en évidence la formation du produit souhaité **123a** lors d'un suivi par GC-MS.



*a) Composé **131**, diisopropylamine, TBTU, triéthylamine, température ambiante 1 heure, 54% ; b) composé 132, $LiAlH_4$, éther diéthylique, reflux, 1 heure*

*Schéma 37 : Synthèse du dérivé pyridinique **123a***

Compte-tenu de ces résultats, nous avons donc décidé d'accéder au composé pyridinique **123b** dont le bras espaceur comporte un atome de carbone supplémentaire (Figure 35).

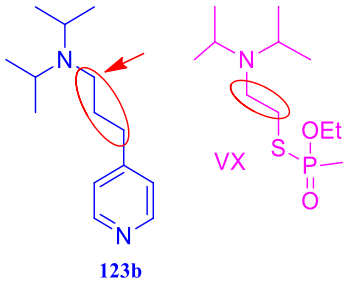
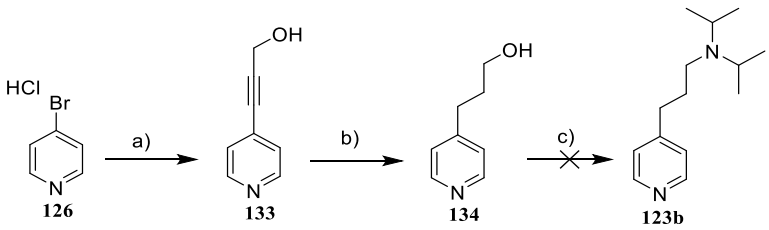


*Figure 35 : Modification de la longueur de la chaine carbonée du dérivé pyridinique **123b***

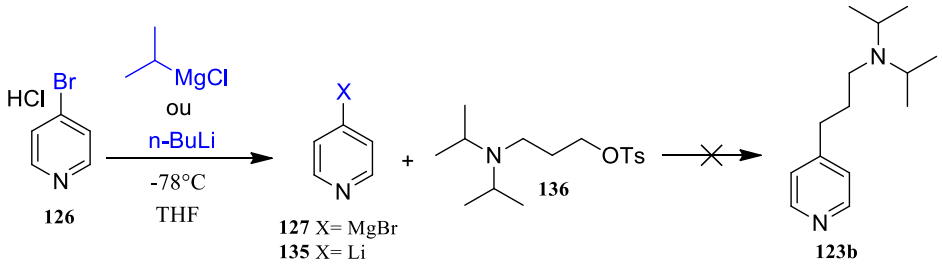
La synthèse débute par un couplage de type Sonogashira entre la 4-bromopyridine **126** et l'alcool propargylique pour donner le composé **133** (Schéma 38). La tosylation du composé **134**, suivie du traitement par la diisopropylamine n'a cependant pas permis d'obtenir le composé **123b**.



a) Alcool propargylique, $Pd(PPh_3)_2Cl_2$, TEA, CuI, dioxane, température ambiante, 2 heures, 48% ; b) H_2, Pd/C, EtOH, température ambiante, 18 heures, 89% ; c) TsCl, DIPEA, K_2CO_3, ACN, température ambiante, 2 heures

Schéma 38 : Réaction de substitution par la diisopropylamine

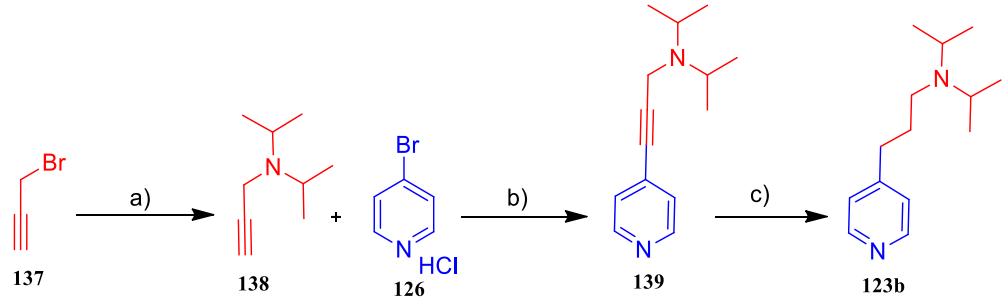
Nous avons alors orienté la stratégie de synthèse en partant de la 4-bromopyridine **126** pour former le composé organométallique **127** à partir du chlorure d'isopropylmagnésium ou **135** à partir du *n*-butyllithium. L'étape de substitution du dérivé tosylé **136** n'a cependant toujours pas conduit au produit désiré **123b** (Schéma 39) probablement en raison de l'instabilité des dérivés organométalliques.



*a) composé **126**, chlorure d'isopropylmagnésium ou n-butyllithium, -78°C, THF, 2 heures ; b) composé **127** ou **135**, composé **136** ajouté in-situ, -78°C, 1 heure*

Schéma 39 : Réactions avec des organométalliques

Nous avons alors décidé d'orienter la synthèse du composé **123b** en effectuant une substitution nucléophile sur le bromure de propargyle **137** par la diisopropylamine (Schéma 40). Le produit **138** a été obtenu avec un rendement de 48%. Il a ensuite été engagé dans un couplage de Sonogashira avec la 4-bromopyridine **126** pour conduire au composé **139**. L'hydrogénation catalytique du composé **139** a donné ensuite le dérivé souhaité **123b** avec un rendement de 68%, isolé après une simple purification par des lavages acido-basiques.



*a) diisopropylamine, bromure de propargyle, acétonitrile, 80°C, 48% ; b) propargyl-amine **138**, 4-bromopyridne hydrochlorure **126**, $Pd(PPh_3)Cl_2$, CuI, Et_3N, acétonitrile, 37% ; c) composé **139**, Pd/C, H_2, EtOH, 68%*

Schéma 40 : Synthèse du dérivé pyridinique 123b

I.2.2. Synthèse du gabarit imidazolique **124**

Comme le dérivé pyridinique **123b**, nous avons choisi un bras espaceur à trois atomes de carbone pour relier le groupement diisopropylamine au noyau imidazole (Figure 36).

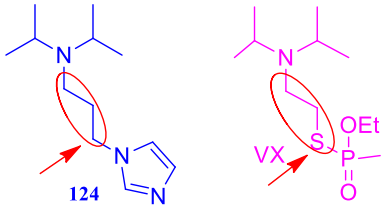
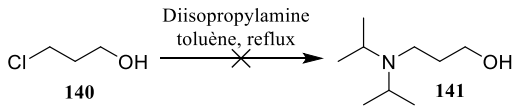


*Figure 36 : Chaine carbonée du gabarit imidazolique **124** par rapport à la structure du VX*

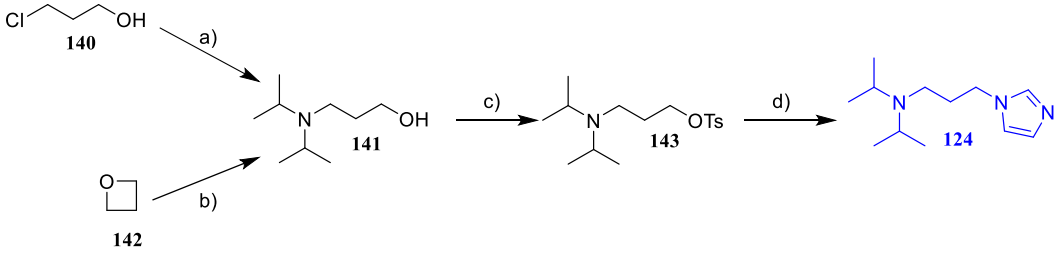
Dans un premier temps, la diisopropylamine a été mise en réaction avec le 3-chloro-propanol **140** dans le toluène au reflux (Schéma 41). Le suivi de la réaction par RMN ^{1}H a montré la formation du produit **141** avec un rendement très faible. Le passage par l'amidure de disiopropylamine par addition d'hydrure de sodium n'a pas permis non plus d'obtenir le produit **141** souhaité en raison d'une dégradation des réactifs.



*Diisopropylamine, 3-chloropropanol **140**, NaH, toluène, reflux, 18 heures*

Schéma 41 : Alkylation avec la diisopropylamine en présence de NaH ou sans

Le composé **141** a pu être obtenu par substitution nucléophile réalisée en tube scellé à partir du 3-chloropropanol **140** et de la diisopropylamine à 120°C dans l'acétonitrile durant 7 jours, mais avec un rendement modeste de 38% (Schéma 42). La réaction d'ouverture de l'oxétane **142** par la diisopropylamine a permis cette fois d'obtenir le produit **141** avec un très bon rendement de 90% après 24 heures en présence de $LiBF_4$ comme acide de Lewis dans l'acétonitrile à 80°C. Après tosylation de la fonction alcool du dérivé **141**, la réaction de l'imidazole avec le composé **143** a conduit au gabarit **124** avec un rendement de 40% (Schéma 42).



*a) diisopropylamine, 3-chloropropanol **140**, acétonitrile, K_2CO_3, 120°C, 7 jours, 38% ; b) $LiBF_4$, ACN, 80°C, 24 heures ; c) amino-alcool **141**, chlorure de 4-toluènesulfonyle, DIPEA, acétonitrile, ta, 2 heures, d) imidazole, K_2CO_3, ta, 6 heures, 40%*

*Schéma 42 : Synthèse du dérivé imidazolique **124***

Des études de coordination ont été ensuite menées avec les gabarits **123b** et **124** et la manganoporphyrine polymérisable **119b**. Ces études ont eu pour objectif de déterminer les concentrations optimales des partenaires pour la formation des complexes molécule « gabarit » / manganoporphyrine. Ces études de coordination sont primordiales avant la synthèse des polymères à empreintes moléculaires, car elles permettent de fixer les conditions lors de la pré-polymérisation afin de favoriser le complexe de coordination molécule « gabarit » / manganoporphyrine.

*I.3 Étude de coordination entre la manganoporphyrine polymérisable **119b** et les gabarits synthétisés **123b** et **124***

I.3.1. Détermination des conditions d'analyse – Etudes antérieures

Des études de coordination ont été effectuées avec une métalloporphyrine de manganèse perchlorate ((TPP)$MnClO_4$, Figure 36) en présence d'imidazole, de pyridine et de DMSO à une concentration de l'ordre de 10^{-5} mol.L^{-1} dans le dichloroéthane.[60] Deux types de complexes peuvent être observés par spectroscopie UV-Visible. En effet, les spectres d'absorbance réalisés ont montré un déplacement hypsochrome lorsque la manganoporphyrine est complexée. Il est en effet possible de distinguer la formation d'un complexe de porphyrine penta **144** ou hexa-coordinné **145** (Figure 37) suite à un léger changement sur leurs spectres d'absorbance respectifs.

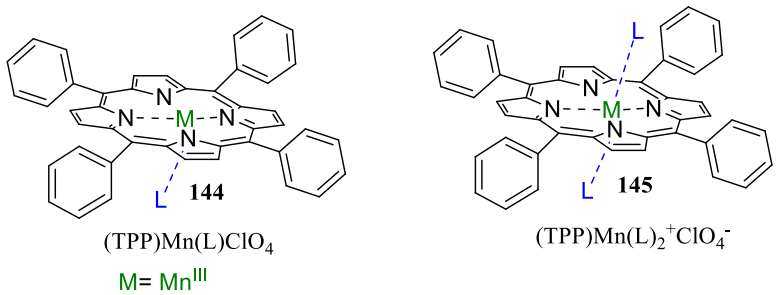


Figure 37 : Complexe manganoporphyrine penta et hexacoordiné

D'autres expériences ont montré que les spectres associés aux espèces complexées (TPP)Mn(L)Cl et (TPP)$Mn(L)_2^+Cl^-$ pouvaient être confondus, rendant difficile leur distinction. L'équilibre est cependant favorisé vers la formation du complexe bi-ligandé **146** (Figure 38).[60]

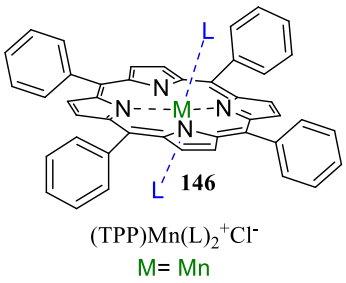


Figure 38 : Complexe manganoporphyrine hexacoordiné

Les études de coordination menées par Hambright en présence de pyridine ou d'imidazole ont démontré que l'imidazole était un meilleur complexant que la pyridine avec pour résultat une constante d'affinité plus élevée pour l'imidazole.[61] [60]

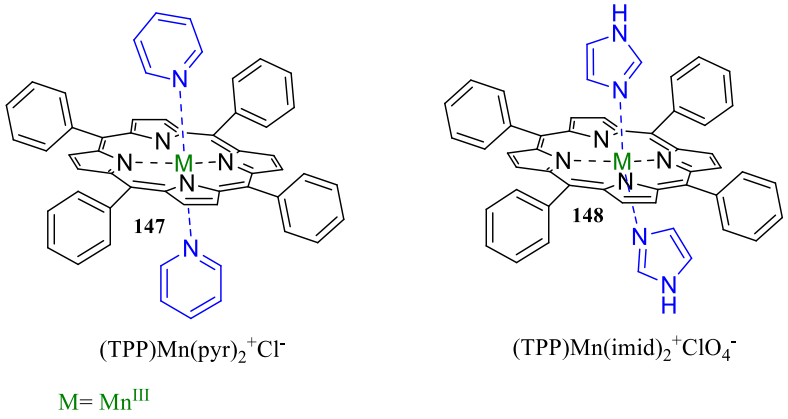


*Figure 39 : Complexes manganoporphyrine/pyridine **147** et manganoporhyrine/imidazole **148***

Ces résultats montrent que l'imidazole est donc un meilleur coordinant du manganèse, et que l'espèce bi-ligandée peut être favorisée lors de l'établissement de l'équilibre de complexation, même si la distinction avec l'espèce mono-ligandée est parfois difficile à mettre en évidence.

I.3.2 Étude de coordination entre la manganoporphyrine **119b** et la 4-méthylpyridine **149**

Nous avons préalablement effectué une mise au point des conditions de coordination avec la 4-méthyl-pyridine **149** et la manganoporphyrine **119b** (Schéma 43). Cette première expérience avait pour objectif de déterminer les concentrations relatives de manganoporphyrine et de dérivé hétérocyclique sans utilisation des composés synthétiques **123b** et **124** dont la synthèse nécessite plusieurs étapes réactionnelles.

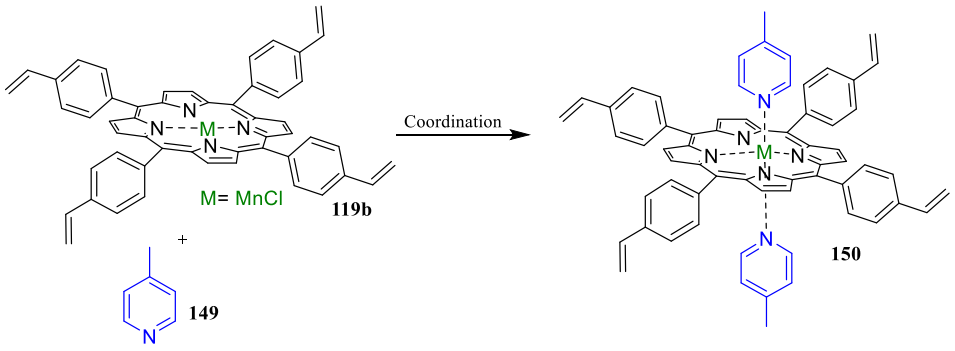


*Schéma 43 : Coordination de la 4-méthylpyridine et de la manganoporphyrine **119b***

Le suivi a été fait par spectrophotométrie UV-visible. Nous avons ainsi dans un premier temps enregistré le spectre d'absorption UV-Visible de la manganoporphyrine **119b** en l'absence de toute espèce coordinante (Figure 40). Nous avons observé la bande de Soret

caractéristique à 480 nm correspondant à la métalloprophyrine, ainsi que 3 bandes Q respectivement à 531, 584 et 622 nm.

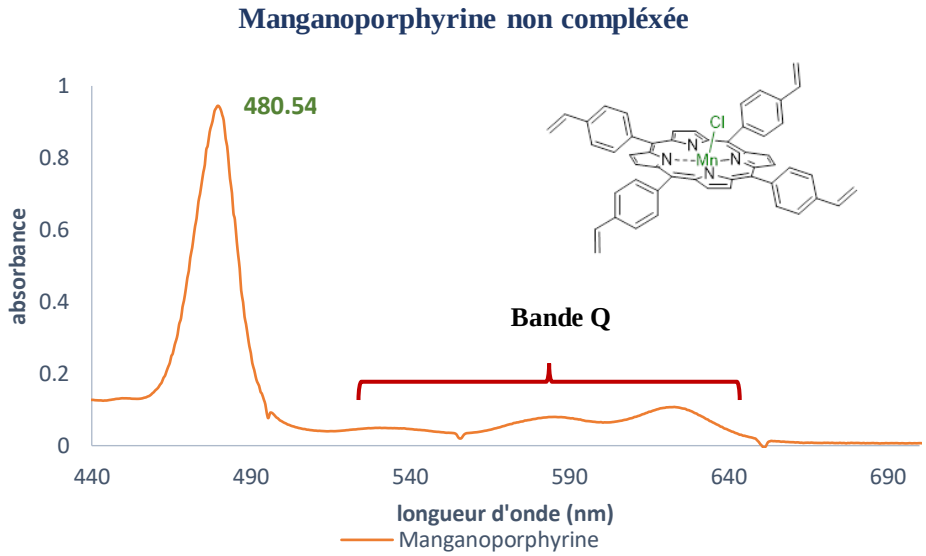


*Figure 40 : Spectre UV-visible de la manganoporphyrine non complexée **119b***

Nous avons ensuite réalisé une première étude à faible quantité d'espèce coordinante et de métalloporphyrine en faisant varier la concentration de 4-méthylpyridine **149** de 0,2 à 3 équivalents par rapport à la manganoporphyrine **119b** qui est à une concentration fixe de 5.10^{-6} M dans le chloroforme, à une température de 25°C. Considérant que l'équilibre de complexation est généralement atteint instantanément, les analyses ont été réalisées cinq minutes après l'ajout de 4-méthylpyridine dans la solution contenant la manganoporphyrine **119b**.

Dans cette gamme de concentration, aucun déplacement n'a cependant pu être observé sur la bande de Soret à 480 nm caractéristique d'une manganoporphyrine non ligandée (Figure 41).

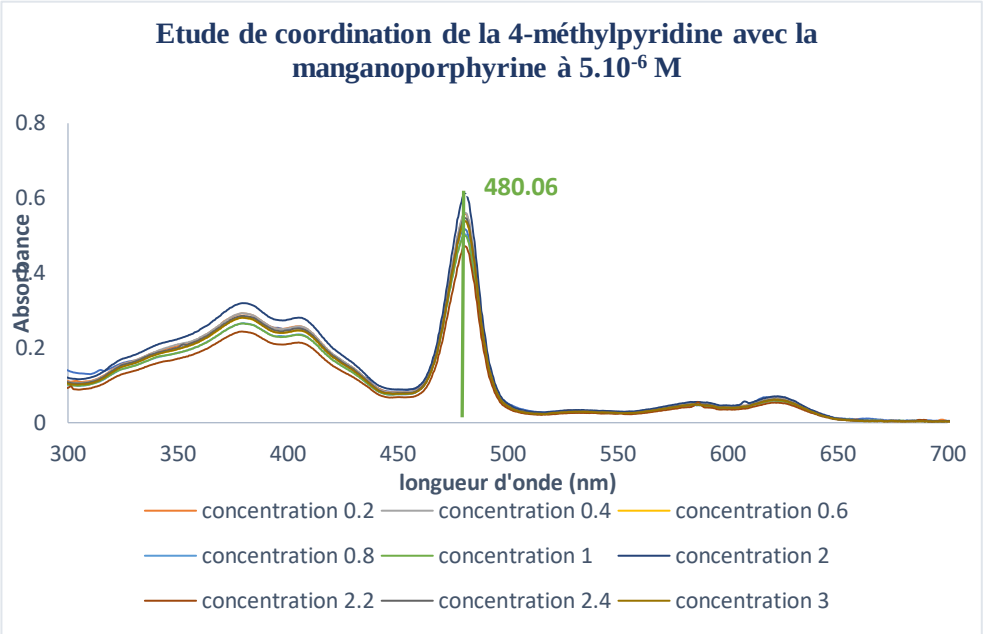


*Figure 41 : Étude de coordination de la 4-méthylpyridine avec la manganoporphyrine **119b** à concentration fixe à 5.10^{-6}M*

Nous avons ensuite augmenté la concentration en manganoporphyrine à 10^{-5} M. En conservant une quantité de 4-méthylpyridine comprise entre 0,2 et 3 équivalents par rapport à la manganoporphyrine **119b**, nous n'avons toujours pas pu constater de différence spectrale notable. En effet, aucun déplacement n'a été observé par analyse UV-visible quelle que soit la quantité de 4-méthylpyridine **149** additionnée à la solution de porphyrine. En fixant alors la concentration en composé **119b** à 2.10^{-5} M et en ajoutant 1 équivalent de 4-méthylpyridine **149**, aucune complexation n'a été observée.

L'étude de coordination a alors été mise en œuvre en présence d'un très large excès de ligand par rapport au composé porphyrinique. Elle a été menée à une concentration de 0,9 M en dérivé pyridinique **149** tout en conservant une concentration en porphyrine **119b** de 10^{-5}M dans le chloroforme. L'analyse UV-Visible a cette fois permis de mettre en évidence un déplacement de la bande de Soret de la manganoporphyrine à 478 nm. Un déplacement de 5 nm a par ailleurs été observé au niveau des bandes Q (Figure 42).

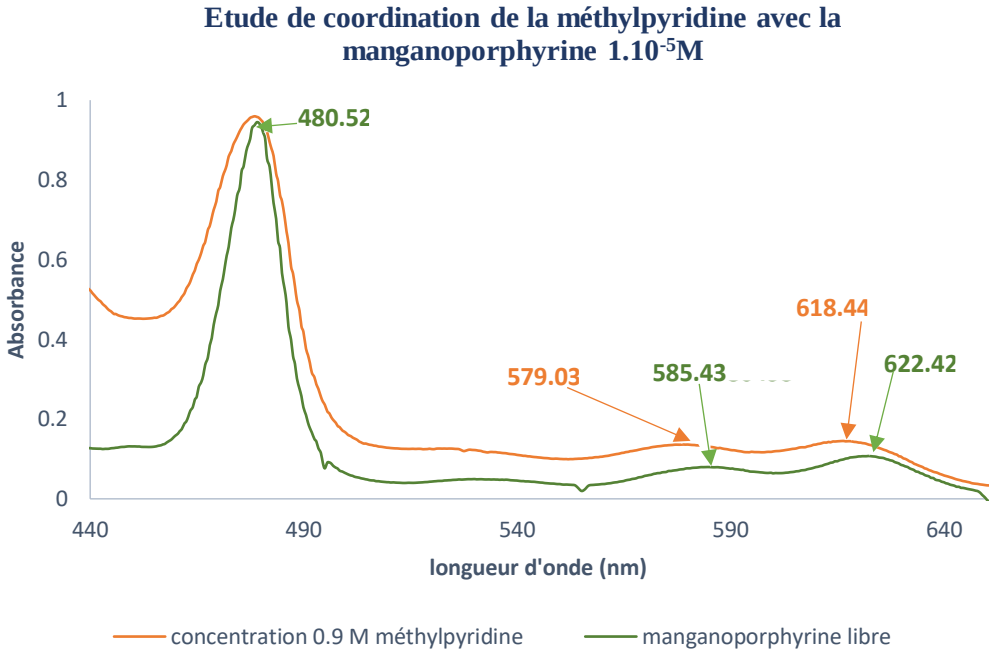


*Figure 42 : Étude de coordination de la 4-méthylpyrine (0.9 M) avec la manganoporphyrine **119b** à concentration fixe de 1.10^{-5}M*

La complexation de la manganoporphyrine **119b** se traduit par un faible déplacement de la bande de Soret (2 nm). Nous pouvons supposer que la formation instantanée de l'espèce bi-ligandée **150** (Schéma 40) est favorisée à des concentrations importantes, c'est-à-dire en large excès par rapport à la métalloporphyrine utilisée.

Cette étude nous a permis de déterminer la gamme de concentration à laquelle nous devions travailler pour observer une complexation avec le gabarit pyridinique synthétique **123b**. La coordination doit être réalisée avec un large excès de gabarit par rapport à la manganoporphyrine dont la concentration a été fixée à 1.10^{-5} M.

I.3.3 Mise en œuvre du protocole d'étude de coordination des gabarits **123b** et **124**

Sur la base de ces essais préliminaires de complexation, nous avons mis en œuvre les études de coordination des dérivés **123b** et **124** en présence de la manganoporphyrine polymérisable **119b**.

Pour cela, nous avons fait varier la quantité des molécules « gabarits » de 20 à 1800 équivalents *versus* la métalloporphyrine **119b** à la concentration de 10^{-5}M (Schéma 44).

Dans ces conditions, la formation du complexe mono-ligandé **160** et celle du complexe bi-ligandé **152** n'ont pas pu être distinguées par spectrométrie UV-Visible, bien que la formation du complexe bi-ligandé **152** est supposée être favorisée en solution.

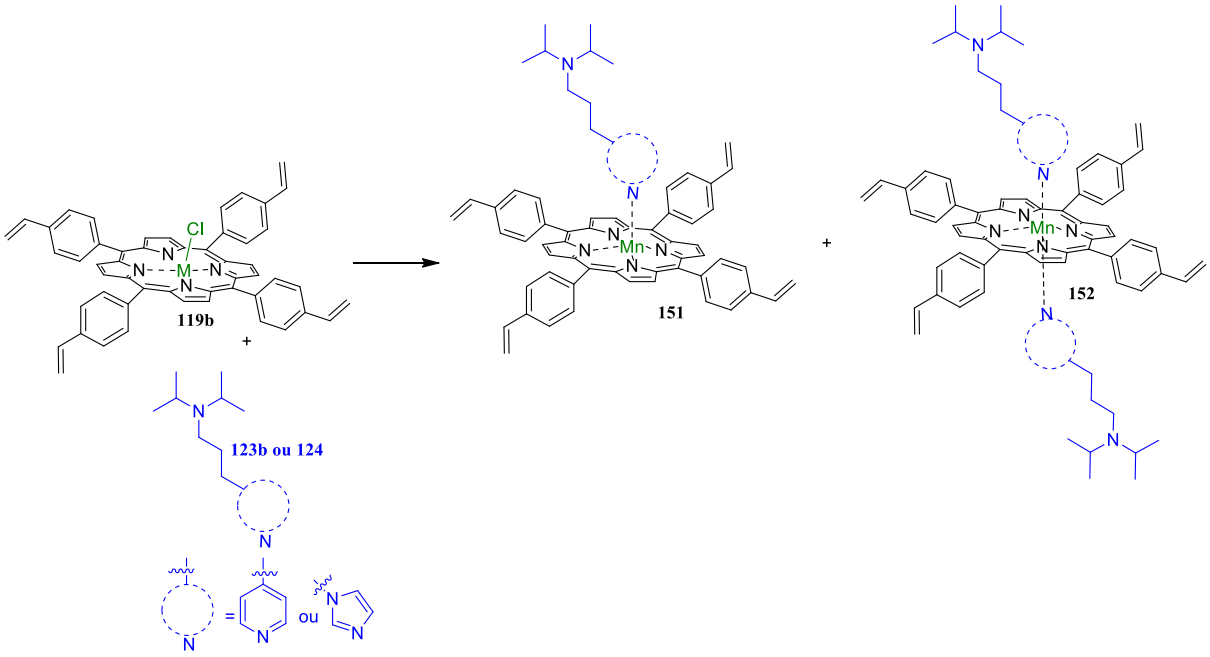


*Schéma 44 : Coordination de la manganoporphyrine et des gabarits pyridinique **123b** et imidazolique **124***

Quoi qu'il en soit, nous avons souhaité compléter cette étude de coordination en présence d'acide acrylique, car nous souhaitions potentiellement utiliser ce dérivé lors de la formulation des polymères à empreinte moléculaire. L'acide acrylique **153** est cependant un monomère qui peut entrer en compétition avec les ligands d'intérêts **123b** et **124** vis-à-vis du métal de la porphyrine (Schéma 45, voie b), mais dont la fonction acide carboxylique est aussi susceptible d'interagir avec le groupement amine terminal des molécules « gabarits » par des interactions hydrogènes ou ioniques. Cette dernière interaction serait potentiellement favorable à un bon positionnement des dérivés **123b** et **124** vis-à-vis du centre métallique de la porphyrine (Schéma 45, voie a).

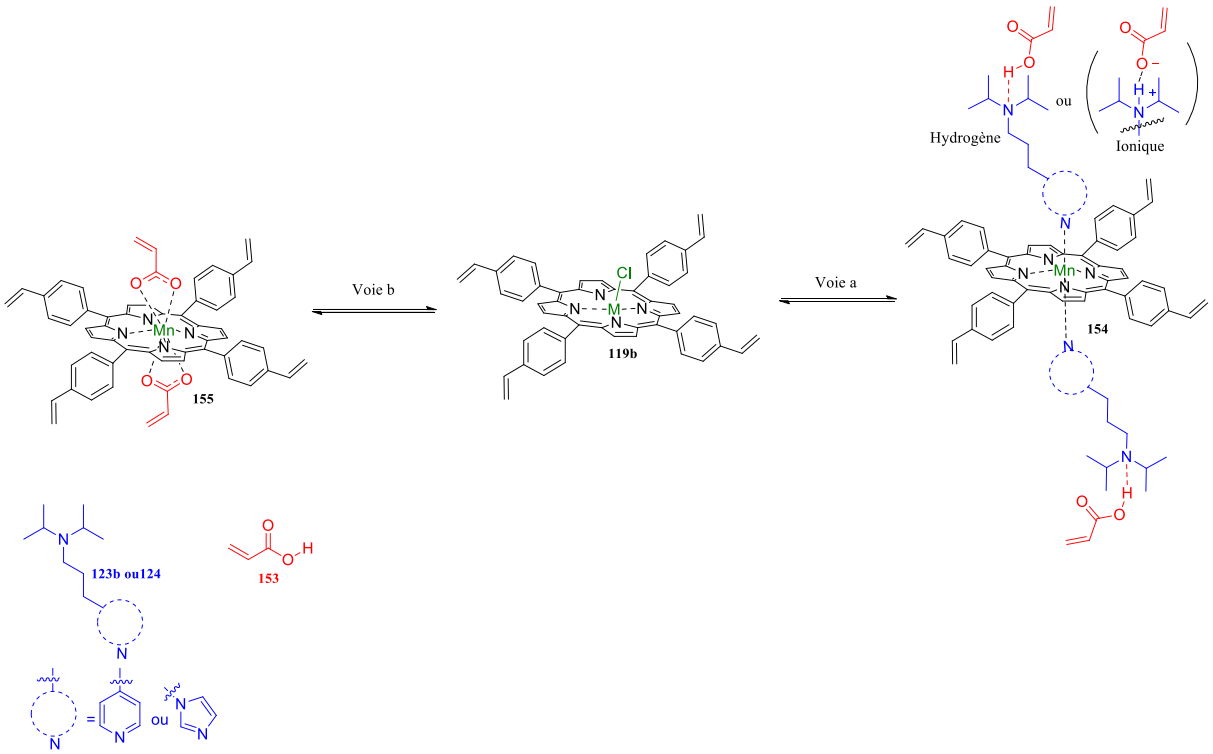


*Schéma 45: Coordination de la manganoporphyrine **119b** et des gabarits **123b** et **124** en présence d'acide acrylique **153***

I.3.3.1. Résultats expérimentaux : Coordination des gabarits **123b** et **124** avec la métalloporphyrine polymérisable **119b**

L'acide acrylique a été ajouté en quantité équimolaire par rapport aux molécules **123b** et **124**.

I.3.3.1.1. Étude de coordination du gabarit pyridinique **123b** avec la manganoporphyrine **119b**

L'analyse UV-Visible a montré un déplacement hypsochrome à 475 nm de la bande de Soret après addition de 1400 équivalents de composé **123b** (Figure 43). L'addition supplémentaire de 1400 équivalents d'acide acrylique n'a pas entrainé de modification, la bande de Soret apparaissant toujours à 475 nm (Figure 44) et semblant justifier l'absence de compétition entre l'acide acrylique et le dérivé **123b**.

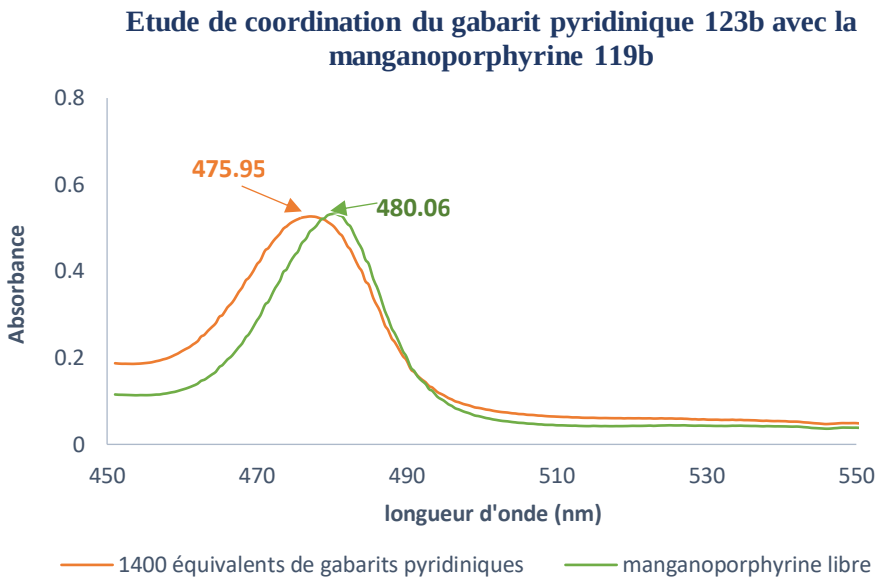


*Figure 43 : Coordination du gabarit pyridinique **123b** avec la manganoporphyrine **119b** (475 nm) et bande de Soret de la manganoporphyrine libre (480 nm)*

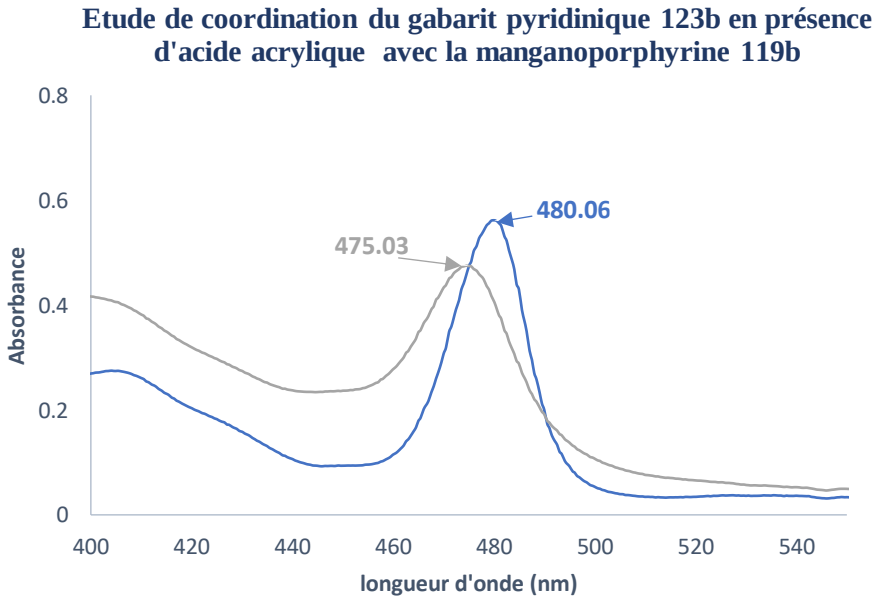


*Figure 44 : Coordination du gabarit pyridinique **123b** avec la manganoporphyrine **119b** en présence d'acide acrylique (475 nm, courbe grise) et spectre de la manganoporphyrine libre **119b** (480 nm, courbe bleue)*

I.3.3.1.2. Étude de coordination entre la manganoporphyrine **119b** et le gabarit imidazolique **124**

Comme précédemment, les analyses ont été réalisées en l'absence et en présence d'acide acrylique (Figures 45 et 46) selon les mêmes conditions opératoires. Nous avons cette fois observé un déplacement hypsochrome de 2 nm de la bande de Soret après addition de seulement 100 équivalents de dérivé imidazolique **124**. En présence d'acide acrylique (100 équivalents par rapport à la manganoporphyrine **119b**), aucune modification supplémentaire du spectre UV-visible n'a alors été observée.

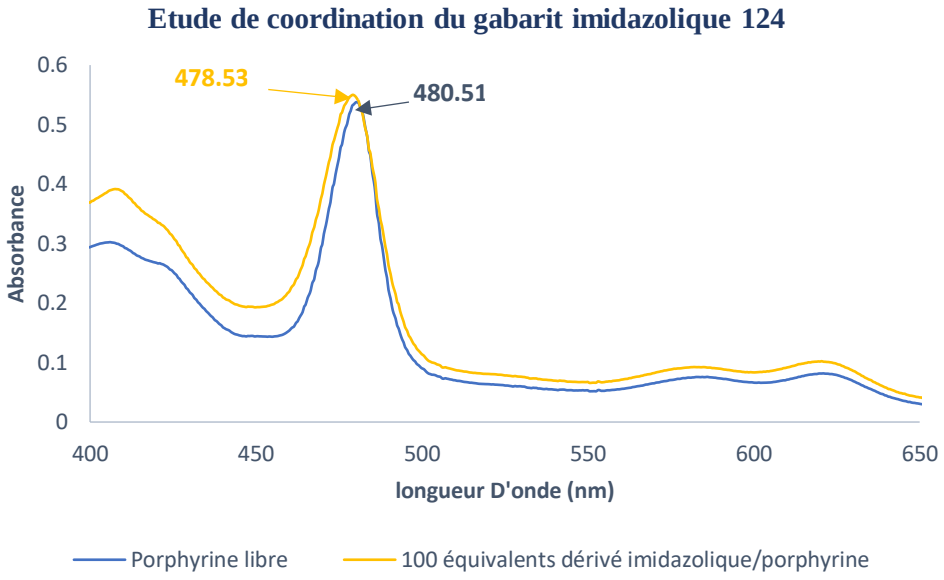


*Figure 45 : Coordination du gabarit imidazolique **124**, 100 équivalents du dérivé imidazolique par rapport à la manganopoprhyrine **119b** et spectre UV-Visible de la manganoporphyrine libre **119b***

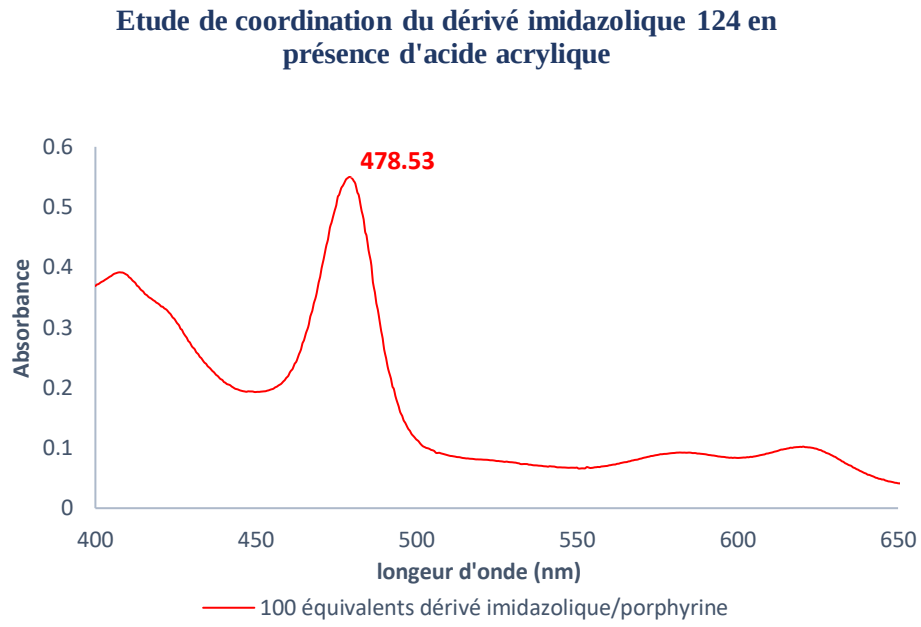


*Figure 46: Coordination du gabarit imidazolique **124**, 100 équivalents du dérivé imidazolique par rapport à la manganopoprhyrine **119b** en présence d'acide acrylique (100 équivalents par rapport à la manganoporphyrine)*

Pour confirmer que l'acide acrylique était effectivement susceptible d'interférer avec le centre métallique de la porphyrine en l'absence des dérivés **123b** ou **124**, une étude de coordination complémentaire a été réalisée entre la manganoporphyrine **119b** et l'acide acrylique en présence d'une base, la triéthylamine.

La bande de Soret est cette fois-ci déplacée à 443 nm (Figure 47), confirmant que la bande observée à 478 nm (Figure 45 et 46) correspondait bien au complexe hétérocycle azoté / manganoporphyrine.

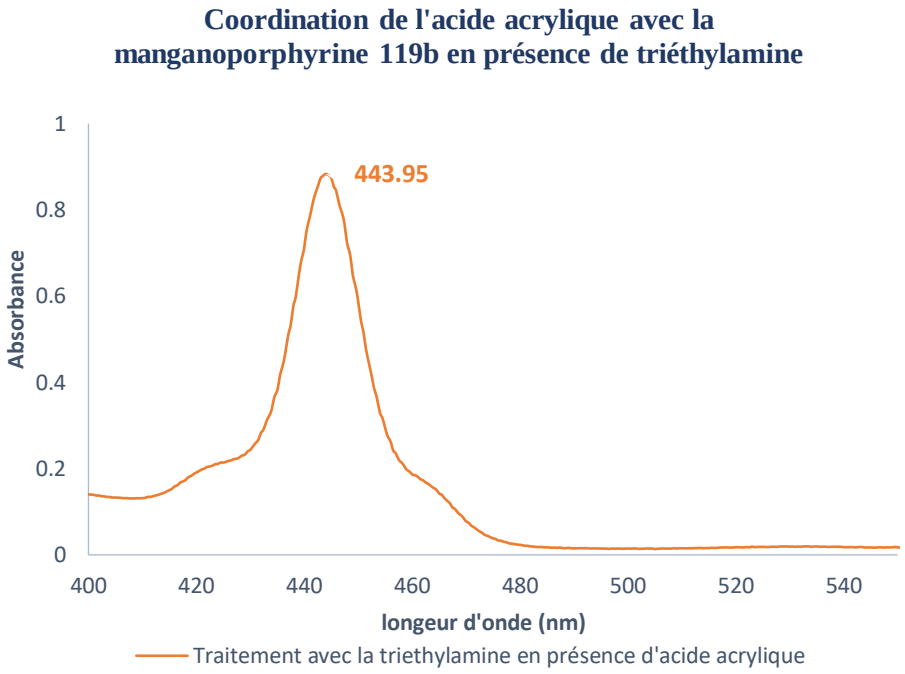


*Figure 47 : Coordination de l'acide acrylique avec la manganoporphyrine **119b** en présence de triéthylamine (443 nm)*

Nous avons alors calculé les constantes d'équilibres de formation des complexes de la manganoporphyrine **119b** avec les dérivés **123b** et **124**. Nous avons utilisé la formule suivante pour le calcul de celles-ci :[111]

$$K = \frac{\Delta A / \Delta \varepsilon}{\{[porphyrine]_0 - \Delta A / \Delta \varepsilon\}\{[gabarit] - \Delta A / \Delta \varepsilon\}}$$

$\Delta A = A - A_0$ (différence des absorbances), $\Delta \varepsilon = \varepsilon - \varepsilon_0$ (différence des epsilons), $[porphyrine]_0$= concentration initiale en manganoporphyrine, [gabarit]= concentration en gabarit

Dans le cas du dérivé **124**, nous avons obtenu une valeur de K égale à 6597, alors qu'elle n'est que de 1 avec le dérivé **123b**. Ces valeurs ont démontré que la formation du complexe avec le ligand imidazolique était plus favorable, résultat prévisible selon les données décrites dans la littérature.[60-61]

Ces études de coordination achevées, nous avons par la suite développé des polymères à empreintes moléculaires à cœur porphyrinique.

I.4 Formulation des polymères à empreintes moléculaires

Notre objectif est ainsi d'imprimer les gabarits synthétisés afin de les extraire sélectivement des cavités artificielles créées lors du processus de polymérisation.

I.4.1 Impression moléculaire à partir des gabarits pyridinique **123b** et imidazolique **124 :** Choix des paramètres de polymérisation

Le principe des polymères à empreintes moléculaires se traduit par l'impression d'une molécule cible ou gabarit, dans une matrice polymérique. Différentes approches peuvent être mises en œuvre pour la synthèse de MIP en fonction de la nature des interactions entre les monomères et le gabarit : approche covalente, approche non-covalente et approche semi-covalente.

Dans notre cas, nous allons nous intéresser à l'approche non-covalente. Cette méthode est traduite par la coordination de l'azote du noyau pyridine ou imidazole avec le manganèse du noyau porphyrinique. Les ligands axiaux se positionnent pour former une forme géométrique de type bipyramide à base carré.

I.4.1.1 Mode de polymérisation : polymérisation en masse ou « Bulk »

La préparation d'un MIP s'effectue en présence d'un agent réticulant, un initiateur de radicaux et d'un solvant. Après polymérisation, le polymère obtenu contient le gabarit qui est ensuite extrait. Ainsi, une nouvelle molécule d'intérêt possédant une structure proche de la molécule gabarit peut être reconnue par les sites libres.

Nous avons décidé d'utiliser la polymérisation en masse (ou « Bulk ») pour la synthèse de nos polymères. Cette méthode a consisté à mélanger tous les composés (complexe de pré-polymérisation **156**, agent réticulant, initiateur de radicaux, solvant) et d'initier la polymérisation par voie thermique (Schéma 46). Un bloc de polymère est obtenu, qui est ensuite broyé et tamisé pour obtenir des particules hétérogènes. Le gabarit contenu dans le polymère est extrait en utilisant des conditions plus ou moins drastiques.

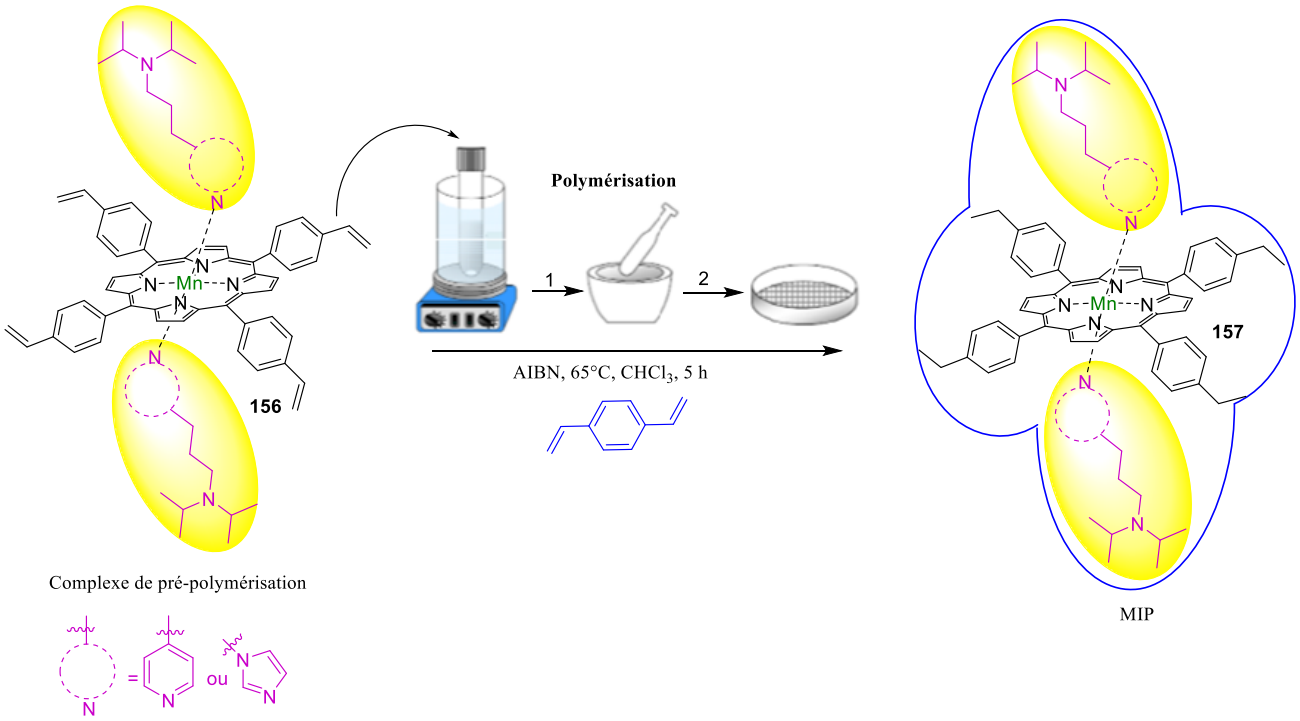


*Schéma 46 : Polymérisation en masse autour des gabarits **123b** et **124***

I.4.1.2 Monomères fonctionnels

La manganoporphyrine polymérisable **119b** a été employée comme monomère dans notre système. Les gabarits ont été ligandés à la manganoporphyrine par une coordination métal-hétéroatome (manganèse-azote).

Différents types de polymères ont été synthétisés.

- La première série de MIP est basée uniquement sur la coordination des gabarits à la métalloporphyrine.

- La deuxième série de MIP est toujours basée sur la complexation gabarits-manganoporphyrine, mais il est possible de jouer sur des interactions faibles (liaisons hydrogènes) entre le groupement diisopropylamine des gabarits avec un acide carboxylique. A cet effet, nous avons choisi l'acide acrylique qui est un monomère souvent utilisé lors des synthèses de MIP. L'acide acrylique devrait permettre de créer des empreintes plus sélectives en favorisant le bon positionnement du gabarit dans la cavité artificielle.

Dans la suite du rapport, les polymères à empreintes moléculaires obtenus en l'absence d'acide acrylique seront désignés sous l'appellation « MIP-SA ». Les MIP synthétisés en présence d'acide acrylique seront nommés pour leur part « MIP-AA ».

I.4.1.3 Choix du solvant et du monomère réticulant

Les composés **123b** et **124** et la manganoporphyrine polymérisable **119b** doivent être solubles lors de la polymérisation. Un solvant de polymérisation organique a été préféré pour réduire les éventuelles interactions non spécifiques. Le solvant de polymérisation est en effet déterminant, car il influence les propriétés morphologiques du MIP. Il est déterminant sur la taille et le nombre de pores présents dans le MIP. Du fait de son aptitude à pouvoir solubiliser des molécules polaires, le chloroforme a été sélectionné.

Le divinylbenzène (DVB) a été utilisé comme monomère réticulant dans notre système polymérique. Le DVB est de loin l'agent réticulant le plus utilisé pour la synthèse de MIP. Il confère au MIP une certaine rigidité et une grande résistance à la fois physique et chimique.

I.4.1.4 Choix de l'amorceur de polymérisation

Le choix de l'amorceur de polymérisation dépend du type de polymérisation employé. Dans notre cas, nous avons choisi un amorceur radicalaire qui se décompose sous l'effet de la température, le 2,2-azo-bis-isobutyronitrile (AIBN), en prenant en compte que le solvant de polymérisation choisi est le chloroforme dont la température d'ébullition est de 61,2°C.

I.4.1.5 Choix du *ratio* template/monomère/réticulant

En se basant sur les études de coordination réalisées avec les composés **123b** et **124**, nous avons alors fixé le *ratio* gabarit / monomère (acide acrylique) / agent réticulant (DVB) à 1/1/5.

Cependant, nous avons dû également prendre en compte les constantes d'équilibre de complexation entre les molécules **123b** ou **124** avec la métalloporphyrine **119b**, qui étaient par ailleurs significativement différentes d'un dérivé hétérocyclique à l'autre.

Ainsi, lors de la synthèse des MIP en présence de dérivé imidazolique **124**, au moins 100 équivalents de gabarit *versus* la quantité de porphyrine doivent être utilisés. Ce qui conduit alors à un *ratio* manganoporphyrine / gabarit imidazolique / acide acrylique/ DVB de 10^{-2} / 1 / 1 / 5.

Dans le cas du composé pyridinique **123b**, au moins 1400 équivalents de gabarit *versus* la quantité de porphyrine étant requis pour former le complexe avec la manganoporphyrine, le *ratio* manganoporphyrine / gabarit pyridinique / acide acrylique/ DVB est alors de $7{,}14.10^{-4}$ / 1 / 1 / 5.

I.4.2 Développement des polymères à empreintes moléculaires

I.4.2.1 Synthèses des MIP manganoporphyrine **119b** avec les gabarits **123b** et **124**

Les essais de polymérisation ont été réalisés dans des tubes à essai à 65°C sous atmosphère inerte. Chaque expérience a été reproduite trois fois. Nous avons ainsi réalisé la polymérisation en présence d'acide acrylique (Schéma 47, voie b) ou en son absence (Schéma 47, voie a).

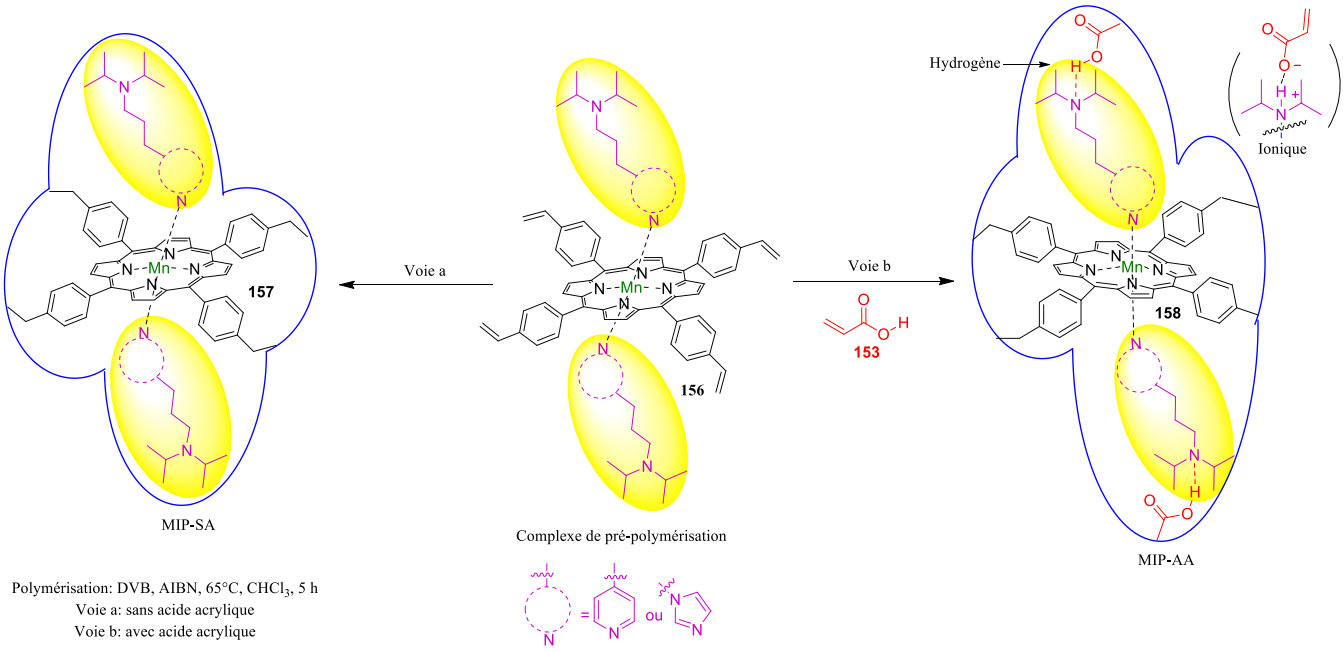


*Schéma 47 : Développement de polymères à empreintes moléculaires (MIP) basé sur un complexe métalloporphyrine polymérisable et des gabarits imidazolique **124** et pyridinique **123b***

Les polymères formés ont été obtenus sous forme de blocs verts homogènes (Figure 48). La réaction de polymérisation a été reproductible à chaque synthèse réalisée. La couleur verte correspond à la couleur de la manganoporphyrine. Ils ont été ensuite broyés à l'aide d'un mortier donnant une poudre fine, qui a été tamisée afin d'obtenir des particules inférieures à 63µm.

Figure 48 : Blocs verts homogènes obtenus lors de la polymérisation

Lors des expériences de polymérisation effectuées autour du complexe de pré-polymérisation en présence du gabarit pyridinique **123b**, nous avons remarqué que lors d'un essai sur deux le polymère se dégradait, et conduisait à la formation d'un bloc marron. Ce

phénomène est à relier à l'instabilité du dérivé **123b** dont la tendance à se dégrader avait pu être observée en chauffant le milieu à des températures supérieures à 40°C.

En parallèle, nous avons préparé un Polymère Non Imprimé (dénommé par la suite NIP). La préparation d'un tel polymère contrôle (NIP, **159**) a été nécessaire afin de quantifier la reconnaissance non-spécifique des gabarits avec les polymères imprimés MIP-SA et MIP-AA, et mettre en évidence l'effet d'empreinte. Le NIP a été préparé en suivant les mêmes conditions opératoires décrites précédemment, mais sans l'utilisation de molécules gabarit **123b** ou **124** (Schéma 48).

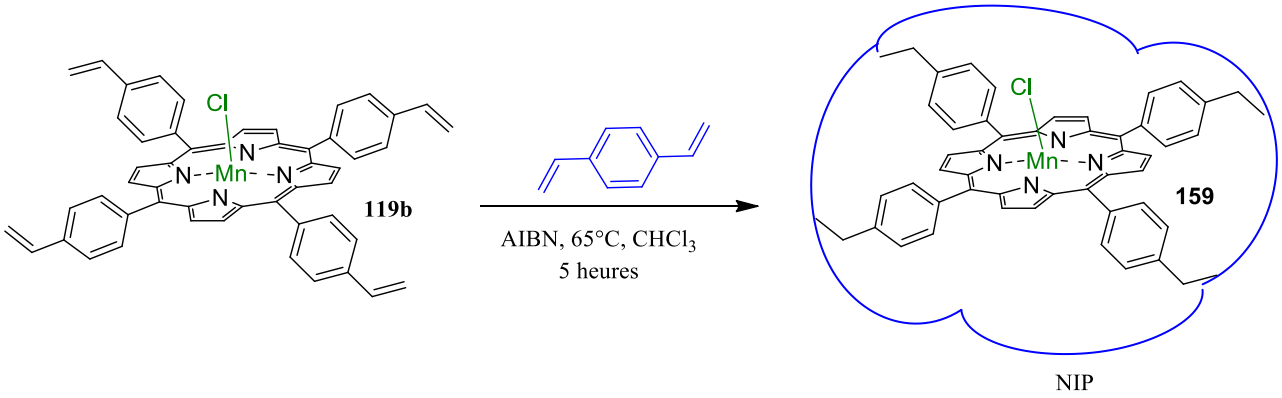


*Schéma 48 : Développement des NIP **159,** polymère de contrôle constitué de manganoporphyrine et de divinylbenzène.*

I.4.2.2 Extraction des gabarits **123b** et **124** au sein des MIP

L'étape d'extraction des gabarits **123b** et **124** a permis la création de cavités artificielles qui permettra au substrat d'intérêt d'être reconnu par la macromolécule. L'extraction a été réalisée en 3 étapes :

1) dans un premier temps, la poudre de polymères a été lavée avec un solvant organique, le chloroforme ;

2) La poudre a été ensuite lavée avec une solution d'acide chlorhydrique 6N. Cette étape a pour but de libérer le gabarit par protonation de l'azote hétérocyclique du gabarit ;

3) La solution acide récupérée est basifiée avec une solution d'hydroxyde de sodium (6N) jusqu'à pH 8.

Pour le dérivé imidazolique **124**, l'extraction de la molécule gabarit a été faite à partir de la solution basique par du dichlorométhane. Lors du processus de polymérisation sans acide acrylique, nous avons identifié le gabarit imidazolique par RMN ^{1}H et CCM avec un rendement d'extraction de 89%. Aucune trace de la molécule **124** n'a en revanche pu être détectée après une deuxième, puis une troisième opération d'extraction par le chloroforme. En revanche, lors du processus de polymérisation avec acide acrylique, il n'a pas été possible dans ces conditions

de mettre en évidence le composé **124** dans la phase organique. L'interaction entre l'acide acrylique et le gabarit dans le polymère serait de nature à empêcher l'extraction du gabarit (Schéma 49).

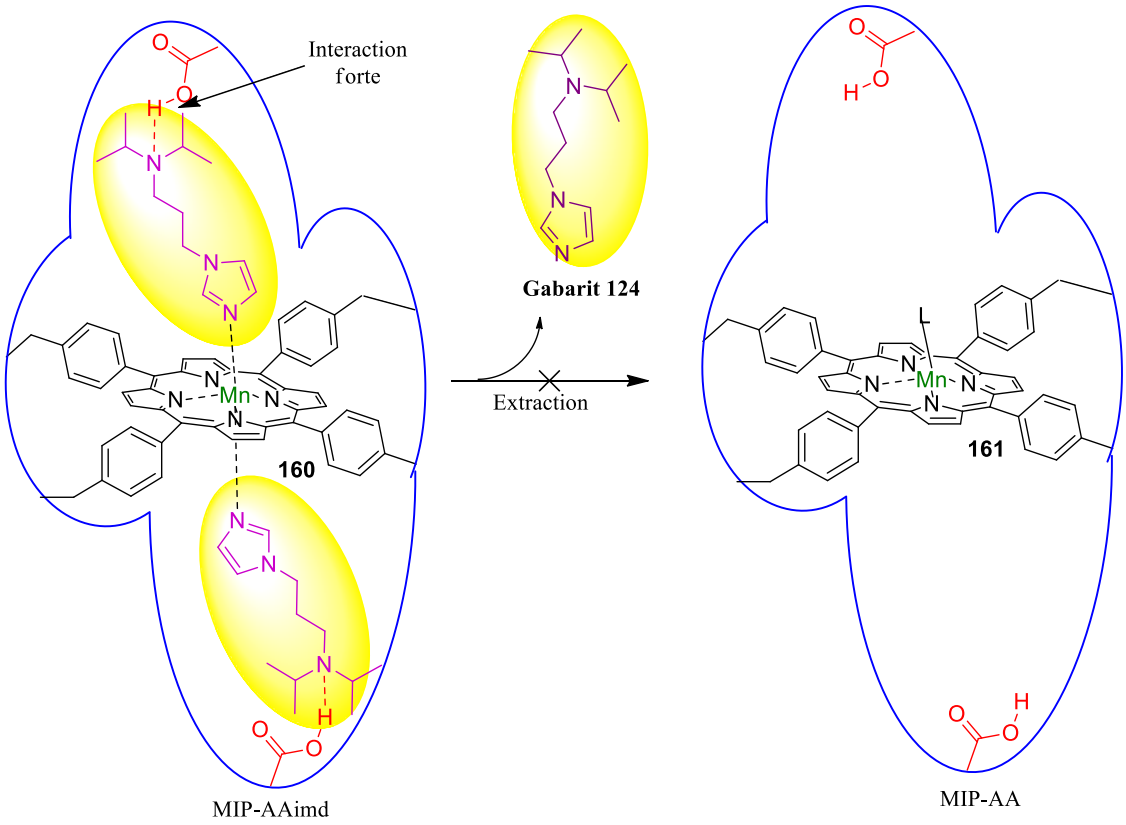


*Schéma 49: Extraction du gabarit imidazolique **124** à partir du MIP- AAimd **160** (L : ligand axial)*

Nous avons alors mis en œuvre un autre protocole pour permettre une extraction efficace du gabarit **124**. Dans un premier temps, un lavage par une solution d'hydroxyde de sodium 5M à 65°C en présence du MIP initialement mis en suspension dans le chloroforme a été effectué. Après 24 heures et extraction de la phase aqueuse par un solvant organique, nous avons réussi à mettre en évidence par RMN ^{1}H une quantité de gabarit **124** représentant 34 % de celle utilisée pour la polymérisation.

Afin d'améliorer le rendement d'extraction, nous avons modifié les conditions opératoires. L'extraction a cette fois-ci été effectuée dans un mélange NaOH 5M / MeOH (1/1, v/v) à 65°C pendant 4 jours. Après un traitement identique à celui réalisé pour les essais précédents, nous avons pu déterminer un taux d'extraction de 64% par RMN ^{1}H.

L'utilisation d'une solution NaOH 10 M/ MeOH (1/1, v/v) à 25°C durant 7 jours a permis quant à elle d'extraire seulement 52% du gabarit imidazolique. Le paramètre thermique apparaît donc prépondérant pour éliminer le plus efficacement possible le gabarit du polymère. Néanmoins, lorsque l'extraction du gabarit est réalisée à haute température durant plusieurs

jours, ces condtitions sont susceptibles de déformer les cavités créées et de modifier la morphologie des polymères obtenus.

Pour le polymère synthétisé en l'absence d'acide acrylique avec le gabarit **123b**, nous avons obtenu un rendement d'extraction de 90% selon les conditions opératoires définies pour le dérivé **124**. Le spectre RMN ^{1}H du produit ainsi isolé a aussi permis de mettre en évidence la présence d'une impureté, attribuable à des traces de divinylbenzène non polymérisé. Un deuxième, puis un troisième lavage n'ont pas permis d'extraire de nouvelles quantités de la molécule **123b**. L'extraction du dérivé **123b** après polymérisation en présence d'acide acrylique n'a pas été réalisée à ce jour.

I.5 Caractérisation des polymères à empreintes moléculaires

Différentes méthodes d'analyses ont été mises en œuvre pour caractériser les MIPs :

- la macroscopie et la microscopie confocale ont permis de déterminer la taille des pores,
- la spectroscopie d'émission optique couplée à plasma inductif (ICP-AES) a permis de doser le manganèse contenu dans le polymère,
- les analyses par HPLC ont permis d'évaluer les phénomènes de reconnaissance du substrat par le MIP.

I.5.1 Tailles des pores

L'étude de la distribution des tailles de pores au sein du polymère est une caractéristique fondamentale.

Le MIP obtenu avec le gabarit pyridinique **123b** et sans acide acrylique a ainsi été caractérisés par microscopie confocale. (Figure 49) Ces images ont été effectuées par la Plateforme d'imagerie cellulaire régionale de Normandie Université, UNIROUEN, INSERM, (PRIMACEN), 76000 Rouen, France par le Dr. Ludovic Galas et Damien Schapman.

La microscopie confocale est composée d'un microscope optique qui a la propriété de réaliser des images de très faible profondeur de champ (environ 400 nm) appelées « sections optiques ». En positionnant le plan focal de l'objectif à différents niveaux de profondeur dans l'échantillon, il est possible de réaliser des séries d'images à partir desquelles on peut obtenir une représentation tridimensionnelle de l'objet. Cette analyse a démontré que les pores étaient homogènes avec une taille moyenne d'environ 10 µm. Les polymères obtenus sont macroporeux. Les poches du polymère semblent donc facilement accessibles à une molécule substrat.

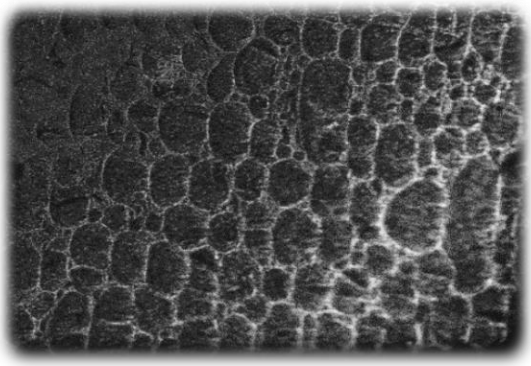


Figure 49 : Image par microscopie confocale du MIP en présence de gabarit pyridinique

Le MIP obtenu avec le gabarit imidazolique **124** et sans acide acrylique a fait l'objet d'une étude par macroscopie classique. Le polymère a été éclairé avec un illuminateur LED5000 HDI ™ qui produit une lumière très uniforme grâce à la forme du dôme. La lumière réfléchie a été collectée avec un macroscope Z6 APO motorisé (équipé d'une caméra couleur 0.8x (WD = 112 mm), 2x (WD = 39 mm) ou 5x (WD = 19.8 mm) et d'une caméra couleur DFC 320 CCD. (plein cadre: 2088 x 1550 pixels, temps d'exposition de 150 à 300 ms) (Leica Microsystems). Une vue grand format (0,8x) et un grossissement supérieur (2x et 5x) ont été acquis avec le logiciel Leica Application Suite LAS V4.12 pour illustrer la diversité des pores du polymère (Figure 50). La trajectoire à faisceau unique du macroscope fournit des images 2D et garantit une imagerie sans parallaxe. Cette analyse a permis de déterminer des tailles de pores hétérogènes allant de 330 µm à 4µm.

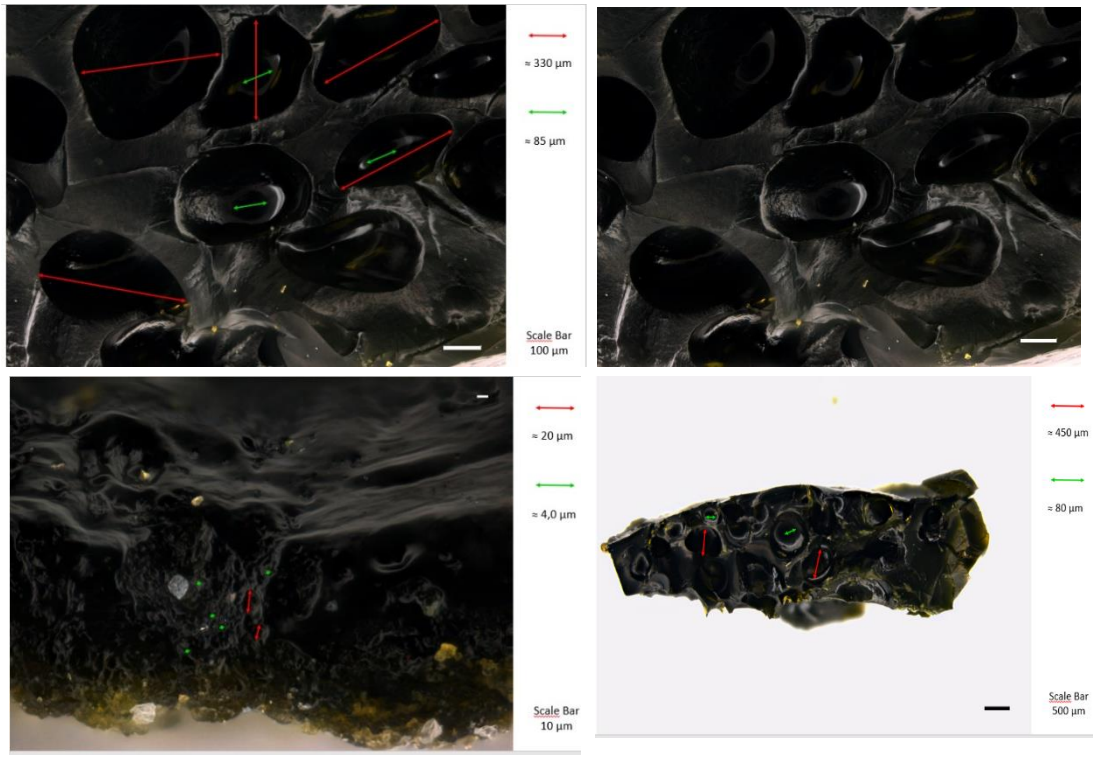


*Figure 50: Image par macroscopie du MIP en présence du gabarit **124***

Pour visualiser la fluorescence de la manganoporphyrine dans le polymère, un fragment du polymère a été éclairé avec une lumière à une longueur d'onde de 405 nm au moyen d'une diode laser à travers un macroscope à balayage laser confocal (équipé d'un objectif sec x2, distance de travail : 39 mm, diamètre : 58 mm, Leica Microsystems). L'émission de fluorescence a été détectée de 410 à 750 nm. Pour résoudre finement la structure du polymère, les images ont été acquises avec un facteur de zoom optique supplémentaire de 1,8. L'image résultante est la projection de 32 plans focaux différents le long de l'axe z (pas : 211 µm ; taille : 6,5 mm).

Ces images ont démontré que ce polymère était macroporeux, pouvant ainsi faciliter la diffusion des différents substrats dans les cavités artificielles créées.

I.5.2 Quantification par ICP-AES du manganèse dans les MIP

La quantification du manganèse dans le polymère est primordiale pour les études d'oxydation qui seront réalisées sur des dérivés soufrés. En effet, la métalloporphyrine joue le rôle de catalyseur dans notre système oxydatif. La quantité de polymère introduite lors des réactions d'oxydations doit donc être contrôlée. Ainsi, la teneur en manganèse nous a permis d'identifier la quantité de métalloporphyrine disponible dans le polymère et ainsi déterminer le taux de catalyseur utilisé lors des réactions d'oxydations.

Ces analyses ont été réalisées par la plateforme Analytique Inorganique REPSEM (UMR 778 CNRS, Strasbourg), grâce à la collaboration avec le Dr. Rachid Baati (UMR CNRS 7515, Université de Strasbourg).

Les teneurs en manganèse ont été quantifiées à l'aide d'un appareil Varian 720-ES ICP-AES. Les échantillons ont été préparés en utilisant 15 mg de MIP, traités avec de l'acide nitrique (67 à 69%, pour l'analyse du métal en traces, Fisher Chemical) à l'aide d'un digesteur à micro-ondes Multiwave ECO Anton Paar. Les analyses ont été réalisées en double.

Les résultats d'analyses obtenus sur le MIP synthétisé sans acide acrylique en présence du template imidazolique **124** sont cohérents avec les quantités de réactifs introduites initialement. Nous avions une concentration en manganoporphyrine de 2.10^{-3} M initialement. Nous avons d'après les analyses, $1.6.10^{-3}$M de manganoporphyrine dans 30 mg de polymère imprimé.

En revanche, les résultats obtenus sur le polymère à base de gabarit pyridinique **123b** ont montré que la quantité de manganèse était 4 fois inférieure à la quantité introduite lors de la polymérisation. Ces résultats peuvent être expliqués par la dégradation du composé pyridinique **123b** lors des différentes polymérisations réalisées. Le composé 123b s'est avéré instable lors de sa synthèse. Ainsi le MIP basé sur un gabarit pyridinique a été écarté pour la suite de nos travaux.

Nous avons donc décidé de continuer les études de reconnaissance et les études d'oxydation uniquement avec le MIP obtenu avec le gabarit imidazolique et sans acide acrylique.

I.5.3 Caractérisations des polymères à empreintes moléculaires : tests de reconnaissance – mise en évidence de la formation des empreintes moléculaires

Préalablement à la mise en œuvre de réactions d'oxydation en présence de MIP, une étude de reconnaissance a été réalisée afin de déterminer :

- la spécificité du MIP vis-à-vis du gabarit **124** par comparaison avec le polymère de contrôle NIP,
- la reconnaissance d'autres substrats présentant une analogie structurale à la molécule cible,
- la détermination de différents paramètres permettant de caractériser la liaison du substrat en accord avec le modèle de Freundlich.

I.5.3.1. Caractérisations des polymères à empreintes moléculaires : tests de reconnaissance, mise en évidence de la formation des empreintes moléculaires avec la molécule gabarit **124**

Ces expériences ont été réalisées par analyse HPLC analytique en injectant le surnageant provenant d'une solution contenant la molécule empreinte **124** et des particules du MIP. Une réaction de contrôle a été réalisée dans les mêmes conditions avec le polymère non imprimé (NIP).

Le facteur d'impression, noté I, est défini comme le rapport entre le nombre d'interactions spécifiques propres aux empreintes et le nombre d'interactions non spécifiques dues à la matrice polymérique, soit la sélectivité du MIP par rapport au NIP avec Qads correspondant à la quantité adsorbée:

$$I = Q_{MIP}/Q_{NIP}$$

Ce facteur d'impression renseigne sur la présence de sites spécifiques de reconnaissance dans le MIP. Lorsqu'il est supérieur à 1, la molécule étudiée présente une affinité spécifique pour les empreintes du MIP. Ce paramètre rend compte du nombre de fois qu'un analyte est reconnu par le polymère imprimé par rapport au polymère de contrôle (NIP).

La méthode par batch est la méthode que nous avons retenue pour tracer les courbes isothermes.

I.5.3.1.1. Mise en œuvre du mode opératoire

La caractéristique la plus importante pour ces polymères, est la propriété des MIP à reconnaitre les molécules invitées. Les propriétés de reconnaissance, et donc la sélectivité, peuvent être évaluées et calculées à partir de courbes d'isothermes de complexation. Ces courbes traduisent le comportement de la reconnaissance moléculaire des MIP par rapport à la variation de concentration de l'analyte. Un polymère de contrôle est aussi testé dans les mêmes conditions, afin d'évaluer les interactions non spécifiques entre la matrice polymérique et l'analyte.

Afin de réaliser les tests de reconnaissance avec le dérivé imidazolique **124**, 10 mg de MIP et NIP ont été dispersés dans 1 ml d'une solution de méthanol et d'eau (1/1, v/v) contenant différentes concentrations du dérivé imidazolique **124**, à 22 °C et pendant 24h d'incubation. Le solvant eau/méthanol a été choisi, car ce solvant sera compatible avec la mise en œuvre des réactions d'oxydations envisagées ultérieurement. Les particules ont ensuite été séparées par centrifugation (6000 tr/min) pendant 5 minutes, et les concentrations avant et après incubation ont été mesurées et quantifiées par CLHP. La différence entre ces deux valeurs de concentration a été attribuée à la quantité d'analyte retenu par les polymères. Les mesures ont été répétées trois fois. Des résultats similaires ont été obtenus par l'utilisation de différents lots de MIP démontrant une reproductibilité lors des études de reconnaissance moléculaire.

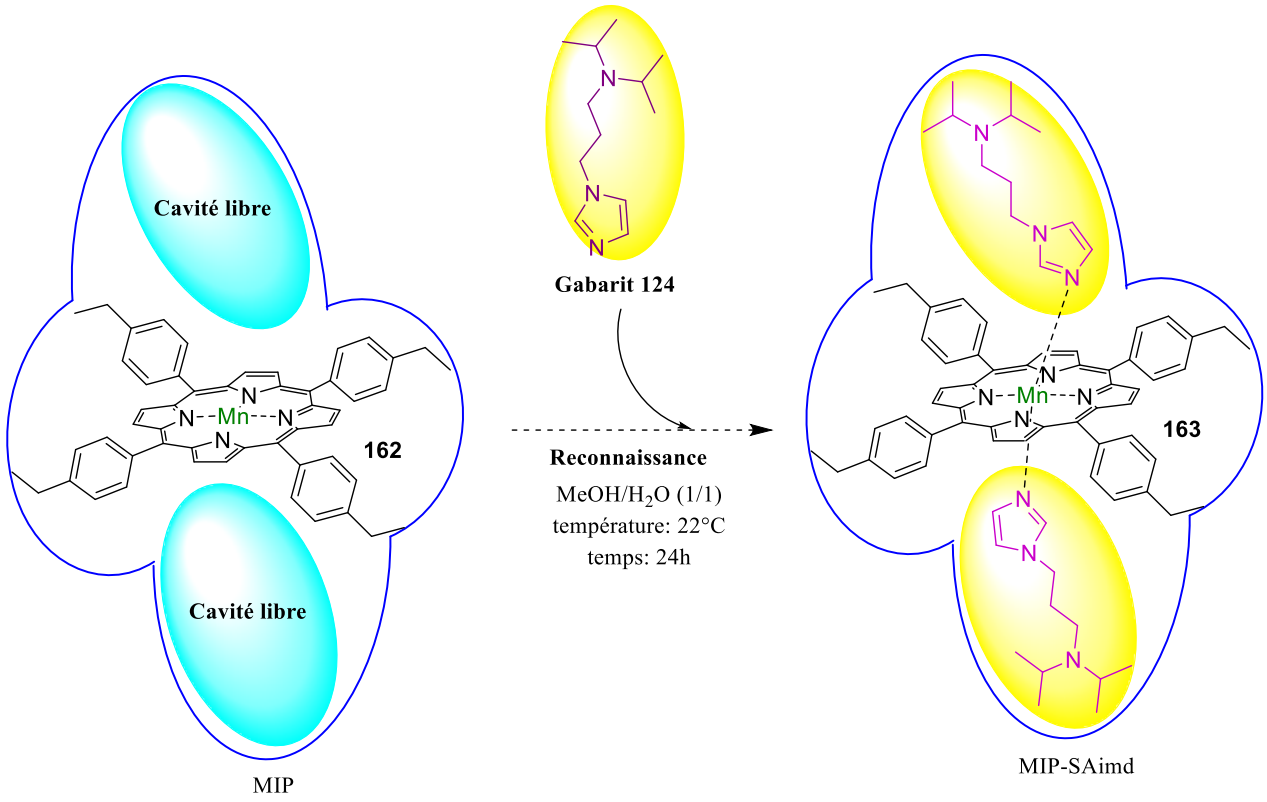


*Schéma 50 : Étude de reconnaissance du dérivé imidazolique **124** par le polymère imprimé sans acide acrylique (MIP, **162**)*

Pour rappel, le MIP utilisé pour ces études a été préparé par une approche non-covalente basée exclusivement sur des interactions faibles en utilisant le gabarit **124**. Les sites de reconnaissances à l'intérieur du polymère de la molécule **124** ne peut donc être assurée que par des interactions hydrophobes et par la complémentarité de forme substrat – cavité.

I.5.3.1.2. Évaluation de la capacité du polymère imprimé à reconnaitre le dérivé imidazolique **124** : l'effet d'empreinte

Les histogrammes ci-dessous (Figure 51) représentent la quantité de substrat adsorbée par les polymères (B, en µmol/g), en fonction de la quantité d'analyte de dérivé imidazolique **124** initialement mise à incuber (C, en mM). L'incertitude sur chaque mesure est exprimée par l'écart type de trois injections successives en CLHP du même échantillon. Nous avons étudié différentes concentrations du gabarit de 1 mM à 200mM. L'étude a été menée jusqu'à 200 mM pour rester en cohérence avec les conditions d'oxydations (qui seront exposés dans la Partie II).

Le polymère imprimé MIP (jaune) montre une bonne affinité pour le dérivé imidazolique par rapport au polymère de contrôle NIP (vert). Le facteur d'impression I a été calculé pour les différentes concentrations (Tableau 5). L'isotherme du MIP croît plus rapidement que celle du NIP, prouvant ainsi la formation d'empreintes dans le MIP.

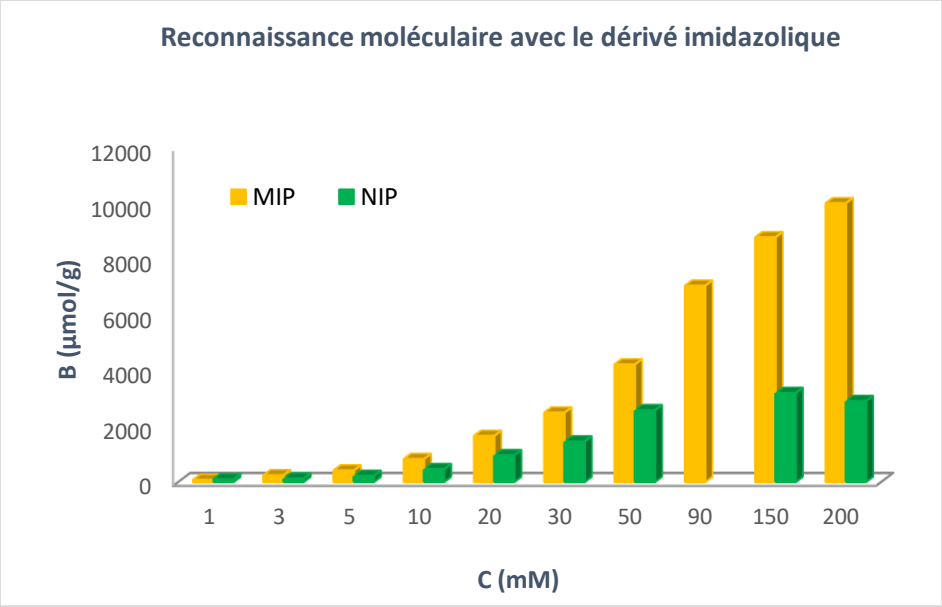


Figure 51 : Reconnaissance moléculaire spécifique (B, µmol/g) du dérivé imidazolique avec les différents polymères à différentes concentrations initiales (C), MIP : polymère imidazolique sans acide acrylique, NIP : polymère de contrôle contenant la manganoporphyrine

*Concentration du gabarit **124** (mM)*	*3*	*5*	*10*	*20*	*30*	*50*	*150*	*200*
IF MIP	*5,95*	*6,16*	*5,49*	*5,19*	*5,22*	*5,11*	*5,22*	*5,89*

*Tableau 5 : Facteur d'impression du dérivé imidazolique **124** en fonction du NIP*

Les isothermes d'adsorption peuvent être représentés sous forme de courbes (Figure 52). Nous avons observé un phénomène de saturation avec un plateau apparaissant à 200 mM. A cette concentration, la quantité de substrat reconnue par le polymère sera donc maximale.

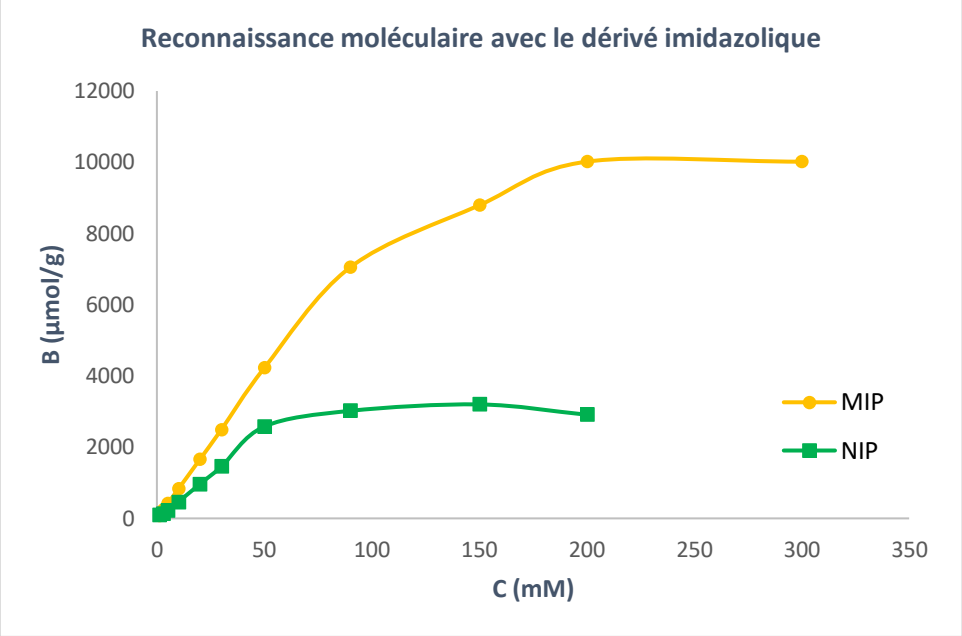


*Figure 52 : Isothermes d'adsorption du dérivé imidazolique **124** à différentes concentrations initiales (C mM), MIP : polymère imprimé sans acide acrylique (jaune), NIP : polymère de contrôle contenant la manganoporphyrine (vert)*

I.5.3.1.3. Index d'hétérogénéité et affinité de distributions

Le tracé B/F en fonction de F (modèle de Langmuir) n'a pas donné une droite dans notre cas. Ce modèle n'est pas applicable à nos polymères, ce qui rend compte de l'hétérogénéité du polymère.[112]

Selon le modèle d'adsorption d'isotherme de Freundlich applicable à des systèmes hétérogènes, le tracé Log(B) en fonction de Log(F) donne une droite (Figure 53).[113]

$$\mathbf{Log(B)= m.\ log(F) + log(a)}$$

m = index d'hétérogénéité

a = capacité du polymère imprimé

La valeur de la pente de la droite (1,1008) pour le MIP représente l'index d'hétérogénéité qui est compris entre 0 et 1 pour ce modèle. Plus cet index est proche de 1, plus le système présente de sites homogènes et *vice versa*. Dans notre cas, le MIP présente donc plus de sites homogènes.

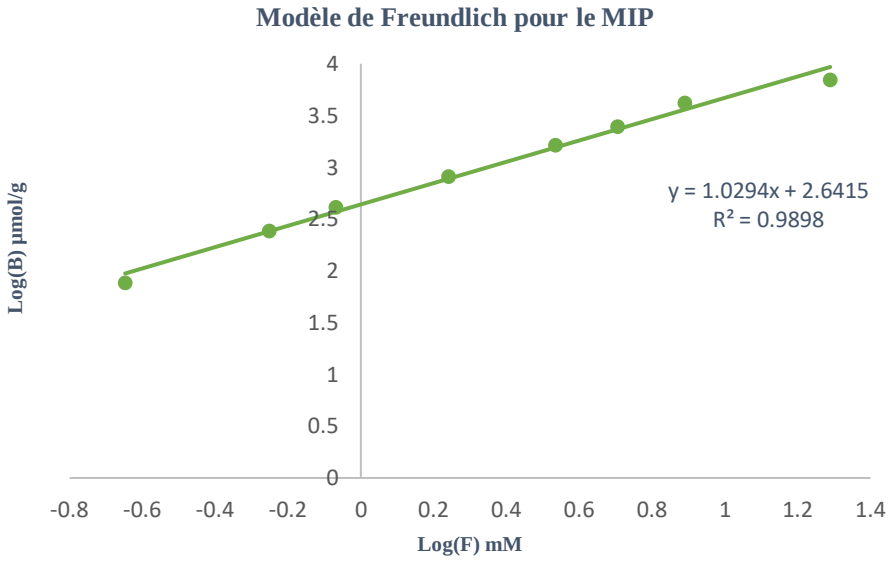


Figure 53 : Modèle de Freundlich du MIP

La distribution d'affinité a ensuite été mesurée selon ce même modèle afin d'examiner les différences entre MIP et NIP. Cette méthode évalue en effet le nombre moyen de sites de liaison $N_{Kmin\text{-}Kmax}$, qui est une mesure des capacités de liaison de ces polymères et de l'affinité moyenne pondérée ($K_{Kmin\text{-}Kmax}$).

La distribution d'affinité a été tracée en représentant le nombre de sites par unité de masse N (soit la concentration en µmol/g) par rapport à log(K) en utilisant les données obtenues à partir des isothermes de Freundlich (Figure 54). Les courbes obtenues mettent en évidence une différence significative entre le MIP et le NIP, avec une capacité d'affinité supérieure du MIP par rapport au NIP.

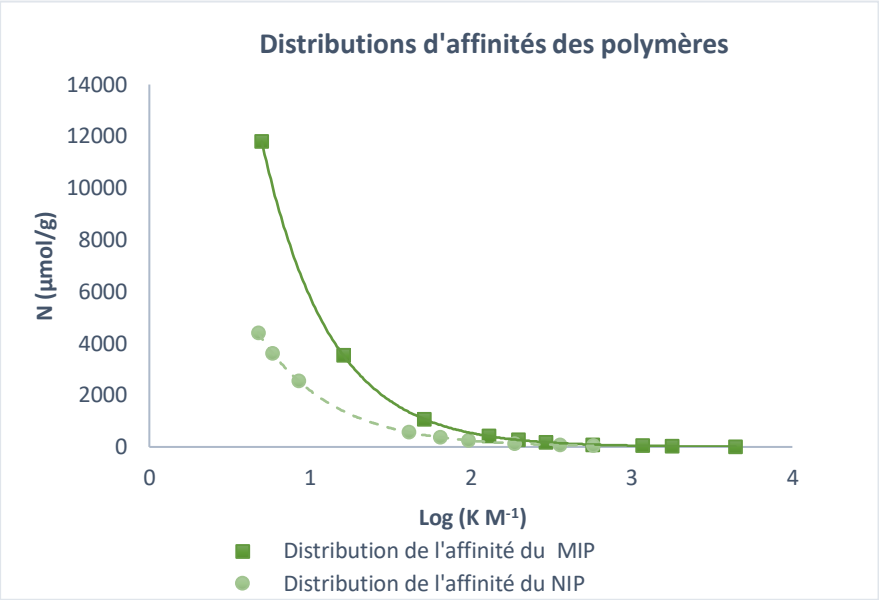


Figure 54 : Distributions de l'affinité selon l'isotherme de Freundlich en format semi logarithme pour le MIP et le NIP

La comparaison du nombre de sites de liaison N confirme que le MIP présente donc des capacités de liaison plus élevées que le NIP. Le paramètre d'hétérogénéité du NIP (m = 0,9505), obtenu à partir de la pente de l'isotherme de Freundlich est inférieure à la valeur obtenue pour le MIP. Cette comparaison indique que le MIP présente un caractère moins hétérogène que le NIP.

Les différents paramètres de liaison évalués pour les deux polymères ont été rassemblés dans le tableau suivant (Tableau 6).

Polymères	*m*	*a* *mM/g*	$N_{kmin\text{-}kmax}$ *[µmol/g]*	$K_{kmin\text{-}kmax}$ $[M^{-1}]$
MIP	1,03	438,02	4977	31,73
NIP	0,95	91,99	1805	26,85

Tableau 6 : Paramètres de liaison des MIP synthétisés : $K_{kmin\text{-}kmax}$ (constante d'affinité), $N_{kmin\text{-}kmax}$ (nombres de sites de liaison) a (paramètre de Freundlich) et m (indice d'hétérogénéité).

Il était par ailleurs attendu que le MIP puisse aussi reconnaitre d'autres dérivés ayant une structure similaire à celle du gabarit **124**. Par conséquent, les études de liaison ont été étendues à d'autres composés.

I.5.3.2. Synthèses et tests de reconnaissance élargis à d'autres composés que la molécule gabarit

Des tests de reconnaissances ont été réalisés sur les composés **164** et **165** (Figure 55). Ces composés ont été choisis, car ils présentent une structure proche de l'agent neurotoxique visé dans l'étude, à savoir le VX. Ces amino-thioéthers nous ont permis dans un premier temps d'identifier les interactions spécifiques de ces composés avec le polymère à empreintes moléculaires. De plus, des tests d'oxydations ont aussi été effectués sur ces composés afin d'optimiser les conditions d'oxydations en milieu hétérogène.

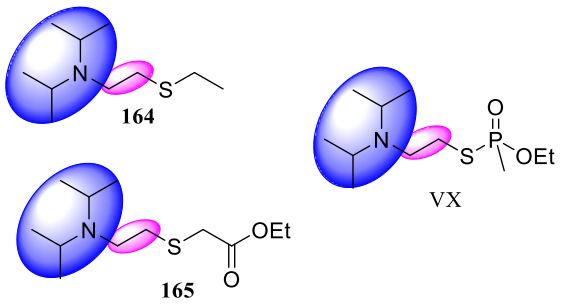


*Figure 55 : Structures des composés amino-thioéthers **164** et **165***

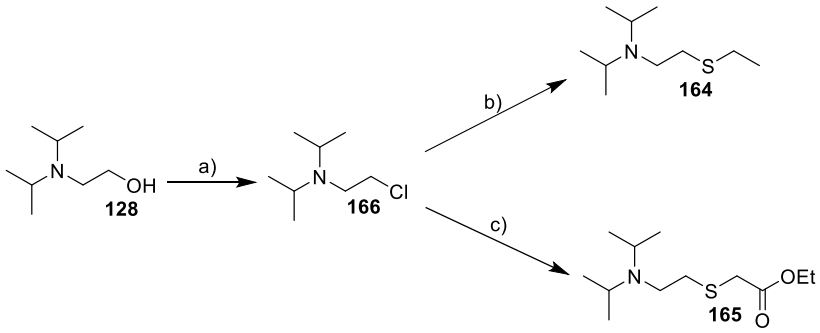
La reconnaissance moléculaire de ces composés au sein du polymère imprimé a été évaluée sur la base d'une analyse GC-FID. Auparavant, nous avons dû synthétiser les composés **164** et **165**.

I.5.3.2.1 Synthèse des dérivés **164** et **165**

Les composés **164** et **165** ont été préparés au laboratoire selon deux procédures différentes (Schéma 51).

À partir de l'amino-alcool **128**, l'intermédiaire chloré **166** a été obtenu par action du chlorure de thionyle (voie a, Schéma 51). Le composé **166** non isolé est mis immédiatement en réaction, et subit une substitution nucléophile de l'éthanothiolate de sodium pour conduire à l'aminothioéther **164** souhaité avec un rendement de 82% (voie b, Schéma 51).

La réaction de l'éthyl glycolate sur le composé **166** en présence d'une base faible a donné le composé **165** avec un rendement de 71% (voie c, Schéma 51).



*a) **128**, $SOCl_2$; b) éthanethiol, sodium, **166**, MeOH, 48 heures, t.a, 82%; c) Ethyl thioglycolate, K_2CO_3, **166**, acétone, 48 heures, t.a, 71%*

*Schéma 51 : Synthèses des amino-thioéthers **164** et **165***

I.5.3.2.2 Évaluation de la capacité du polymère imprimé à reconnaitre les amino-thioéthers **164** et **165**

Les tests de reconnaissance sur les composés **164** et **165** ont été réalisés avec le MIP dans les conditions opératoires décrites précédemment dans la partie « Mise en œuvre du mode opératoire, I.5.3.1.1 ». Le substrat **164** a été effectivement reconnu par le MIP (Figure 56), montrant une meilleure affinité qu'avec le NIP.

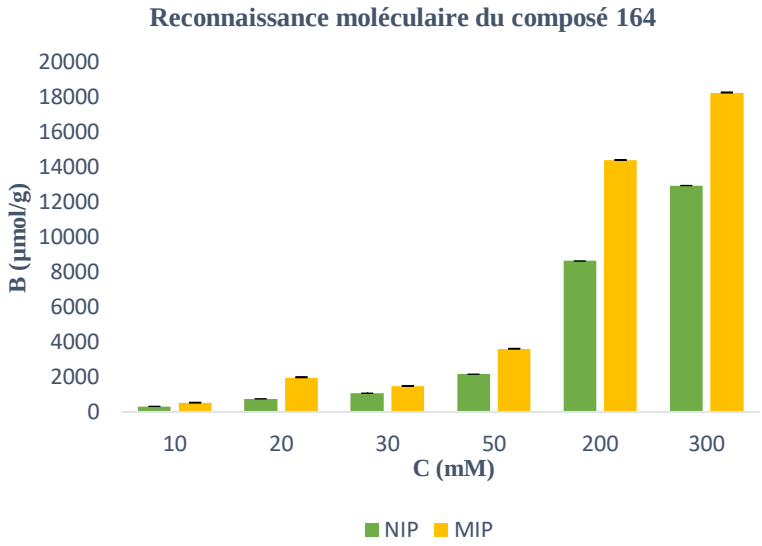


*Figure 56 : Reconnaissance moléculaire spécifique (B) de l'amino-thioéther **164** avec les différents polymères MIP (jaune) et NIP (vert) à différentes concentrations initiales (C)*

Nous avons pu observer que le dérivé **165** présentait également une bonne affinité avec le MIP, toujours comparativement au NIP.

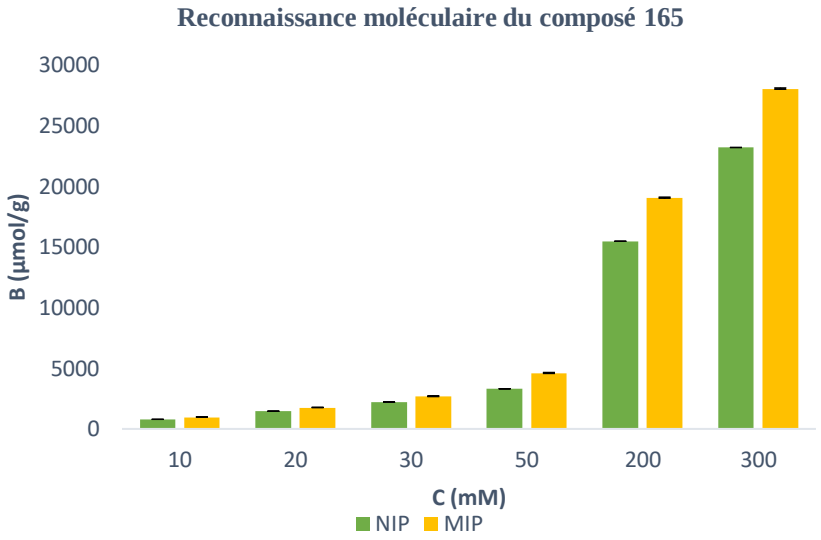


*Figure 57: Reconnaissance moléculaire spécifique (B) de l'amino-thioéther **165** avec les différents polymères MIP et NIP à différentes concentrations initiales (C)*

De façon similaire à la détermination du facteur d'impression avec la molécule gabarit **124**, ce paramètre a été calculé avec les dérivés **164** et **165**. Comme attendu, les valeurs sont cependant plus faibles que le facteur d'impression obtenu avec le dérivé imidazolique **124** (Tableau 7).

*Concentration des amino-thioéthers **164** et **165** (mM)*	*10*	*20*	*30*	*50*	*200*	*300*
*« IF » MIP **164***	*2,27*	*/*	*1,74*	*3,39*	*3,37*	*2,04*
*« IF » MIP **165***	*6,02*	*2,59*	*2,79*	*5,43*	*5,69*	*4,11*

*Tableau 7 : Facteur d'impression » des amino-thioéthers **164** et **165** en fonction du NIP*

I.5.3.2.3 Facteur de sélectivité

Un facteur de sélectivité a pu être déterminé afin de comparer l'affinité des dérivés **164** et **165** vis-à-vis du MIP, à partir du rapport entre les facteurs « d'impression » de chaque composé et celui de la molécule gabarit **124** (Tableau 8) obtenus pour une concentration en dérivés de 200 mM.

Cette évaluation a prouvé que le composé **165** présentait une meilleure affinité avec le MIP que le dérivé **164**, avec un facteur de sélectivité de 0,96 contre 0,57. L'interaction possible du groupement ester dans le composé **165** avec le métal de la porphyrine, ce qui n'est pas possible avec le dérivé **164**, renforçait certainement l'affinité avec le MIP.

$S_{(\text{amino-thioéther } \mathbf{164})}$	$S_{(\text{amino-thioéther } \mathbf{165})}$
0,57	0,96

*Tableau 8 : Sélectivité des aminothioethers **164** et **165** en fonction du dérivé imidazolique **124** au sein du MIP*

I.6 Conclusion

Ce projet nous a conduit à développer une approche stratégique basée sur la conception de MIP intégrant un cœur porphyrinique. Dans un premier temps, nous avons synthétisé une manganoporphyrine polymérisable **119b** selon la méthode d'Adler et Longo.

Pour créer l'empreinte moléculaire lors du processus de polymérisation, nous avons ensuite préparé des molécules « gabarit » présentant un encombrement stérique proche de celui de la structure du VX, identifiée comme cible potentielle pour l'utilisation du MIP en tant que catalyseur d'oxydation. Ces molécules gabarit possèdent un groupement diisopropylamine identique à celui présent dans la structure du VX. Le noyau pyridine ou imidazole des deux gabarits **123b** et **124** ont joué le rôle de ligand axial vis-à-vis de la métalloporphyrine pour former un complexe de pré-polymérisation. Les études de coordination mises en œuvre entre la manganoporphyrine polymérisable **119b** et les gabarits pyridinique **123b** et imidazolique **124** ont démontré que le ligand **124** avait une meilleure affinité avec la manganoporphyrine.

La polymérisation a alors été effectuée selon la méthode de polymérisation en masse autour des gabarits synthétisés. Les résultats d'extraction des gabarits dans le polymère se sont avérés prometteurs, avec des rendements d'extraction avoisinant 90% pour les polymères préparés sans acide acrylique. À ce stade, nous devons optimiser les conditions d'extraction des deux gabarits dans le cas des MIPs formulés en présence d'acide acrylique.

L'analyse ICP-AES ayant montré que les taux de manganèse étaient les plus élevés dans le cas du MIP obtenu avec la molécule gabarit **124**, seul ce polymère a été retenu pour la suite des développements.

Des études de reconnaissance ont été effectuées avec le composé **124**, mais également avec deux dérivés dont la structure comportait également un groupement diisopropylamine. Ces évaluations ont démontré que ces composés avaient une bonne affinité vis-à-vis du MIP.

Sur la base de ces résultats, nous avons alors décidé de mettre en œuvre l'utilisation de ce MIP en tant que catalyseur de réactions d'oxydation en phase hétérogène de dérivés soufrés. L'avantage d'immobiliser le catalyseur porphyrinique dans le polymère est de pouvoir éliminer facilement le catalyseur du milieu en fin de réaction, et potentiellement de le réutiliser en fonction de sa stabilité dans les différents processus réactionnels. L'oxydant retenu pour ces essais est le peroxyde d'hydrogène. Outre son faible prix et sa disponibilité commerciale, le

seul produit secondaire formé à partir de cet oxydant est l'eau. De surcroît, sa structure est de nature à permettre une meilleure diffusion entre le solvant et l'intérieur de la cavité pour lui permettre de réagir aisément avec le substrat « piégé » dans la cavité du MIP.

Partie 2 :

Oxydation de dérivés soufrés en milieu homogène et hétérogène

II. Réactions d'oxydations de composés soufrés catalysées par le MIP

L'objectif de cette partie est ainsi de mettre au point des conditions expérimentales permettant dans des conditions relativement douces l'oxydation catalysée par le MIP de dérivés soufrés.

La conversion de composés soufrés en leurs dérivés oxydés correspondants est une stratégie attrayante dans les procédés industriels pour limiter par exemple la teneur en soufre des carburants.[114] Les sulfoxydes et les sulfones sont par ailleurs utilisés comme intermédiaires pour la préparation de produits pharmaceutiques tels que l'oméprazole, un inhibiteur de la pompe à protons, et également en chimie organique fine.

Cette méthodologie pourrait également être utile à l'avenir pour la décontamination de certains agents chimiques de guerre, incluant notamment des vésicants tel que l'ypérite (HD) et des agents neurotoxiques organophosphorés tel que le VX. Etant donné l'engagement de notre équipe dans la lutte contre les armes chimiques, nous avons plus particulièrement orienté nos essais dans cette direction.

Les moyens possibles pour décontaminer ces armes chimiques sont en effet d'oxyder sélectivement le groupe sulfure. Pour rendre le processus efficace, il convient de contrôler différents paramètres. Ainsi, le HD doit être métabolisé en sulfoxyde, en évitant toute suroxydation en sulfone qui conduirait à un autre produit toxique.[104] Dans le cas de VX, le clivage contrôlé de la liaison PS conduit à un produit dénué de toxicité, alors que le clivage de la liaison PO qui potentiellement entre en compétition donnerait un sous-produit toxique. À cette fin, l'oxydation intramoléculaire du soufre est essentielle pour conduire aux produits non toxiques de VX.[115 116]

II.1 Oxydation du 4-méthylthioanisole

Nous avons d'abord utilisé le 4-méthylthioanisole en tant que modèle du substrat HD. L'oxydation de phénylméthylsulfures substitués est particulièrement bien documentée et le thioanisole lui-même a souvent été choisi comme simulant de HD dans diverses études en raison de sa réactivité similaire, ainsi que de son caractère hydrophobe.[117] Nous avons plus particulièrement sélectionné le dérivé 4-méthylé pour vérifier que la position benzylique n'était pas réactive en présence du MIP.

La réaction a initialement été conduite en phase homogène en utilisant les dérivés de porphyrine **119a-c** comme catalyseur, afin de mettre en évidence par la suite la valeur ajoutée du MIP.

II.1.1 Réaction en phase homogène

Préalablement à la mise en œuvre de réactions d'oxydation, différents paramètres doivent cependant être évalués pour déterminer les conditions optimales pour l'oxydation de sulfures. La quantité du catalyseur, la concentration du substrat, la température et le solvant sont autant de facteurs à prendre en compte.

II.1.1.1 Résultats antérieurs :

Les milieux protiques sont les plus utilisés et souvent des mélanges solvant organique / eau sont choisis pour réaliser ce type d'oxydation .[118,119]

Zhou *et al.* ont ainsi synthétisé une *méso*-tétraphénylporphyrine de manganèse (porphyrine de première génération) capable d'oxyder des fonctions sulfures en sulfoxyde ou sulfone en présence de peroxyde d'hydrogène. Ces expériences ont été réalisées dans l'éthanol à température ambiante (Schéma 52).

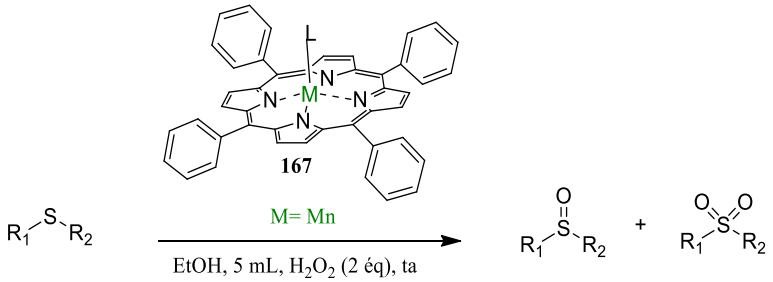


Schéma 52 : Oxydation de dérivés du thioanisole en sulfone en présence d'une métalloporphyrine et de peroxyde d'hydrogène

Cette méthode efficace a conduit à des très bons rendements variants entre 83 et 99% avec comme produit majoritaire, la sulfone à plus de 99% par rapport au composé sulfoxyde. Une sélectivité quasi-totale vers le dérivé sulfone est observée à des temps variant de 1 à 3 heures de réaction à 22°C dans l'éthanol (Tableau 9).

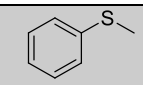
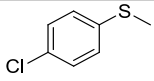
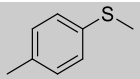
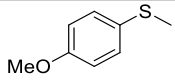
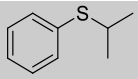
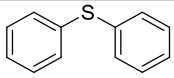
Essai	*Substrat*	*Temps (h)*	*Conversion %*	*Sélectivité % Sulfoxyde*	*Sélectivité % Sulfone*
1		1,0	> 99	< 1	>99
2		3,0	94	7	93
3		1,5	98	9	91
4		1,5	98	7	93
5		2,0	89	<1	>99
6		3,0	83	<1	>99

Tableau 9 : Oxydation des sulfures catalysée par une manganoporphyrine

L'équipe de Zhou a par ailleurs publié des travaux en 2013, sur la cinétique et le mécanisme d'oxydation de sulfures en sulfoxydes en milieu aqueux. Le catalyseur utilisé est cette fois une manganoporphyrine hydrosoluble. La quantité de catalyseur a été fixée à 10^{-3} mmol, le peroxyde d'hydrogène utilisé comme source d'oxygène a été mis en excès (2 équivalents) et la température du milieu réactionnel a été portée à 60°C. Dans ces conditions, différents solvants ont été testés.[118]

Dans les solvants apolaires, et plus particulièrement dans le cyclohexane où le catalyseur présente une faible solubilité, la réaction d'oxydation est défavorisée, avec seulement 12% de conversion du thioanisole au bout de 60 minutes (Tableau 10). En augmentant la polarité du solvant, le taux de conversion augmente en faveur du dérivé sulfone du probablement à un effet de solvatation accru du sulfoxyde dans ces conditions.

Cependant, l'addition d'une faible quantité d'acétonitrile dans l'eau a remarquablement amélioré la sélectivité de la réaction vers la formation de sulfoxyde. En augmentant la proportion d'acétonitrile dans le solvant aqueux avec une proportion de 1/1 (H_2O/CH_3CN, v/v), quasiment seul le sulfoxyde dérivant du thioanisole pouvait être obtenu (Expérience 8, Tableau 10).

Ces résultats montrent l'importance de la nature du solvant à la fois dans l'efficacité de la réaction, et dans la maitrise du degré d'oxydation des produits.

Expérience	*Solvant*	*Conversion %*	*Sélectivité % Sulfoxyde*	*Sélectivité % Sulfone*
1	Cyclohexane	12	90	10
2	EtOAc	28	92	8
3	EtOH	33	46	54
4	MeOH	35	38	62
5	CH_3CN	39	35	65
6	H_2O	95	2	98
7	[b]H_2O/CH_3CN	78	99	1
8	[c]H_2O/CH_3CN	98	99	1

[a]Thioanisole (1mmol), H_2O_2 (30 wt%, 2 mmol), MnTE4PyP (1.10^{-3} mmol), solvant (10 mL), 60 minutes, 60°C. [b] H_2O/CH_3CN= 4/1, *v/v*. [c] H_2O/CH_3CN= 1/1, *v/v*.

Tableau 10 : Oxydation du thioanisole avec le peroxyde d'hydrogène dans différents solvants [a]

II.1.1.2 Résultats expérimentaux : réactions d'oxydations dans différents solvants

Dans le cadre de ce travail, les premières études ont été réalisées avec la manganoporphyrine polymérisable **119b**.

II.1.1.2.1Réaction catalysée par la manganoporphyrine **119b**

Ces études ont été réalisées à une concentration fixe de 0.2 M en substrat soufré **168**. 2 équivalents de peroxyde d'hydrogène ont été ajoutés au milieu réactionnel. Les premiers essais ont été effectués à une température de 22°C dans l'éthanol. La manganoporphyrine **119b** a été utilisée en quantité catalytique, à la concentration de 4.10^{-5}mol.L^{-1} déterminée sur la base des travaux publiés dans ce domaine.[79]

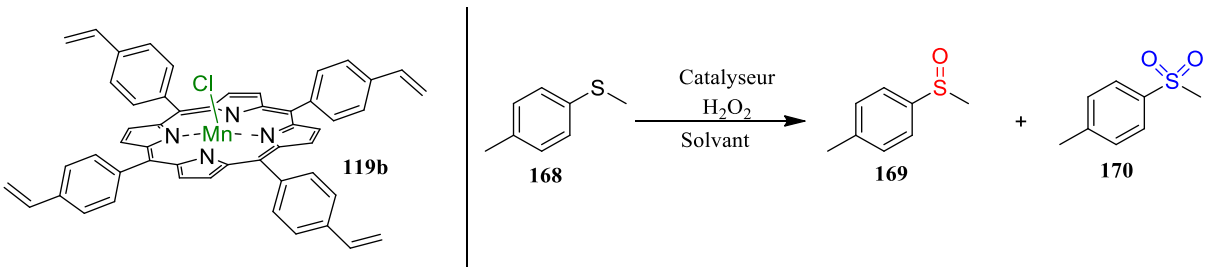


*Schéma 53 : Oxydation du dérivé thioanisole en présence du catalyseur **119b***

La réaction a été suivie par RMN ^{1}H, sur la base des signaux correspondant aux groupes méthyles du substrat **168** et ceux des produits d'oxydation potentiels **169** et **170**. Nous avons ainsi pu facilement identifier l'apparition du seul composé sulfoxyde **169** (Figure 58). La sulfone n'a été détectée. La conversion en sulfoxyde n'a atteint que 4% au bout de 30 minutes.

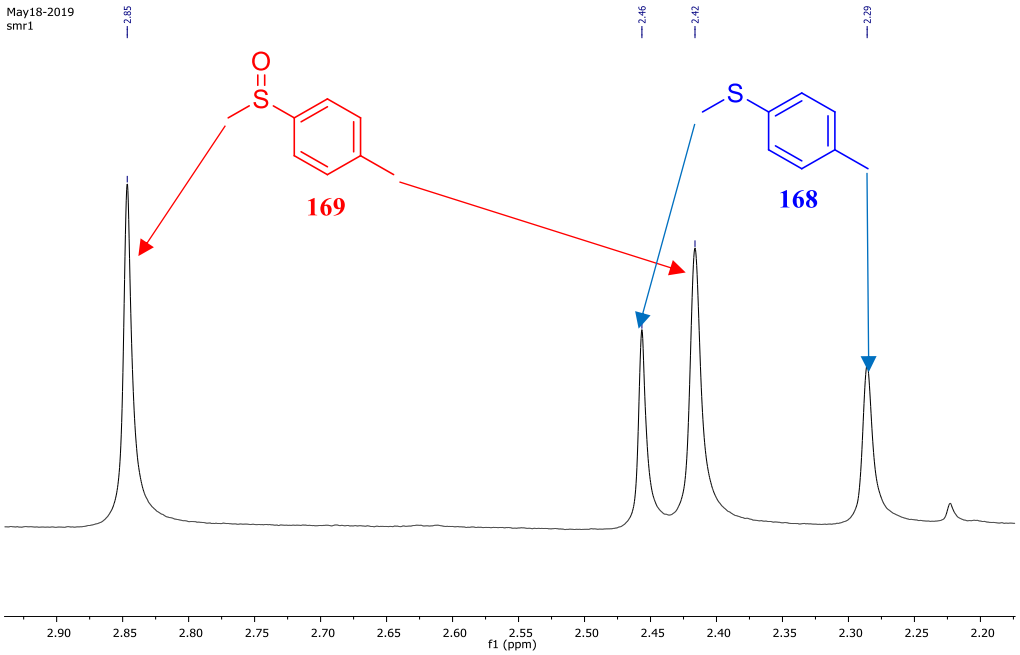


*Figure 58 : Spectre RMN ^{1}H, oxydation du méthyl p-tolyl sulfure **168** en sulfoxyde **169***

Avec la manganoporphyrine **119a** (Schéma 54), l'équipe de Zhou avait obtenu 91% de sulfone au bout de 1 heure et 30 minutes.

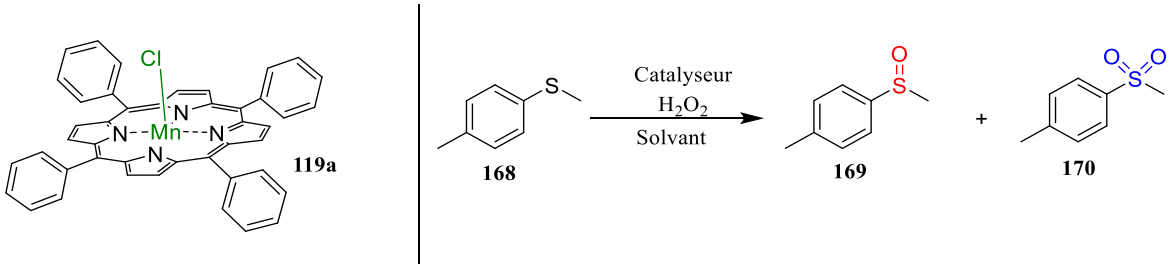


*Schéma 54 : Oxydation du méthyl-p-tolyl sulfure **168** en présence d'une tétraphénylporphyrine de manganèse **119a***

En utilisant la porphyrine **119a** ou **119b** et dans des conditions réactionnelles strictement identiques, et malgré l'allongement du temps de réaction à 24h, nous n'avons jamais observé l'apparition de la sulfone **170**.

Nous avons alors décidé de modifier le solvant en effectuant différents essais avec le catalyseur **119b** avec divers solvants polaires protiques et aprotiques, parfois en mélange (Tableau 10).

Nous avons alors constaté que le taux de conversion restait faible dans l'eau (Tableau 11, Essai 2), ce phénomène pouvant être mis en relation avec la faible hydrosolubilité du catalyseur. La réaction d'oxydation est cependant également défavorisée dans le méthanol (Tableau 11, Essai 2).

Essai	*Solvant*	*Conversion %*	*Sélectivité % Sulfoxyde*	*Sélectivité % Sulfone*
1	MeOH	12	12	0
2	H_2O	15	15	0
3	[b]H_2O/CH_3CN	26	26	0
4	[c]H_2O/MeOH	25	25	0

[a]méthyl-p-tolyl sulfide (1mmol), H_2O_2 (35 wt%, 2 mmol), porphyrine **119a** ou **119b** (1.10^{-3} mmol, 1%), solvant (5 mL), 60 minutes, 22°C.[b] H_2O/CH_3CN = 1/1, *v/v*. [c]H_2O/MeOH= 1/1, *v/v*.

*Tableau 11 : Oxydation du méthyl-p-tolyl sulfure **168** avec le peroxyde d'hydrogène dans différents solvants[a]*

Le recours à des mélanges binaires de solvants acétonitrile / eau (1/1, v/v) et méthanol / eau (1/1, v/v) a permis d'améliorer les taux de conversion en sulfoxyde à 25% (Tableau 11, Essais 3 et 4).

Des études cinétiques ont alors été réalisées en effectuant toujours un suivi de la réaction par RMN ^{1}H. Dans l'eau à 22°C, la réaction d'oxydation évolue très lentement dans le temps. La réaction d'oxydation atteint un plateau à 14% de conversion en sulfoxyde **169** après environ 20 minutes (Figure 59). La réaction de contrôle menée dans les mêmes conditions, mais en l'absence de catalyseur porphyrinique, a montré que la réaction atteignait seulement 5% au bout d'1 heure.

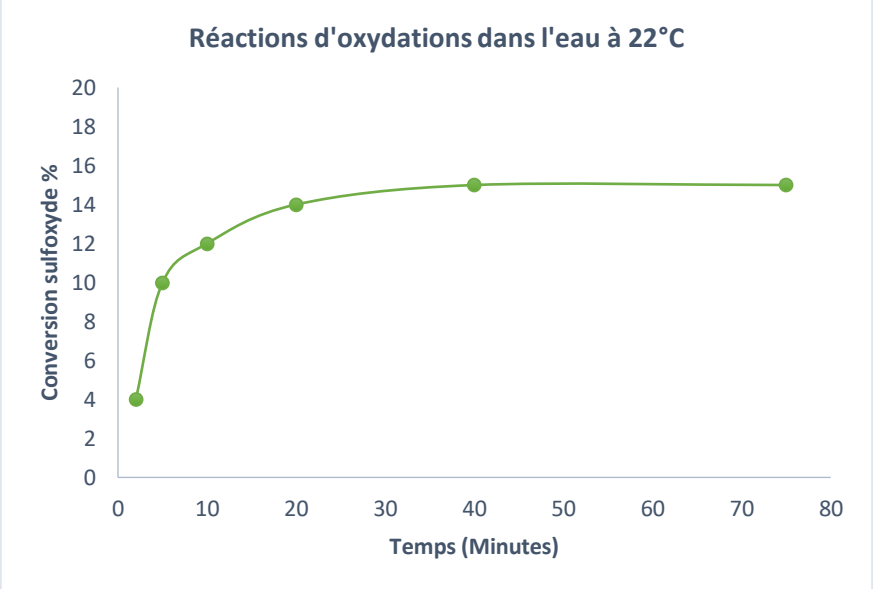


*Figure 59 : Courbe de cinétique de la réaction d'oxydation avec le manganoporphyrine **119b** et le méthyl-p-tolyl sulfure **168** en présence de peroxyde d'hydrogène dans l'eau à 22°C*

Dans un mélange eau/acétonitrile (1/1, v/v) à 22°C, la conversion en sulfoxyde **169** a atteint un taux de 20% au bout d'1 heure. Le taux de conversion augmente significativement durant les 15 premières minutes de la réaction, pour atteindre une quasi stabilisation à environ 40 minutes (Figure 60).

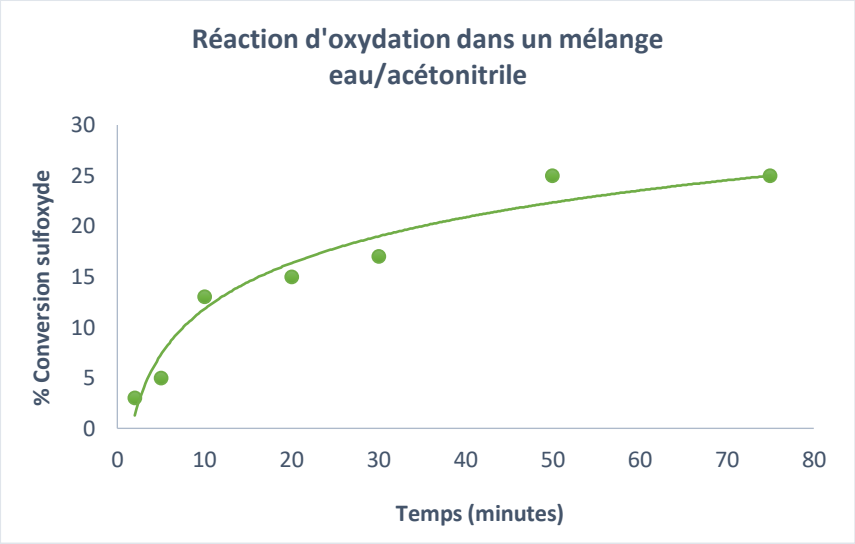


*Figure 60 : Courbe de cinétique de la réaction d'oxydation avec le manganoporphyrine **119b** et le méthyl-p-tolyl sulfure en présence de peroxyde d'hydrogène dans un mélange eau/acétonitrile à 22°C*

Dans un mélange eau/méthanol (1/1, v/v) à 22°C, le taux de conversion évolue linéairement avec le temps, et nous n'avons pas observé de phénomène de stabilisation de la réaction dans ce cas. Il atteint 35% au bout d'1 heure 30 minutes, le suivi de la réaction n'a pas été poursuivi au-delà de ce temps (Figure 61).

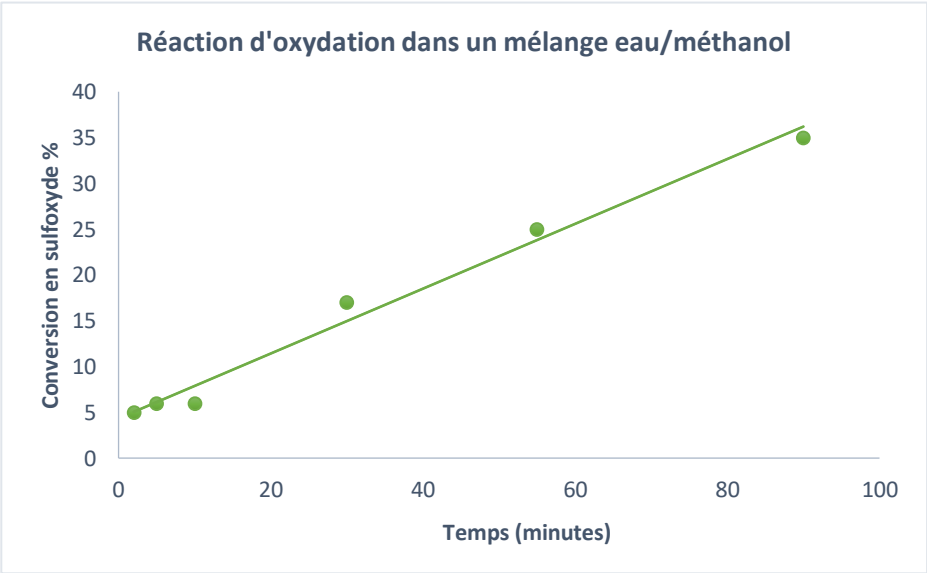


*Figure 61 : Courbe de cinétique de la réaction d'oxydation avec le manganoporphyrine **119b** et le méthyl-p-tolyl sulfure en présence de peroxyde d'hydrogène dans un mélange eau/méthanol à 22°C*

La réaction d'oxydation effectuée sur le composé **168** catalysée par la manganoporphyrine **119b** s'est cependant avérée lente dans les différents solvants testés à 22°C. Le catalyseur **119b** portant des groupements styrène potentiellement sensibles à l'action d'un oxydant et donc étant susceptibles de se dégrader dans les conditions de réaction, nous avons réalisé des études complémentaires avec les porphyrines **119a** et **119c**.

II.1.1.2.2 Comparaison avec les catalyseurs **119a** et **119c** avec la métalloporphyrine polymérisable **119b**

Dans le cas du catalyseur **119a**, qui a une structure proche de la métalloporphyrine **119b** mais sans les substituants vinyliques au niveau des groupements aromatiques, nous avons observé des résultats quasi-identiques aux réactions d'oxydations réalisées avec le catalyseur **119b**. En effet, dans un mélange acétonitrile/eau (1/1, v/v), la conversion en sulfoxyde **169** a atteint seulement 26% au bout d'1 heure de réaction. La réaction dans l'eau a été fortement défavorisée, atteignant seulement 5% de conversion en composé sulfoxyde **169**. Dans un mélange méthanol/eau (1/1, v/v), le taux de conversion en sulfoxyde a été de 20 % au bout de 1 heure à 22°C.

Les catalyseurs **119a** et **119b**, assimilables à des porphyrines dites de première génération, présentent des positions méso carbones sensibles à l'oxydation dû à la non protection de ces positions. Cela induit donc à une dégradation du macrocycle soit due à une démétallation ou à une coupure du macrocycle porphyrine.

Nous nous sommes alors tournés vers la porphyrine **119c** (MnTDCPPCl), une métalloporphyrine de deuxième génération connue pour sa plus grande stabilité en milieu oxydant.

Les réactions d'oxydations ont été effectuées dans les mêmes conditions réactionnelles que les précédentes, dans les mêmes solvants que ceux employés auparavant.

Dans l'eau, le taux de conversion en sulfoxyde a été largement amélioré (Figure 62). L'allure de la courbe est quasiment linéaire jusqu'à 40 minutes, et un plateau commence à apparaître à partir de 70 minutes. La conversion en sulfoxyde a ainsi atteint un taux de 40 % au bout de 40 minutes contre seulement 15% en présence du catalyseur **119b**.

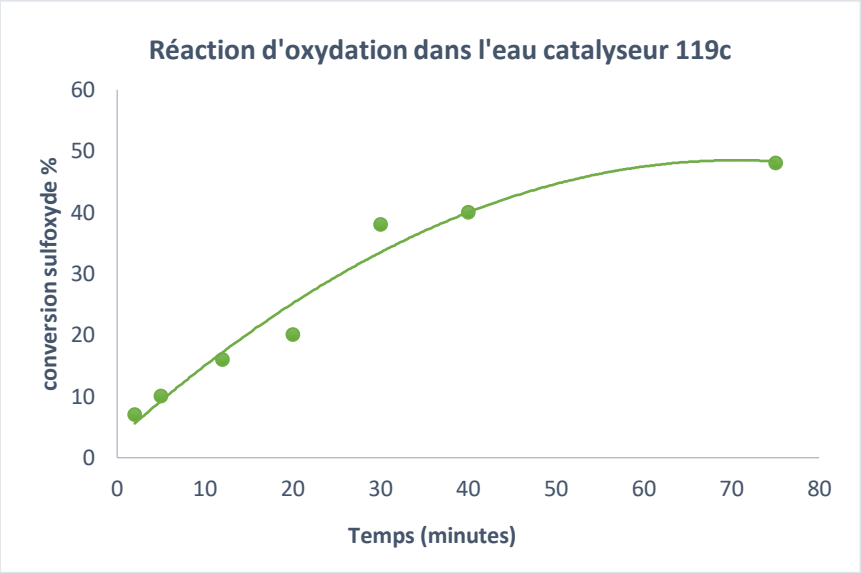


*Figure 62 : Courbe de cinétique de la réaction d'oxydation avec le manganoporphyrine **119c** et le méthyl-p-tolyl sulfure en présence de peroxyde d'hydrogène dans l'eau à 22°C*

Dans un mélange eau/acétonitrile, l'efficacité du catalyseur se manifeste essentiellement sur les 40 premières minutes pour atteindre environ 30% de conversion en sulfoxyde **169**. Un plateau est ensuite observé sur la courbe (Figure 63).

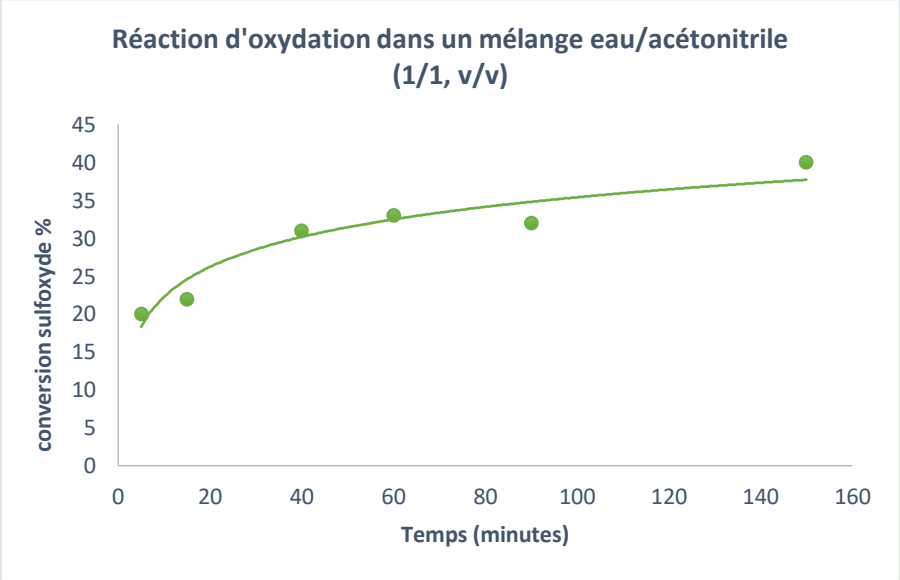


*Figure 63 : Courbe de cinétique de la réaction d'oxydation avec le manganoporphyrine **119c** et le méthyl-p-tolyl sulfure en présence de peroxyde d'hydrogène dans un mélange eau/acétonitrle (1/1, v/v) à 22°C*

Dans un mélange eau/méthanol (1/1, v/v) à 22°C, la conversion en sulfoxyde est passée à 36% avec le catalyseur **119c** au bout de 30 minutes (Figure 64). En comparaison, l'expérience réalisée en présence du catalyseur **119b** dans un mélange eau/méthanol (1/1, v/v) à 22°C, la conversion en sulfoxyde était seulement de 17% au bout de 30 minutes.

Ces études ont donc montré l'importance de la stabilité de la structure de la porphyrine en milieu oxydant. En effet, les substituants chlores présents au niveau des groupes aromatiques

de la métalloporphyrine **119c** ont permis d'augmenter significativement l'efficacité de la réaction d'oxydation. En ayant recours à un mélange eau/méthanol (1/1, v/v), nous avons ainsi obtenu les meilleurs taux de conversion en sulfoxyde à 22°C avec la métalloporphyrine **119c** pour atteindre 60% au bout de deux heures de réaction.

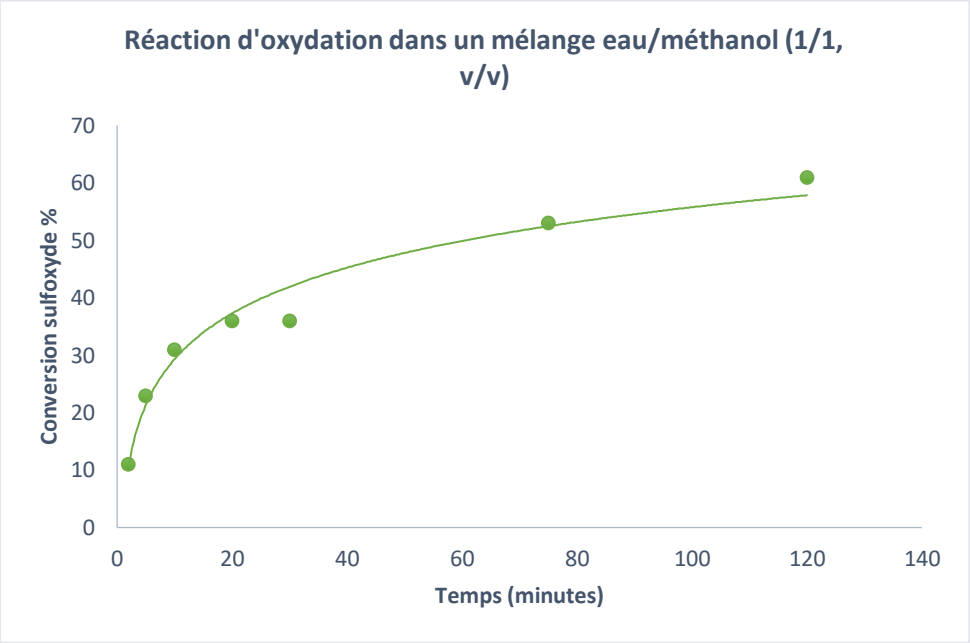


*Figure 64 : Courbe de cinétique de la réaction d'oxydation avec le manganoporphyrine **119c** et le méthyl-p-tolyl sulfure en présence de peroxyde d'hydrogène dans un mélange eau/méthanol (1/1, v/v) à 22°C*

II.1.2 Efficacités relatives du catalyseur **119c** et du MIP – Catalyse en phase hétérogène

L'objectif était de pouvoir comparer l'efficacité du MIP en phase hétérogène et de mettre en évidence sa plus-value par rapport à une catalyse en phase homogène. Afin de partir sur des conditions réactionnelles optimales permettant un suivi plus rapide de la réaction, nous avons joué sur les conditions de température et effectué des essais à 22°C et 37°C en présence du catalyseur **119c**.

II.1.2.1 Influence de la température en présence de 1% de catalyseur **119c**

La réaction de contrôle en l'absence de catalyseur a montré une évolution linéaire du taux de conversion à 22°C et 37°C durant les 200 premières minutes de réaction (environ 3 heures et 30 minutes). L'augmentation de température permet toutefois d'améliorer l'efficacité de l'oxydation, conduisant à 80% de sulfoxyde au bout de 300 minutes (5 heures) à 37°C contre seulement 40% à 22°C. Néanmoins, un plateau apparait après 300 minutes à 37°C, limitant le taux de conversion.

La réaction en présence du catalyseur **119c** s'est avérée plus rapide durant les 60 premières minutes, quelle que soit la température de réaction. On observe ensuite une diminution de l'activité avec une conversion en sulfoxyde qui atteint 65 % à 22°C au bout de 250 minutes, alors que la réaction est quasiment totale à 37°C (Figure 65).

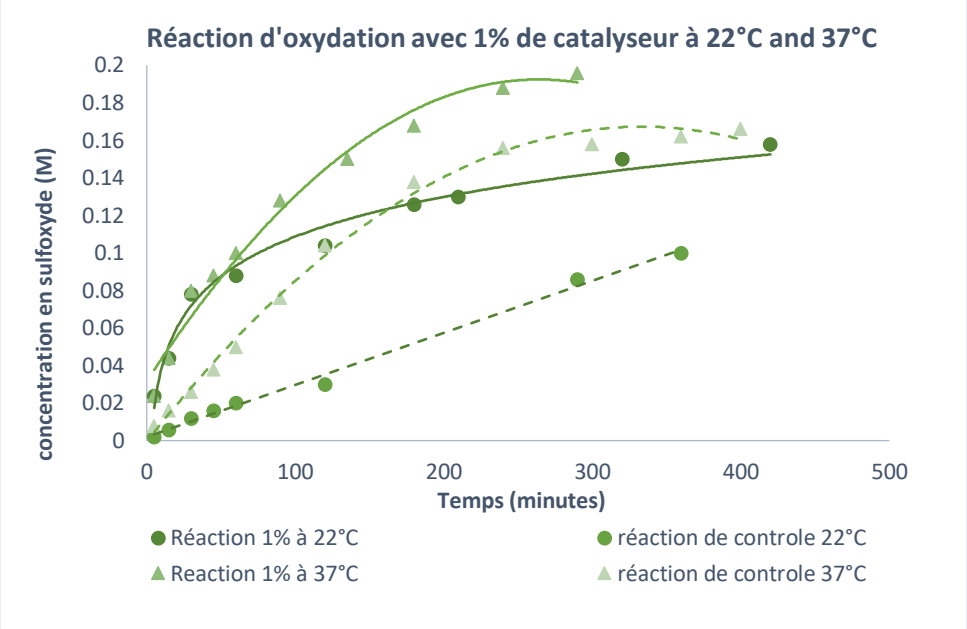


*Figure 65 : Courbes de cinétiques des réactions d'oxydations avec 1% de manganoporphyrine **119c** et le méthyl-p-tolyl sulfure en présence de peroxyde d'hydrogène dans un mélange eau/méthanol (1/1, v/v) à 22°C et 37°C (en ligne continue) et réactions de contrôle à 22°C et 37°C (en pointillé)*

II.1.2.2 Influence de la quantité de catalyseur

II.1.2.2.1 Variation de la quantité catalytique de 0.25% à 3%

La réaction en présence de catalyseur **119c** s'est montrée efficace entre 0 et 60 minutes quelle que soit la quantité de catalyseur introduite (Figure 66). Lorsque la concentration en catalyseur était la plus élevée (3%), la conversion en sulfoxyde chutait considérablement contrairement aux expériences menées à 0,25 et 0,5% en catalyseur.

En effet, en présence de 0,25% de catalyseur, la conversion en sulfoxyde a atteint 100% au bout de 180 minutes contre seulement 80% après 4h de réaction en présence de 3% de catalyseur.

Une quantité moins importante en catalyseur permettait donc d'obtenir de meilleurs résultats.

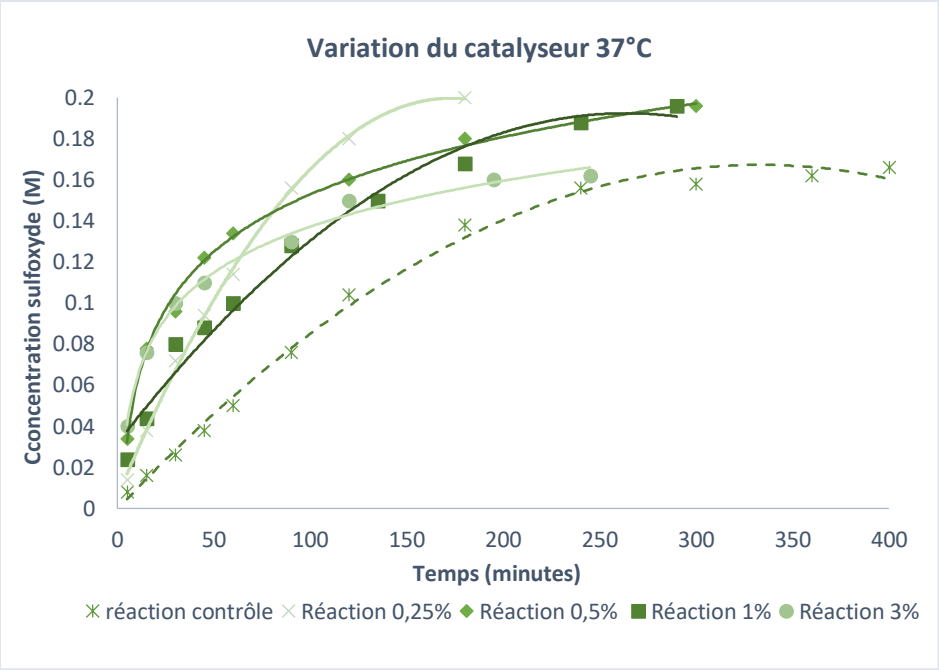


*Figure 66 : Courbes de cinétiques des réactions d'oxydations à différentes quantités catalytiques de manganoporphyrine **119c** et le méthyl-p-tolyl sulfure en présence de peroxyde d'hydrogène dans un mélange eau/méthanol (1/1, v/v) à 37°C*

II.1.2.2.2 Évaluation de la réaction d'oxydation à 3% de catalyseur

Les expériences précédentes ont montré que l'utilisation d'une quantité importante de catalyseur ralentissait la réaction d'oxydation. Des études complémentaires ont été réalisées afin de vérifier si le catalyseur s'autodégradait lors de la réaction. Ceci serait à l'origine d'une consommation rapide du peroxyde d'hydrogène dans le milieu, défavorisant ainsi l'oxydation du substrat soufré **168**.

À une réaction d'oxydation à 37°C en présence de 3% de catalyseur, de 2 équivalents de peroxyde d'hydrogène dans un mélange eau/méthanol (1/1, v/v) a été ajouté 1 équivalent de peroxyde d'hydrogène au bout de 50 minutes. La conversion en sulfoxyde a atteint 95% au bout de 4 heures de réaction (Figure 67). La conversion restait cependant lente même après cet ajout unique de peroxyde d'hydrogène, traduisant une possible inefficacité de la manganoporphyrine **119c** à ce stade de la réaction.

Une nouvelle réaction d'oxydation a été effectuée en utilisant toujours dans un premier temps 3% de catalyseur à 37°C dans un mélange méthanol/eau (1/1, v/v) et en présence de deux équivalents de peroxyde d'hydrogène. Au bout de 50 minutes, 1% de catalyseur et un équivalent de peroxyde d'hydrogène ont été ajoutés dans le milieu. La réaction reprend donc après l'ajout du catalyseur et du peroxyde d'hydrogène. La réaction a atteint 100% de conversion en sulfoxyde **169** au bout de 2 heures (Figure 67).

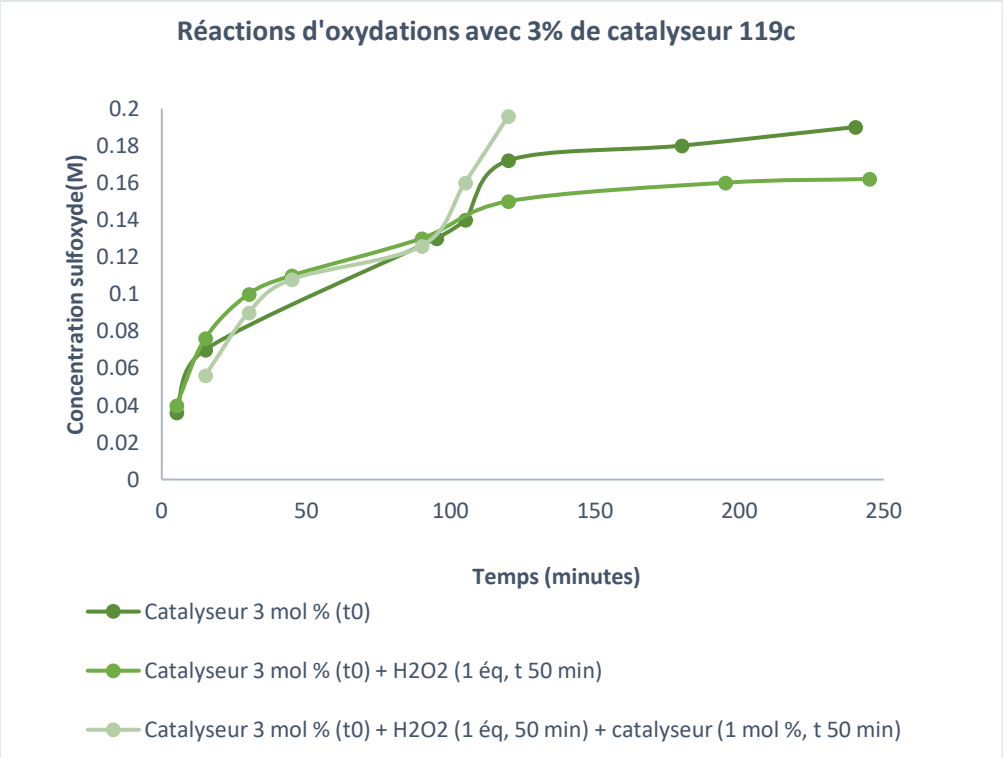


*Figure 67 : Courbes de cinétiques des réactions d'oxydations à 3% de manganoporphyrine **119c** et le méthyl-p-tolyl sulfure en présence de peroxyde d'hydrogène dans un mélange eau/méthanol (1/1, v/v) à 37°C avec l'ajout de 1% de catalyseur et 1 équivalent de H_2O_2 au bout de 50minutes*

Ces résultats obtenus démontrent donc que la métalloporphyrine **119c** se dégrade effectivement dans les conditions d'oxydations choisies après 50 minutes environ. Ce phénomène ralentit la réaction.

La réaction d'oxydation restait cependant favorisée à 0,25% de catalyseur. Dans ces conditions, si au bout de 50 minutes, 0,25% de catalyseur et 1 équivalent de peroxyde d'hydrogène étaient ajoutés au milieu réactionnel, l'allure de la courbe restait linéaire après l'ajout de catalyseur conduisant à une conversion totale au bout de 3 heures. Cette expérience permettait donc de mettre en évidence que dans ce cas, le catalyseur restait actif après 50 minutes.

À un taux élevé de catalyseur (3%), sa dégradation est donc plus importante et entre en compétition plus fortement avec l'oxydation du substrat, limitant significativement l'efficacité de la réaction.

II.1.2.3 Réaction d'oxydation en présence du MIP

Des réactions d'oxydations ont alors été réalisées en présence du MIP. Il faut rappeler que ce polymère a été synthétisé à partir d'un complexe de pré-polymérisation formé autour de la manganoporphyrine **119b**. Les résultats précédents ont montré que la manganoporphyrine **119b** utilisée en milieu homogène n'était pas suffisamment stable dans les conditions d'oxydations employées, à savoir en présence de 2 équivalents de peroxyde d'hydrogène dans un mélange eau/méthanol à 22°C. Cette étude avait donc pour objectif de montrer si l'immobilisation de la manganoporphyrine **119b** dans le polymère permettait d'augmenter sa stabilité en milieu oxydant. Les études ICP-AES ont permis de déterminer la quantité de manganoporphyrine dans 30 mg. Dans une solution à 0,2M, 0,8% de porphyrine sont disponibles dans 30 mg de MIP.

II.1.2.3.1 Influence de la quantité du MIP sur la réaction d'oxydation sur **168**

Ces réactions ont toutes été effectuées à 37°C dans un mélange eau/méthanol (1/1, v/v) en présence de 2 équivalents de peroxyde d'hydrogène.

Les courbes de cinétiques obtenues pour les expériences en présence de 0,2 et 0,8 % du MIP ont un profil similaire. La réaction est terminée au bout de 5 heures. Les résultats obtenus sont comparables à ceux de la réaction en présence de 0,5% de catalyseur **119c** utilisé en phase homogène dans les mêmes conditions de réaction (Figure 68).

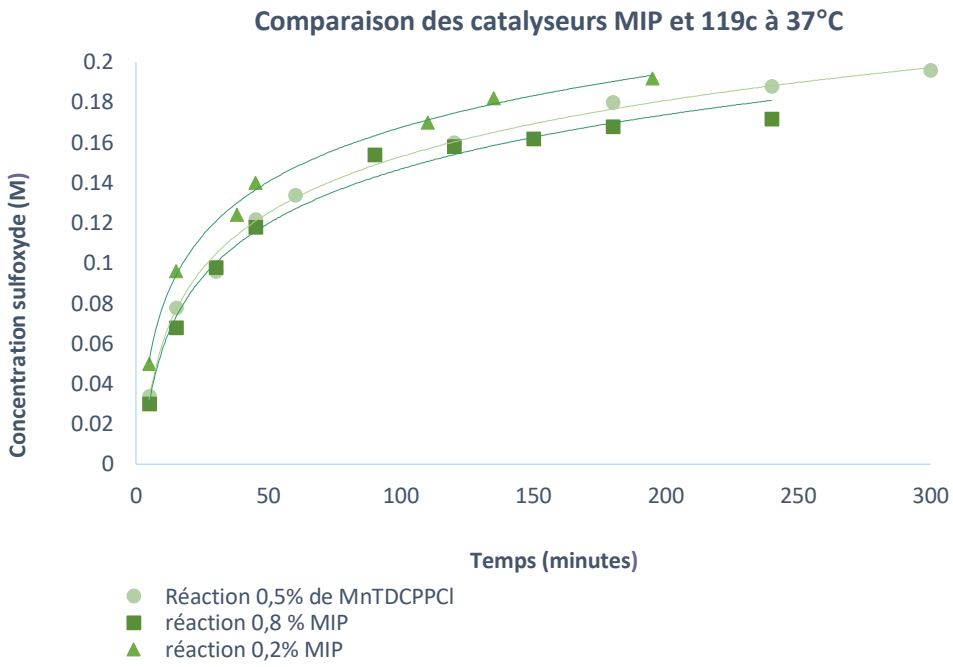


*Figure 68 : Courbes de cinétiques des réactions d'oxydations à 0,2% de MIP, 0,8% de MIP et 0,5% de manganoporphyrine **119c** et le méthyl-p-tolyl sulfure en présence de peroxyde d'hydrogène dans un mélange eau/méthanol (1/1, v/v) à 37°C*

Une réaction d'oxydation a alors été réalisée en présence du MIP à 0,8% en doublant la quantité de peroxyde d'hydrogène à 4 équivalents. La réaction devient très rapide et atteint une conversion totale au bout de 2 heures et 30 minutes (Figure 69).

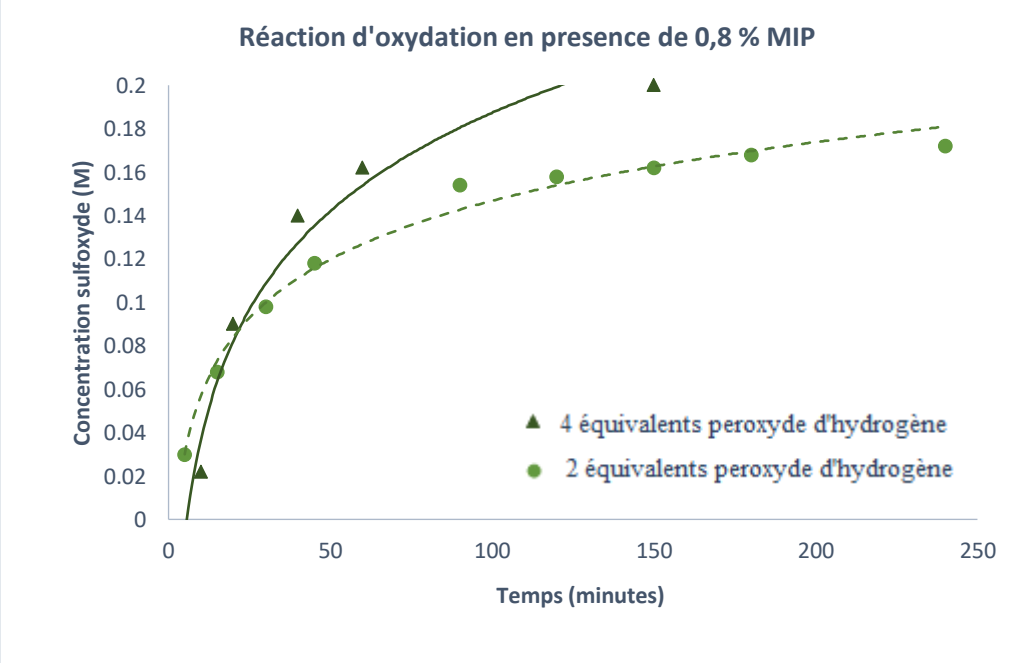


Figure 69 : Courbes de cinétiques des réactions d'oxydations à 0,8 % de MIPet le méthyl-p-tolyl sulfure en présence de 2 équivalents (ligne en pointillé) ou 4 équivalents (ligne continue) de peroxyde d'hydrogène dans un mélange eau/méthanol (1/1, v/v) à 37°C

Ces résultats ont montré dans un premier temps que le catalyseur MIP reste stable malgré l'utilisation d'une quantité plus importante de peroxyde d'hydrogène. Afin de vérifier ce paramètre, des études de recyclabilité du MIP ont été mises en œuvre pour vérifier la stabilité dans le temps du synthon porphyrinique immobilisé.

II.1.2.3.2 Recyclabilité du MIP

Le MIP a été facilement récupéré en fin de réaction afin de le réutiliser dans de nouvelles réactions d'oxydation. Après chaque processus oxydatif, le mélange réactionnel a ainsi été centrifugé pendant 5 minutes à 6000 tours /min. Le surnageant a été ensuite retiré et le MIP réengagé directement dans la réaction d'oxydation suivante.

L'étude de recyclabilité a été réalisée en considérant 0,8% du catalyseur hétérogène (30 mg, 0,8% de catalyseur). Le catalyseur hétérogène a été réutilisé dans quatre réactions successives d'oxydation sans perte significative de son efficacité catalytique. La couleur initiale du polymère est verte, correspondant à la présence de la porphyrine de manganèse. Après la quatrième réaction d'oxydation, l'aspect du polymère a changé, passant notamment d'une couleur verte à marron (Figure 70).

La recyclabilité du MIP nous a permis toutefois de démontrer la stabilité accrue du catalyseur porphyrinique immobilisé dans le polymère.

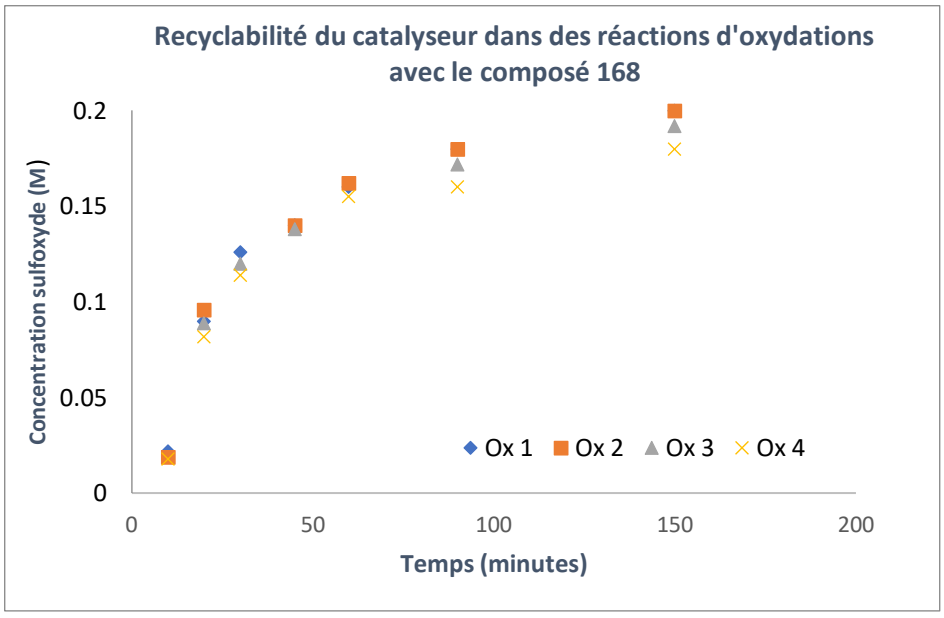


Figure 70 : Recyclabilité du MIP dans des réactions d'oxydations avec le méthyl p-tolyl sulfure en présence de 4 équivalents de péroxyde d'hydrogène dans 5 mL eau/méthanol (1/1, v/v) à 37°C

II.1.2.3.3 Activités catalytiques comparées du MIP et du NIP (polymère contrôle)

Afin d'évaluer l'effet d'empreinte sur l'efficacité de la catalyse, nous avons comparé l'activité du MIP à celle du NIP.

Pour ce faire et sur la base des cinétiques précédentes, la vitesse à l'état d'équilibre de la réaction a été estimée en mesurant la concentration de sulfoxyde généré à un temps de réaction fixé à 15 minutes à la fois pour le MIP et le NIP.

Comme nous pouvons l'observer sur le graphe ci-dessous (Figure 71), l'activité catalytique est plus importante pour le MIP que celle du NIP.

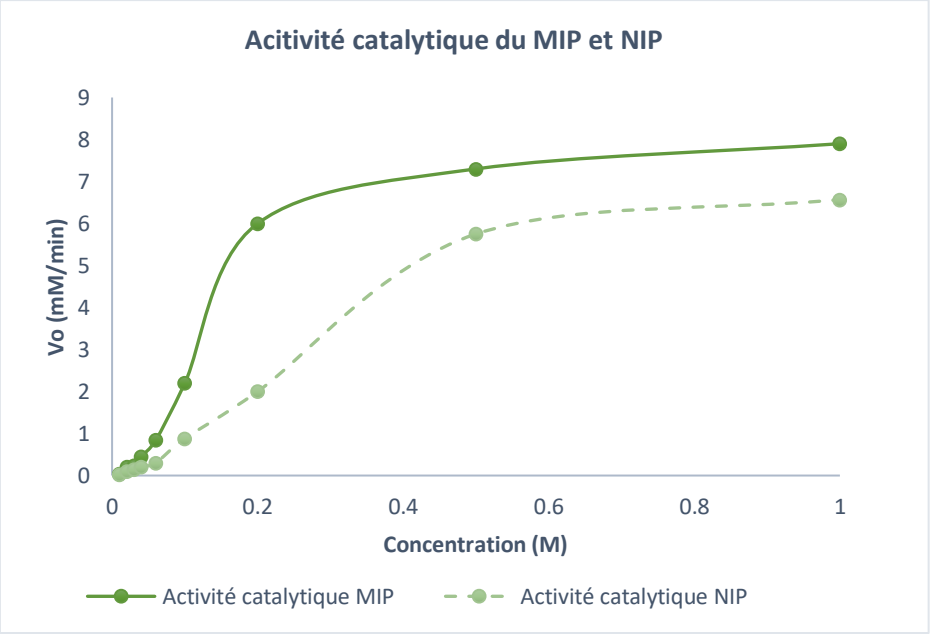


*Figure 71 : Taux de réaction initial à différentes concentrations du méthyl p-tolyl sulfure **168** avec les MIP et NIP comme catalyseurs. Conditions réactionnelles : methyl p-tolyl sulfide **168** (0,2 M), 30 mg polymère, H_2O_2 (4 équivalents), H_2O/MeOH (1/1, v/v) 5 mL, temps de réaction fixe : 15 min) ligne continue, (NIP) ligne en pointillé.*

Après l'ajustement des données cinétiques selon une méthode de régression non linéaire par l'équation de Hill, en utilisant une procédure itérative suivant l'algorithme de Marquardt─Levenberg à l'aide du logiciel Origin 8.5, les paramètres cinétiques (n, Vmax et la constante Ks* de pseudo-Michaelis) ont été obtenus (Tableau 12).

	n	V_{MAX} *(mM·min^{-1})*	K_s* *(M)*	R^2
MIP	3.00 ± 0.25	7.71 ± 0.09	(13.62 ± 0.48) x 10^{-2}	0.989
NIP	2.53 ± 0.30	6.90 ± 0.08	(28.05 ± 1.84) x 10^{-2}	0.994

n : paramètre cinétique

kcat : constante catalytique min^{-1}

Ks* : Pseudo constante de Michaelis (M)

Vmax : vitesse initiale maximale mM.min^{-1}

*Tableau 12 : Paramètres cinétiques du méthyl-p-tolyl sulfure **168***

La concentration des sites catalytiques a été déterminée grâce à l'analyse ICP-AES, qui a permis de mesurer le manganèse libéré après lixiviation des polymères en milieu acide et en supposant que la totalité du manganèse libéré à partir du polymère était catalytiquement actif. De cette façon, la valeur minimale de la constante catalytique k_{cat} a été obtenue pour chaque polymère.

Par conséquent, les constantes catalytiques k_{cat} ont été évaluées à 214 min^{-1} et 97 min^{-1} respectivement pour le MIP et le NIP. Par rapport au NIP, l'efficacité catalytique du MIP a été estimée par le rapport k_{cat} /K_s* qui est presque 4,5 fois plus élevé que celle du NIP.

II.2 Oxydation du simulant du gaz moutarde et des analogues structuraux du VX en milieu hétérogène

Les conditions optimales obtenues lors des études d'oxydations sur le 4-méthylthioanisole ont été appliqués sur le simulant du gaz moutarde ainsi que les composés 164 et 165. Les conditions opératoires ont été adaptées selon les différents composés.

II.2.1 Oxydation d'un simulant du gaz moutarde

L'efficacité catalytique du MIP étant prouvée, des études ont été menées avec le dérivé **87** (CEES) qui présente une structure plus proche de celle de l'ypérite, mais qui peut être manipulé en milieu académique sans risque toxique particulier inhérent à sa structure. Nous avons tout d'abord travaillé à une concentration en substrat de 0,2 M en présence d'un équivalent de peroxyde d'hydrogène dans un mélange eau/méthanol (1/1, v/v) à 37°C. La réaction étant trop rapide, nous avons alors abaissé la température du milieu réactionnel à 22°C.

En milieu hétérogène, le CEES **87** a été converti en sulfoxyde CEESO **88** (Schéma 55) avec un rendement de 98,4 % en 60 minutes. Au bout de 120 minutes, le rendement atteint 99,3% en sulfoxyde **88**.

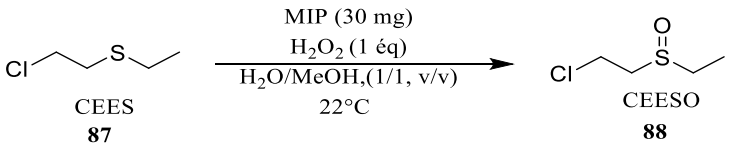
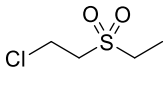


Schéma 55 : Oxydation du CEES en milieu hétérogène

Aucun sous-produit n'a par ailleurs été détecté, ce qui montre que ces conditions sont suffisamment douces pour éviter toute suroxydation en sulfone **89** (Figure 72).



$CEESO_2$
89

*Figure 72 : Structure de la 2-chloroéthyl éthyl sulfone **89***

Cette réaction a été suivie par GC-MS. Le temps de rétention du substrat **87** a été évalué à 3,75 minutes, et celui du composé **88** à 5,48 minutes (Figure 73).

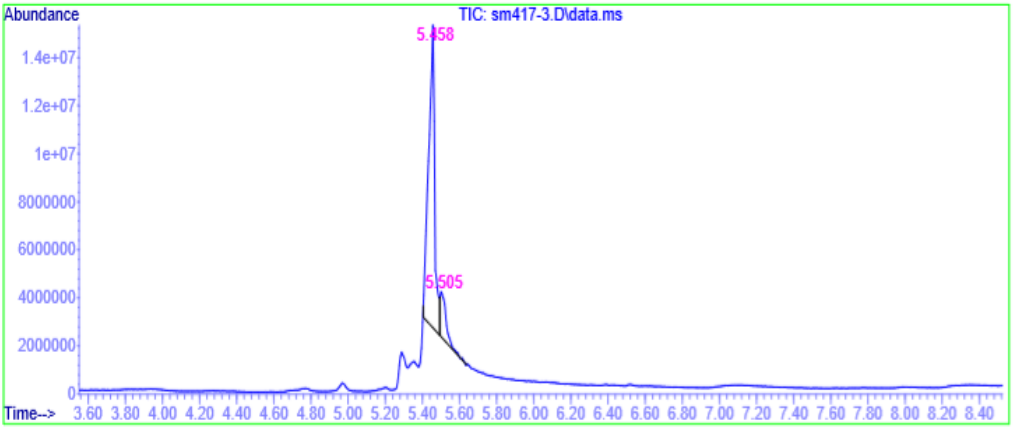


Figure 73 : Chromatogramme GC-MS, oxydation du CEES en milieu hétérogène

Le spectre de masse (Figure 74) confirme la structure du sulfoxyde **88** avec 2 pics dans un rapport 3/1 apparaissant respectivement à *m/z* = 140 et *m/z* = 142, correspondant à l'ion

moléculaire. Les deux pics à *m/z* = 112 et *m/z* = 114 pourraient correspondre à des cations radicalaires issus de la perte d'un fragment neutre C_2H_4.

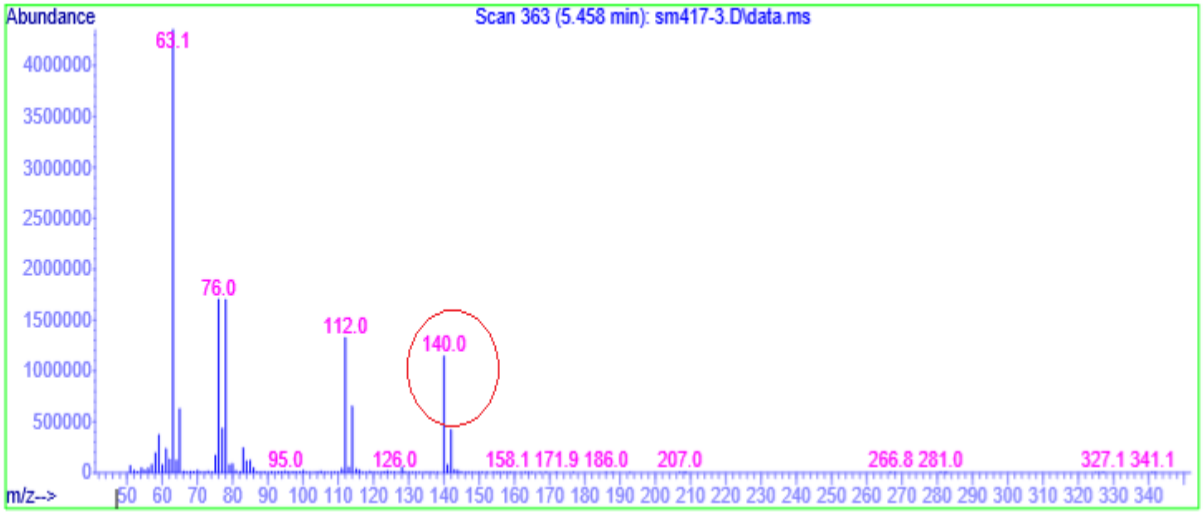


*Figure 74 : Spectre de masse du sulfoxyde **88***

Une réaction contrôle a par ailleurs été réalisée en l'absence de catalyseur, mais dans les mêmes conditions réactionnelles. Lors de cette réaction témoin, au bout d'une heure, plusieurs sous-produits sont apparus sans que nous soyons en mesure de pouvoir pleinement les identifier. Ces premiers essais ont toutefois démontré que le MIP permettait d'obtenir quasi-quantitativement et sélectivement le dérivé sulfoxyde **88** souhaité.

II.2.2 Réactions d'oxydations des composés **164** et **165**

Les dérivés **164** et **165** ont montré une bonne affinité avec le MIP lors des études de reconnaissance moléculaire. Ces composés qui avaient été initialement développés dans le but d'évaluer les propriétés de reconnaissance du MIP se sont avérés utiles dans cette phase de détermination de l'efficacité catalytique du MIP, en particulier en raison de la présence de deux centres respectivement soufré et azoté, susceptibles d'être tous deux oxydés, comme cela peut être le cas dans le VX.

La concentration des substrats a été comme précédemment fixée à 0,2 M. Les réactions ont été effectuées à 37°C en milieu hétérogène en présence de 0,8% mol de catalyseur (soit 30 mg de MIP), en présence de quatre équivalents de peroxyde d'hydrogène. Différents solvants ont été testés et le suivi a été effectué par GC-MS.

Les réactions d'oxydations sur le composé **164** ont conduit à la formation de deux composés d'oxydation, à savoir le dérivé sulfoxyde **171** et la sulfone **172** (Schéma 56).

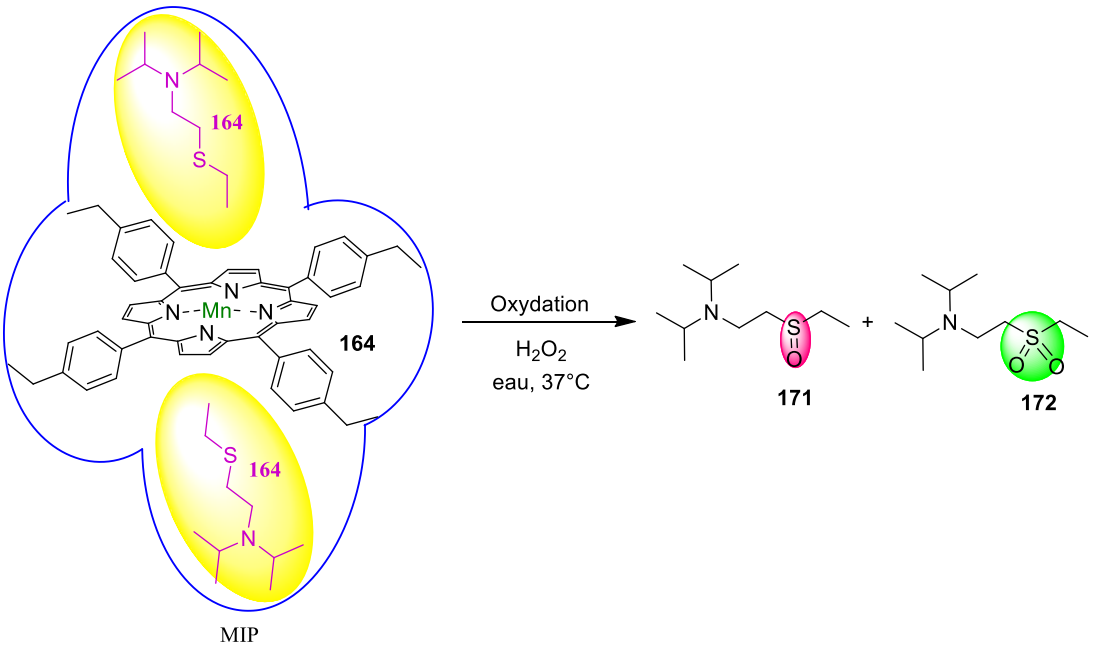


*Schéma 56 : Réaction d'oxydation avec le composé **164** en milieu hétérogène*

Les essais ont été réalisés dans quatre solvants différents (Tableau 13). Nous avons ainsi pu montrer que le solvant avait une influence très significative sur la réaction d'oxydation.

Essai	*Solvant*	*Temps (heures)*	*Conversion (%)*		
			Sulfure	*Sulfoxyde*	*Sulfone*
1	Eau/méthanol	1	10	80	10
	(1,1, v,v)	2	0	36	64
2	Méthanol	1	28	72	0
		2	5	77	18
3	Eau	1	0	96	4
		2	0	57	43
4	Eau/acétonitrile	1	45	55	0
	(1,1, v,v)				

*Tableau 13 : Influence du solvant dans la réaction d'oxydation avec le composé **164** en milieu hétérogène*

La réaction a été plus rapide et très sélective dans l'eau, donnant 96% de sulfoxyde et 4% de sulfone au bout d'une heure en milieu hétérogène (Essai 3, Tableau 13). Dans les mêmes conditions en l'absence de MIP, 24% du réactif de départ ont été récupérés après 1h.

En présence de méthanol, l'oxydation de **164** en présence de MIP a été ralentie puisque seulement 28% du réactif **164** ont encore été détectés après 1 heure (Essai 2, Tableau 13). L'utilisation d'un mélange H_2O / CH_3OH (1/1, v/ v) comme solvant a favorisé la formation de sulfone, en particulier après 2 heures de réaction (Essai 1, Tableau 12). La réaction d'oxydation est en revanche défavorisée dans un milieu H_2O / CH_3CN (1/1, v/ v).

L'oxydation du dérivé **165** effectuée dans un mélange eau/méthanol (1/1, v/v) donne également deux produits d'oxydation, à savoir le sulfoxyde **173** (67%) et la sulfone **174** (33%) après 120 minutes de réaction (Schéma 57).

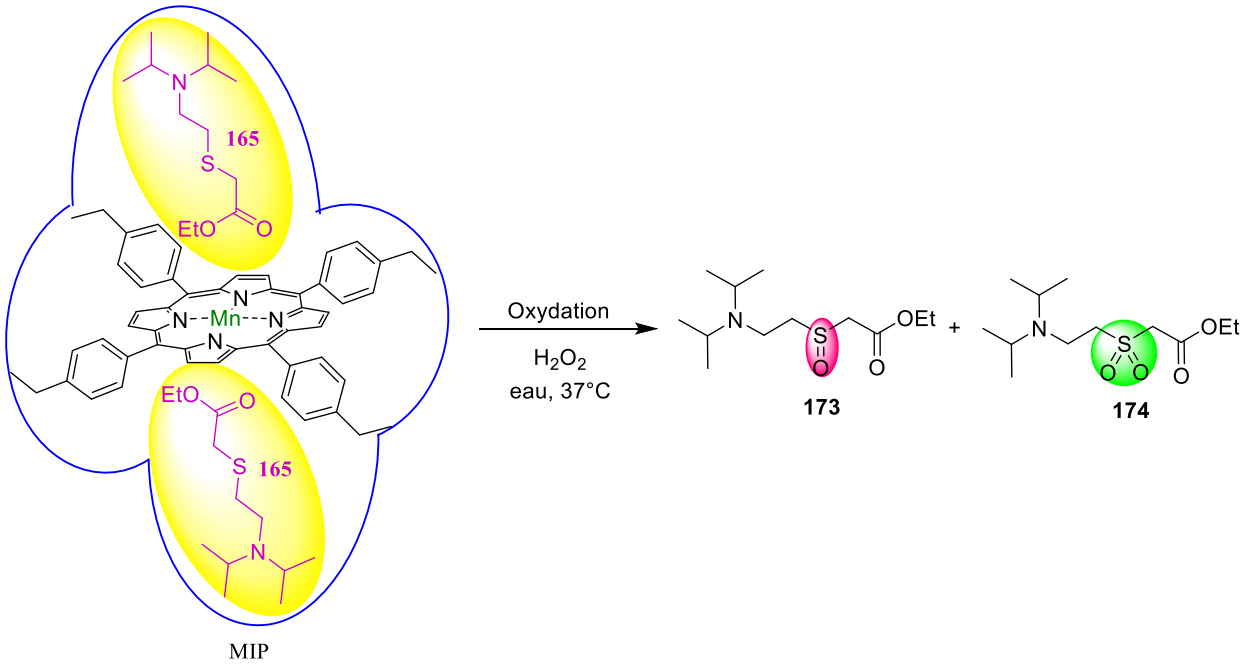


*Schéma 57 : Réaction d'oxydation avec le composé **165 en** milieu hétérogène, dans l'eau*

Pour les deux substrats **164** et **165**, les analyses MS des produits sulfoxyde et sulfone ont révélé un fragment avec un pic de base à $m / z = 114$ qui correspond au cation $(C_7H_{16}N)^+$, à savoir le fragment diisopropylamine, montrant que l'oxydation s'effectuait bien au niveau du soufre.

Suite à ces études, nous avons synthétisé un nouveau composé de structure similaire à celle des deux derniers substrats, mais présentant un atome de soufre conjugué à un groupe carbonyle, afin d'évaluer la capacité du MIP à catalyser le clivage d'une liaison C-S par oxydation du soufre.

II.2.3 Réaction d'oxydation sur l'amino-thioester **175**

Le dérivé **175** (Schéma 58) a été obtenu à partir de l'amino-chlorure **166** en présence de thioacétate de potassium dans l'acétone à température ambiante. Le dérivé **175** a été isolé avec un faible rendement de 30%, toutefois suffisant pour obtenir le composé désiré dans une quantité telle qu'il puisse être utilisé dans des tests d'oxydation.

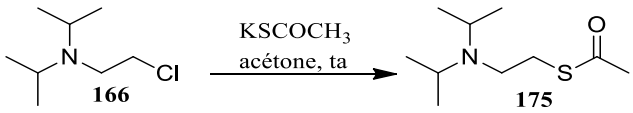


*Schéma 58: synthèse de l'amino-thioester **175***

Ce composé a été choisi, car la liaison S-CO est facilement clivable en milieu basique en présence d'hydroxyde de sodium ou également en milieu acide bromhydrique dans le méthanol au reflux. Cette dernière réaction témoin nous a permis de caractériser le produit **176** pour l'étude d'oxydation du composé **175** (Schéma 59). Il a été identifié par GC-MS avec un temps de rétention de 4,60 minutes.

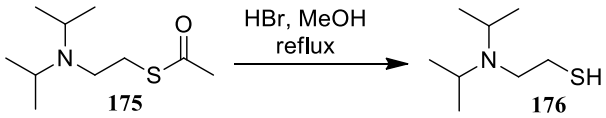


*Schéma 59 : Réaction de déacétylation du composé **175***

En activant l'atome de soufre du composé **175** en sulfoxyde **177** dans un milieu 100% aqueux, la réaction de désacétylation peut être accélérée. Par une activation similaire dans le cas du VX, on pourrait alors envisager la formation du dérivé **109** (EMPA, Schéma 60) dénué de toute toxicité.

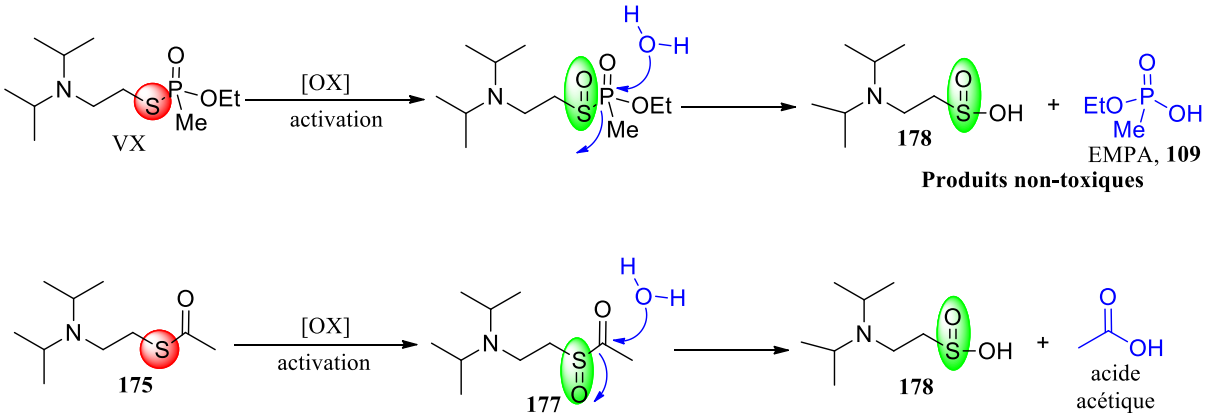


*Schéma 60 : Comparaison des réactions d'oxydations sur le VX et le composé **175***

La réaction d'oxydation en milieu hétérogène sur le dérivé **175** a été réalisée dans l'eau avec les mêmes conditions expérimentales (pour les autres paramètres) que les dérivés **164** et **165** en présence du MIP.

La réaction d'oxydation s'est avérée rapide et a conduit au bout d'1 heure à la formation de deux composés avec des temps de rétention respectifs de 6,26 minutes (20%) et 9,46 minutes (80%).

Le spectre de masse du produit qui sort à 9,46 minutes révèle la présence du pic correspondant à l'ion moléculaire à $m/z = 193$, caractéristique de l'acide sulfinique **178** (Figure 75).

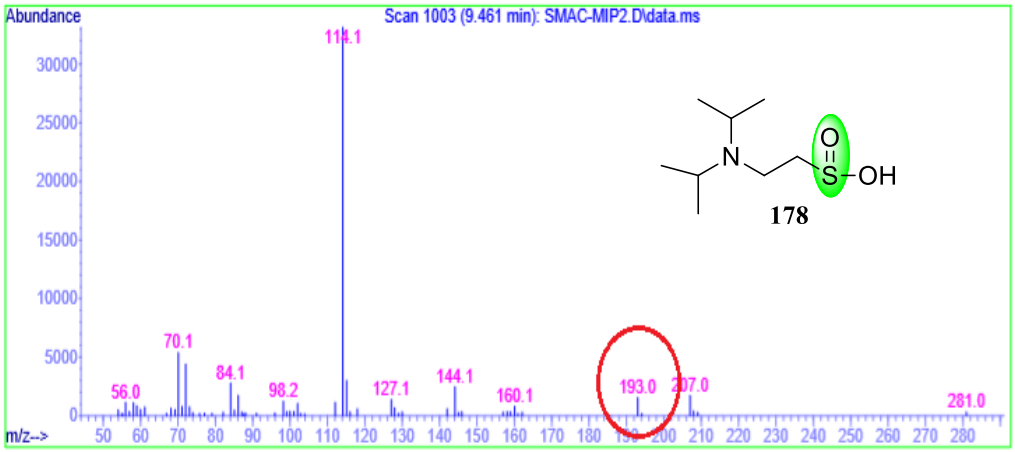


*Figure 75 : Spectre GC-MS du composé **178***

La structure du composé **178** peut être confirmée par la présence du fragment à m/z = 127 (**179**, Schéma 61). Le composé **180** n'est pas détecté en masse.

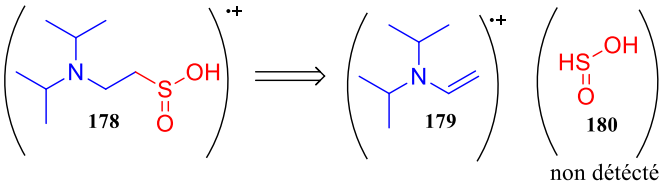


*Schéma 61 : Fragmentation du composé **178***

Comme pour les dérivés **164** et **165**, la présence d'un pic de base à m/z = 114 correspond l'ion iminium **182** $(C_7H_{16}N)^+$.

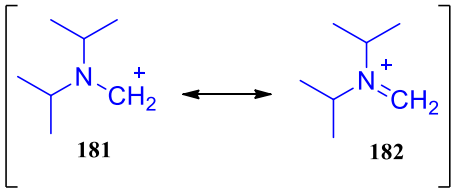


Schéma 62 : Formes mésomères du fragment correspondant au pic de base à m / z = 114

Le spectre de masse du produit sortant à 6,26 minutes ne nous a pas permis de remonter sa structure. Nous avons isolé ce composé et effectué une analyse RMN ^{13}C complétée par une analyse spectrale de masse haute résolution.

Ces analyses ont permis de mettre en évidence la formation du composé **177** sur la base du spectre ^{13}C (Figure 76) et de l'analyse HRMS avec un pic moléculaire à m / z = 220,1371 (([M+H]+), Figure 77).

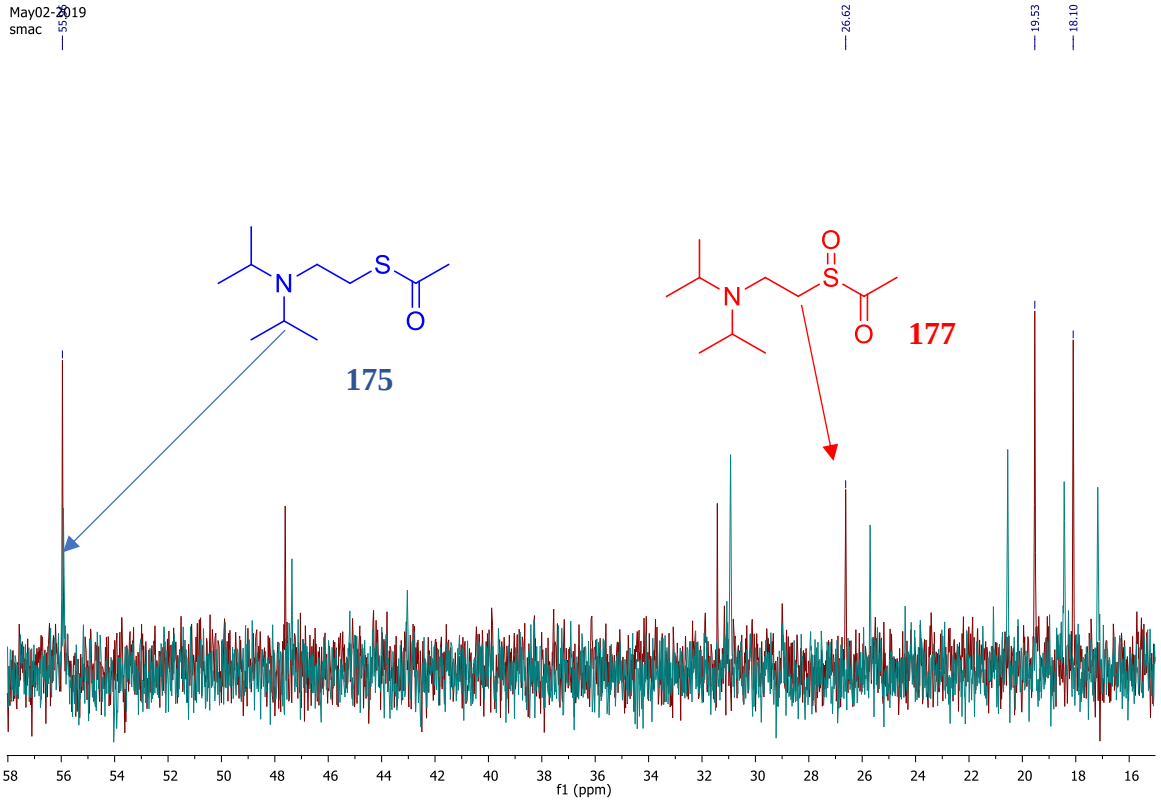


*Figure 76 : Superposition des spectres RMN ^{13}C des composés **175** et **177***

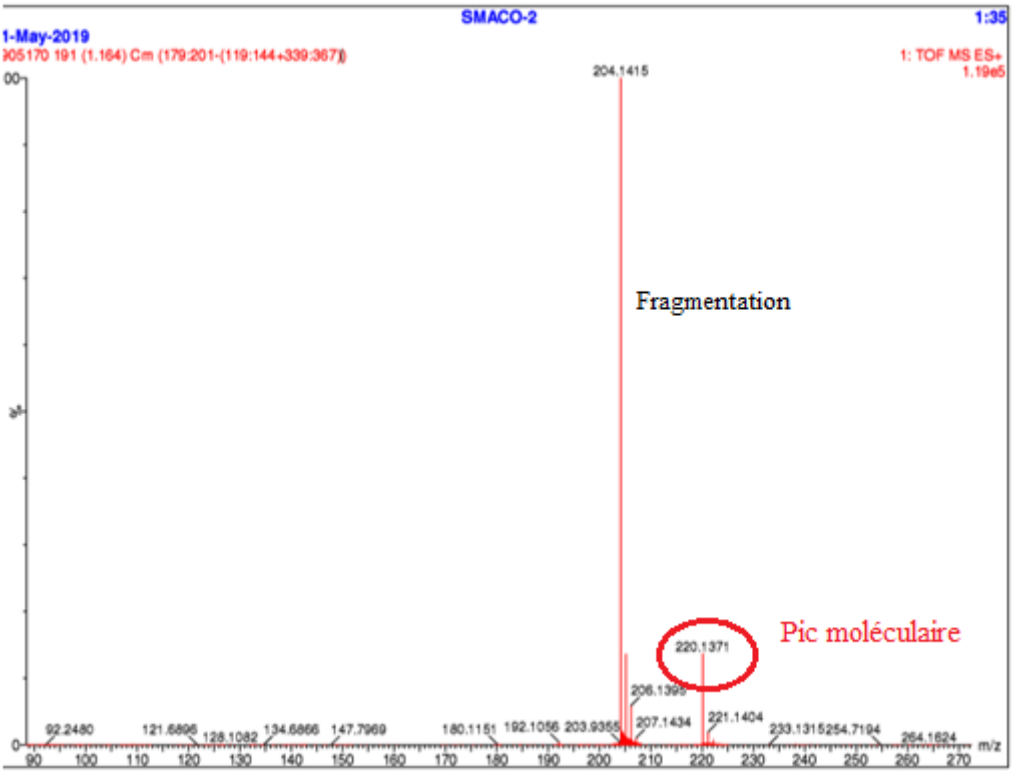


*Figure 77 : Spectre de masse du composé **177***

Nous avons également effectué la réaction d'oxydation du composé **175** en abaissant la température à 22°C. Au bout de 60 minutes, le sulfoxyde **177** et l'acide sulfinique **178** ont été formés avec des rendements respectifs de 96% et 4% montrant que ce paramètre était déterminant pour contrôler l'évolution de la réaction.

Conclusion générale - Perspectives

Nous avons réussi à développer un MIP à base de porphyrine en tant que catalyseur hétérogène pour l'oxydation de dérivés soufrés. Ce MIP a été obtenu à partir d'une manganoporphyrine de structure relativement simple dont la stabilité était insuffisante pour être pleinement efficace en catalyse homogène. A l'inverse, l'immobilisation de ce type de macrocycle au sein d'un polymère a permis d'augmenter sa résistance en milieu oxydant et rendue possible son recyclage pour différentes réactions successives.

Pour accéder à ce catalyseur supramoléculaire, la méthode de polymérisation employée a été la polymérisation en masse (« Bulk »). Nous avons suivi une approche non covalente pour créer les cavités artificielles autour du complexe de pré-polymérisation, ceci grâce à la coordination avec le métal de la porphyrine d'une molécule gabarit dérivant de l'imidazole.

Deux types de polymères imprimés ont été synthétisés, sans acide acrylique et en présence d'acide acrylique. Seule la première approche a permis une extraction suffisante de la molécule gabarit après le processus de polymérisation. Les conditions d'extraction du gabarit à partir du polymère formulé en présence d'acide acrylique nécessiteront une optimisation. Nous avons ainsi poursuivi les différents développements uniquement à partir du MIP ayant donné des rendements d'extraction satisfaisants de la molécule gabarit.

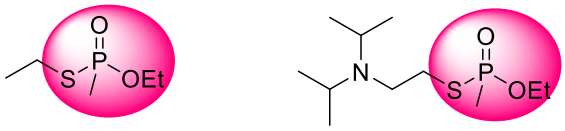
La quantification du taux de manganèse contenu dans ce polymère a été évaluée par ICP-AES. Ce polymère a été également caractérisé par la méthode de macroscopie confocale afin de déterminer la taille des pores. Après cela, des tests de reconnaissance moléculaire ont été menés afin de démontrer que la molécule gabarit était naturellement bien reconnue par le MIP. Ces études ont été complétées en utilisant des analogues structuraux de la molécule gabarit. Les études de reconnaissance moléculaire ont ainsi mis en évidence que le MIP était également capable de reconnaitre d'autres molécules analogues de la molécule gabarit, même si l'affinité restait effectivement plus faible.

Nous avons ensuite testé l'efficacité du MIP dans l'oxydation de divers sulfures d'intérêt. Les conditions douces utilisées pour la catalyse ont ainsi permis de contrôler le degré d'oxydation d'un simulant de l'ypérite, en obtenant avec une très grande sélectivité le dérivé sulfoxyde, sans que le dérivé sulfone qui serait tout aussi toxique que l'arme chimique elle-même ne se forme. Nous avons également appliqué cette stratégie dans le cas de dérivés se rapprochant plus de la structure du VX. Nous avons montré qu'il était possible d'oxyder régiosélectivement le soufre, et mis en évidence l'intérêt de ce procédé pour faciliter le clivage

d'une liaison C-S. Cette approche représente donc une stratégie de décontamination intéressante qu'il conviendra d'évaluer dans le cas de véritables agents de guerre chimique.

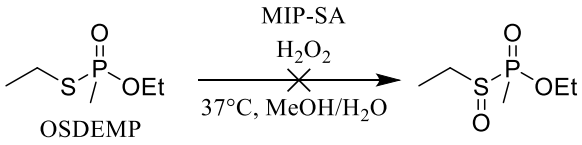
La décontamination des armes chimiques est en effet devenue un sujet d'intérêt particulier ces dernières années en raison de préoccupations croissantes en matière de sécurité. En effet, le VX reste l'un des agents les plus difficiles à détoxifier dans des conditions suffisamment douces et susceptibles d'éviter la formation d'autres composés toxiques.

L'objectif à terme de ce travail est de surmonter les limitations des systèmes de décontamination actuels. Pour cela, comme dans le cas du simulant du HD, nous avons réalisé des essais préliminaires sur un simulant du VX, le dérivé OSDEMP.



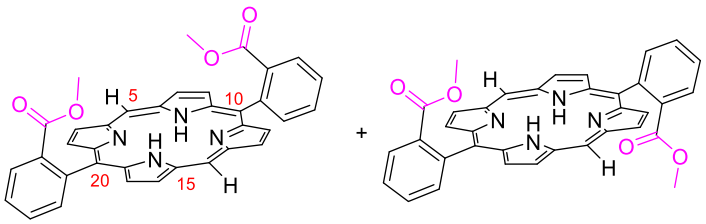
OSDEMP VX

Cependant, les conditions d'oxydation mises au point dans le cadre de nos travaux de thèse n'ont pas permis d'atteindre l'objectif souhaité. Des études plus approfondies visant à vérifier si le problème était lié à l'absence de reconnaissance de la molécule substrat ou bien aux conditions même de la réaction d'oxydation devront être mises en œuvre.

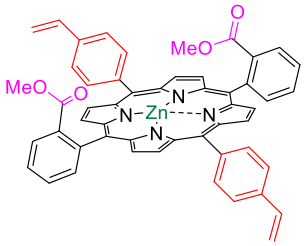


Par ailleurs, les deux formes énantiomères du VX possédant des toxicités différentes (DL_{50}(µg/kg) : (-) VX= 12,6 (+) VX=165), il serait aussi intéressant d'accéder à un système supramoléculaire capable de reconnaitre stéréosélectivement chaque isomère. Un tel système biomimétique énantiosélectif pourrait être obtenu à partir d'une manganoporphyrine polymérisable plus élaborée pour la formulation de nouveaux MIPs.

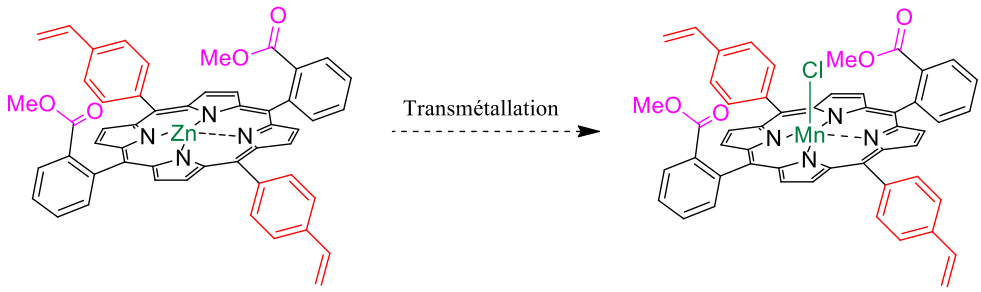
Des travaux prospectifs ont également été développés en ce sens grâce à la préparation d'une porphyrine polymérisable portant des substituants de nature différente, plus particulièrement des groupements phényl-esters sur les positions *méso* 10 et 20 du macrocycle azoté.



Nous avons poursuivi la synthèse de la porphyrine polymérisable avec l'atropoisomère αα pour accéder au composé suivant.



Cette porphyrine de zinc sera ensuite transmétallée par le manganèse pour obtenir le composé final souhaité. Ce dérivé pourra ensuite être utilisé pour la formulation d'un nouveau polymère et des tests d'oxydation en phase hétérogène. Des groupements chiraux pourront aussi être introduits par l'intermédiaire des groupements carboxylates de la manganoporphyrine.



Experimental part

1. General Methods

All the reagents were purchased from commercial sources (Sigma-Aldrich, Accros, and Alfa Aeser). Acetonitrile and isopropanol were distilled over CaH_2 and stored under 3Å molecular sieve. CH_2Cl_2, diethyl ether and toluene were dried thanks to a MBraun MB-SPS apparatus with less than 30 ppm of water.

^{1}H (300 MHz), **^{13}C (75.5 MHz)** nuclear magnetic resonance (NMR) spectra were acquired using a Bruker avance 300 MHz at 293°K and were referenced with $CHCl_3$ (7.27 and 77.00 ppm for 1H and 13C, respectively). ^{1}H NMR coupling constants were reported in Hertz. Data were reported as follows: chemical shift (units is parts per million (ppm)), multiplicity (s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quartet, m = multiplet, dd = doublet of doublet), the coupling constants (J) were reported in Hz. IR spectra were performed on a Perkin-Elmer spectrum 100 FT-IR spectrometer.

ESI-MS data were acquired using a LCT Premier XE (Waters, Manchester, UK). HRMS (Accurate mass measurements) were realized using a Synapt G2 HDMS (Waters, Manchester, UK) equipped with a lock spray electrospray (ESI) source. Experiments were achieved in positive or negative ion. The column used is column Waters Acquity BEH C181,7 µm 2,1-50 mm. The gradient used is 98%/2% H_2O/ACN to 100% of ACN in 4 minutes and 100% ACN for 1.3 minutes at flow rate of 0.6 $mL.min^{-1}$.

IR spectra were performed on a Perkin-Elmer spectrum 100 FT-IR spectrometer.

Mass experiments were performed by MALDI-TOF/MS (Ultraflex, Bruker Daltonique) in positive ion mode and in reflectron mode. The ion-accelerating voltage was 20 kV. One µL of sample was deposited on the target and was covered with α-cyano-4-hydroxycinnamic acid as matrix. The matrix was solubilized in TFA/ACN (70/30) at a final concentration of 10 $mg.mL^{-1}$. External calibrations were carried out using the standard protein mixture (Peptide Calibration Standard kit, Bruker Daltonique). At least 150 laser shots were summed for each spectrum. Raw data were processed using Flex Analysis.

Analytical HPLC was performed on a Thermo Scientific Ultimate 3000 RSLC instrument equipped with a PDA detector, UV chromatogram were recorded at 220nm. The column used is an Acquity CSH c18 100x2.1mm 1.7µm. Acetonitrile and acetate ammonium 100mM pH=10 (30/70, v/v) were used as eluents at flow rate of 0.2 $mL.min^{-1}$. Temperature was set at 40 °C.

Analyticals GC were performed on an Agilent 6850 instrument coupled to an Agilent 5975C Quadrupole GC/MS, with electronic impact. The column used is an HPS-MS: 28 m x 0.25mm 0.25 µm with a gas flow rate of 1 mL/min. Temperature was set at 40 °C. GC-FID was realized using Scion 436. The column used is DB5 25m x 0.25mm; 0.25µm at gas flow rate of 1mL/min.

The manganese contents were quantified using Varian 720-ES ICP-AES. The samples were prepared using approximately 15 mg of MIP, treated with nitric acid (67-69%, for Trace Metal Analysis, Fisher Chemical) using a Anton Paar ECO Multiwave Microwave Digester.

The UV measurements were conducted on a Agilent technologies Cary 60 UV-Vis spectrophotometer (190-1100 nm, bandwidth 1 nm) using 10 x 10 mm quartz cuvettes from Hellma Analytics.

Polymer imaging through macroscopy:

The polymer was illuminated with a LED5000 HDI™ illuminator (Leica Microsystems, Nanterre, France) that produces a very uniform light by means of the dome shape. Reflected light was collected with a motorized Z6 APO macroscope (Leica Microsystems) equipped with either a 0.8x (WD = 112 mm), 2x (WD = 39 mm) or 5x objective (WD = 19.8 mm) and a DFC 320 CCD color camera (full frame : 2088 x 1550 pixels, exposition time from 150 to 300 ms) (Leica Microsystems). Large view (0.8x) and higher magnification (2x and 5x) were acquired with the Leica Application Suite LAS V4.12 sofware to illustrate polymer pores diversity. The single beam path of the macroscope provides 2D images and ensures parallax-free imaging. Thanks to multi-focus acquisitions, Z-stack images were obtained with an optimized Z-step that was calculated using objective/zoom parameters and starting/ending z positions. Z-stack images were processed through Zerene Stacker Software with algorithms for 2D depth projection rendering (Zerene Systems LLC, Richland, WA, USA). ImageJ (Rasband, W.S., U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, http://imagej.nih.gov/ij/, 1997-2016) was used to adjust image brightness and contrast.

Compounds 119a and 119c were synthesized according to published procedure.[12]

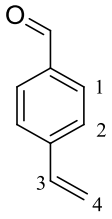
[1] Adler, A. D.; Longo, F. R.; Finarelli, J. D.; Goldmacher, J.; Assour, J.; Korsakoff, L., *The Journal of Organic Chemistry* **1967,** *32* (2), 476-476

[2] Jérôme Ségrestaa, Optimisation d'un système biomimétique des enzymes à cytochrome P 450 ; Application à l'oxydation d'hydrocarbures et des produits d'intérêt thérapeutique, Thèse soutenue le 14/01/2002, Université de Rouen

2. Syntheses of organic compounds:

2.1. Synthesis of compound 119a, 119b and 119c:

4-vinylbenzaldehyde 120b



C_9H_8O
Exact Mass: 132.0575
Yellow oil

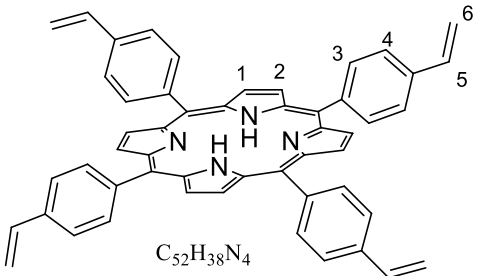
In a typical procedure, LiCl (30 mmol, 2.54 mL, 1 eq) and Mg (33 mmol, 0.8 g, 1.1 eq) were dissolved in 9 ml of THF under argon atmosphere. Then, 4-bromostyrene (30 mmol, 3.92 mL, 1 eq) dissolved in THF (21 mL) was added dropwise at 0°C. The reaction mixture was then vigorously stirred at room temperature for 45 minutes to obtain 4-vinyl(phenyl)magnesium bromide. 150 mL of dry DMF were then added in the reaction medium under a nitrogen atmosphere. The reaction was stirred at room temperature overnight. Finally, the reaction mixture was quenched by the addition of 50 mL of saturated NH_4Cl solution. After extraction with ethyl acetate (50 mL), the organic layer was washed with brine (30 mL) and dried over $MgSO_4$. The solvent was removed under reduced and purified by flash column chromatography on silica gel (petroleum ether/EtOAc, 9/1, v/v). The 4-vinylbenzaldehyde was obtained as a yellow oil in 34% yield.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.92 (s, 1H, C<u>H</u>O), 7.77 (d, ^3J = 8.3 Hz, 2H, 2 x H-1), 7.48 (d, ^3J = 8.2 Hz, 2H, 2 x H-2), 6.70 (dd, ^3J = 17.6, 10.9 Hz, 1H, H3), 5.84 (dd, ^3J = 17.6, ^2J = 0.6 Hz, 1H, H-4 *trans*), 5.37 (dd, ^3J = 10.9, ^2J = 0.5 Hz, 1H, H-4 *cis*).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 192.1, 143.8, 136.2, 136.0, 130.4, 127.1, 117.8[3]

[3] Dai, Z.; Sun, Q.; Liu, X.; Bian, C.; Wu, Q.; Pan, S.; Wang, L.; Meng, X.; Deng, F.; Xiao, F.-S., *Journal of Catalysis* **2016,** *338*, 202-209.

Synthesis of porphyrin 122b:



$C_{52}H_{38}N_4$
Exact Mass: 718,3096
Purple powder

Pyrrole (0.57 mL, 8.1 mmol, 1 eq) was added dropwise to a refluxing solution of 4-vinylbenzaldehyde **120b** (1.07 g, 8.1 mmol, 1 eq) in propionic acid (150 mL). The mixture was then refluxed for 1 h under inert atmosphere. After cooling to room temperature, the suspension was filtered, and the residue was washed with methanol (2 x 50 mL) and ethyl acetate (2 x 50 mL). The desired product **122b** was isolated as a purple solid (0.315 g, 22 % yield). The analyses were in accordance with the literature.[4]

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.90 (s, 8H, 4 x H-1, 4 x H-2), 8.20 (d, ^3J = 7.5 Hz, 8H, 8 x H-3), 7.82 (d, ^3J = 7.5 Hz, 8H, 8 x H-4), 7.08 (dd, ^3J = 17.5 Hz, ^3J =11.0 Hz, 4H, 4 x H-5), 6.09 (d, ^3J = 17.4 Hz, 4H, 4 x H-6$_{trans}$), 5.52 (d, ^3J = 10.9 Hz, 4H, 4 x H-6$_{cis}$), -2.74 (s, 2H, 2 x NH).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 141.6, 136.8, 134.8, 124.6, 119.8, 114.7.

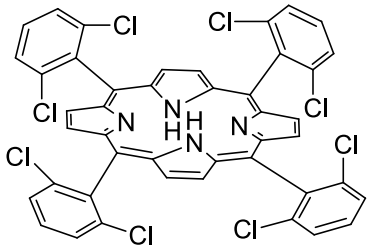
UV-visible: 422 nm (Soret, Ɛ = 92697 L.mol^{-1}.cm^{-1}), 517 nm (Ɛ = 3773 L.mol^{-1}.cm^{-1}), 553 nm (Ɛ = 2600 L.mol^{-1}.cm^{-1}), 592 nm (Ɛ = 1275 L.mol^{-1}.cm^{-1}, 649 nm (Ɛ = 1329 L.mol^{-1}.cm^{-1}).

MS (MALDI-TOF): Calcd for *m/z* $C_{52}H_{38}N_4$ 718.309, Found 718.339

The compound 119a was synthesized according this procedure with the same scale.

[4] Dai, Z.; Sun, Q.; Liu, X.; Bian, C.; Wu, Q.; Pan, S.; Wang, L.; Meng, X.; Deng, F.; Xiao, F.-S., *J. Catal.* **2016,** *338*, 202-209

Synthesis of tetra-(2,6)-dichlorophenyl porphyrin 122c:



$C_{44}H_{22}Cl_8N_4$

Exact Mass: 885,9353

Purple powder

The synthesis of 5, 10, 15, 20-tetrakis (2,6 dichlorophenyl)-porphyrin was carried out according to the method of Lindsey.

In a one-litre reactor, equipped with a mechanical agitation system and a refrigerant, were introduced successively:

-500 ml of dichloromethane

-1.75 ml of pyrrole (27,5 mmol)

-4.80 g of 2.6 dichlorobenzaldehyde

(27.5 mmol)-1 ml of boron trifluoride in methanol (BF_3-MeOH) (9.1 mmol)

The reaction mixture was coloured immediately in red. The solution was maintained under agitation for 20 hours at room temperature. The reaction medium was then carried at a temperature of 40 °C precisely. 2 g of Tetrachloro-*p*-benzoquinone (8 mmol) were then added and the solution was maintained under agitation for one hour at 40 °C. The solvent was evaporated under reduced pressure. The resulting residue was purified by neutral alumina column chromatography.

A first column (7x20 cm), eluted by dichloromethane, 600 ml of a first fraction containing porphyrin were recovered and various undetermined impurities. This solution was evaporated up to 50 cm^3 and then purified again on a second chromatographic column.

This second column (7x20 cm), with toluene as eluent, 600 ml of a pink solution corresponding to the porphyrin were extracted. The porphyrin was recovered and recrystallized in dichloromethane. This reaction was between 15 and 20% yield.

Synthesis of porphyrin 119b:

Porphyrin **122b** (5 g, 6.9 mmol, 1 eq) was dissolved in 500 ml of dry dimethylformamide. Manganese diacetate tetrahydrate (4 g, 23.12 mmol, 3.5 eq) was then added to the solution. The reaction mixture was refluxed for 30 minutes. The mixture was then cooled to room temperature and the solution was poured into 500 ml of cold brine. A green precipitate was formed, filtered and washed with 2 L of distilled water. The resulting solid was dissolved in 1 L of ethanol. The solution was poured into 1 L of an aqueous solution of hydrochloric acid (6M). The obtained precipitate was filtered and washed with water. It was then dried under reduced pressure at room temperature for 6 hours. The desired manganoporphyrin **119b** was obtained in 78% yield (4.34 g).

Compounds 119a and 119c were synthesized according this procedure.

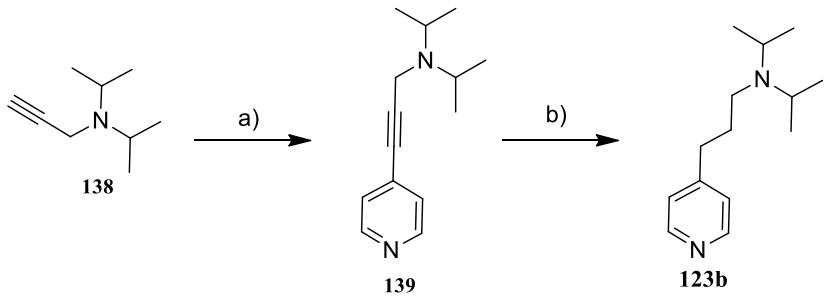
Analyses of manganoporphyrin 119b:

UV-visible: 479 nm (Soret, ε = 83947 L.mol $^{-1}$.cm^{-1}), 531 nm (ε = 4238 L.mol $^{-1}$.cm^{-1}), 584 nm (ε = 6869 L.mol $^{-1}$.cm^{-1}), 622 nm (ε = 9112 L.mol $^{-1}$.cm^{-1})

MS (MALDI-TOF): Calcd for *m/z* $C_{52}H_{36}ClMnN_4$ 807.26, Found 771.350 = $[M\text{-}Cl]^+$

2.2 Synthesis of compound 123b :

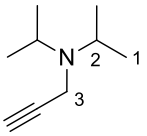
Compound **123b** was synthetized according to the following pathway:



*a) 4-bromopyridine hydrochloride **126**, CuI, NEt_3, DMF, 37%; b) Pd/C, H_2 EtOH, overnight, 68%*

Scheme 1: Synthesis of compound 123b

N, N-diisopropylprop-2-yn-1-amine 138 :



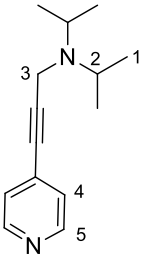
$C_9H_{17}N$
Exact Mass: 139,1361
Transparent liquid

Diisopropylamine (2.81 mL, 20 mmol, 1 eq), potassium carbonate (5.53 g, 40 mmol, 2 eq) and propargyl bromide (1.7 mL, 22 mmol, 1.1 eq) were added to 80 mL acetonitrile in a Schlenk flask. The reaction was stirred at 80°C for 18 hours. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was extracted with CH_2Cl_2 (30 mL) and a basic aqueous solution (3x30 mL NaOH 1M). The organic layer was washed with water (30 mL) and dried under $MgSO_4$. The solvent was removed under reduced pressure. The product is obtained with 32 % yield (890 mg).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 3.41 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, 2 x H-3), 3.30 – 3.08 (m, 2H, 2 x H-2), 2.13 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H, 1 x H-4), 1.09 (d, *J* = 6.5 Hz, 12H, 12 x H-1).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 71.3, 48.4 33.98, 20.5.[5]

N, N-diisopropyl-3-(pyridin-4-yl)-prop-2-yn-1-amine 139:



$C_{14}H_{20}N_2$
Exact Mass: 216.1626
Yellow liquid

4 bromopyridine hydrochloride (898 mg, 4.62 mmol, 1 eq), iodide copper (44 mg, 0.231 mmol, 5%), triethylamine (3.8 mL, 27.72 mmol, 6 eq), propargyl amine (707.1 mg, 5.082 mmol, 1.1) and $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (162 mg, 0.231 mmol, 5%) were solubilized in dry DMF (9 mL). The reaction was followed on TLC at room temperature. After the reaction was complete, the solvent was

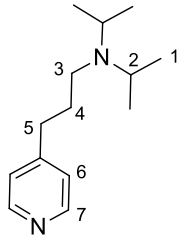
[5] Wang, D.-C.; Wang, H.-X.; Hao, E.-J.; Jiang, X.-H.; Xie, M.-S.; Qu, G.-R.; Guo, H.-M., *Advanced Synthesis & Catalysis* **2016,** *358* (3), 494-499.

removed under reduced pressure at 20°C. The residue was dissolved in dichloromethane (30 mL), and the organic layer was washed with aqueous HCl 1N (2 x 20 mL). The aqueous layers were collected, and the acid solution was basified with a solution of aqueous NaOH 1N until pH 8. A new extraction with the basic solution was carried out with (3 x 30 mL). The organics layers were dried with $MgSO_4$. The product was obtained with 37 % yield (369.5 mg).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.59 (d, *J* = 4.2 Hz, 2H, 2x H-5), 7.25 (d, *J* = 4.2 Hz, 2H, 2 x H-4), 3.66 (s, 2H, 2 x H-3), 3.22 (q, *J* = 11.3, 5.8 Hz, 2H, 2 x H-2), 1.15 (d, *J* = 6.5 Hz, 12H, 12 x H-1).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 132.1, 128.5, 48.7, 35.0, 20.7.

N, N-diisopropyl-3-(pyridin-4-yl)propan-1-amine 123b:



$C_{14}H_{20}N_2$
Exact Mass: 220.1939
Brown oil

Pyridine alkyne **139** (85 mg, 0.393 mmol, 1 eq) was dissolved in 1.5 mL EtOH. Pd/C (16 mg, 0.0152 mmol) was added. The medium was degassed three times under argon before putting the reaction under H_2. After stirring the reaction at room temperature overnight, Pd/C was filtered. The solvent was then removed under reduced pressure. The product was obtained with 68% yield (86.5 mg).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.60 – 8.36 (m, 2H, 2 x H-7), 7.17 – 7.02 (m, 2H, 2 x H-6), 2.99 (m, 2H, 2 x H-2), 2.59 (dd, *J* = 15.3, 7.3 Hz, 2H, 2 x H-5), 2.52 – 2.33 (m, 2H, 2 x H-3), 1.88 – 1.54 (m, 2H, 2 x H-4), 0.98 (d, *J* = 6.6 Hz, 12H, 4 x CH_3).

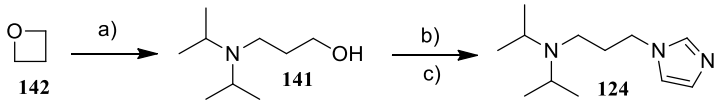
^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 155.2, 149.8, 128.5, 58.1, 54.4, 32.5, 27.1, 22.4.

HRMS (ESI^+): Calcd for *m/z* $C_{14}H_{20}N_2$ 220.1939, Found 221.2019 [$M+H^+$]

IR ν_{max} (cm^{-1}) : 2972 (C-H), 1600 (C=C)

2.3 Synthesis of compound 124 :

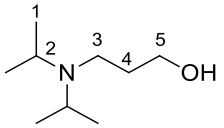
Compound **124** was synthetized according to the following pathway.



a) diisopropylamine, $LiBF_4$, acetonitrile, 80°C, 24 hours; b) paratoluene sulfonyle chloride, N, N-Diisopropylethylamine (DIPEA), acetonitrile, rt, 2 hours; c) imidazole, K_2CO_3, rt, 6 heures, 40%

Scheme 2: Synthesis of compound 124

3-(diisopropylamino)propan-1-ol 141



$C_9H_{21}NO$
Exact Mass: 159,1623
Translucid oil

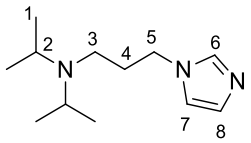
Diisopropylamine (1.4 mL, 10.0 mmol, 2 eq) and $LiBF_4$ (936 mg, 10.0 mmol, 2 eq) were added to a solution of oxetane (0.33 mL, 5.0 mmol, 1 eq) in dry CH_3CN (5.0 ml) at room temperature. The reaction mixture was stirred at 80°C overnight. The reaction mixture was then diluted with 36% aqueous NH_3 (20 mL) and brine (10 mL). The resulting aqueous phase was extracted with $CHC1_3$ (3x40 mL). The organic layers were collected and dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure and the residue was purified by distillation to give the desired compound in 90% yield (716 mg).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 3.83 (t, *J* = 5.1 Hz, 2H, 2 x H-5), 3.29 – 3.02 (m, 2H, 2 x H-2), 2.73 (t, *J* =5.1 Hz, 2H, 2 x H-3), 2.59 (s, OH), 1.68 (q, *J* = 5.1 Hz, 2H, 2 x H-4), 1.07 (d, *J* = 6.7 Hz, 12H, 4 x CH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 64.1, 46.6, 44.2, 26.2, 19.6.[6]

[6] Chini, M.; Crotti, P.; Favero, L.; Macchia, F., *Tetrahedron Lett.* **1994,** *35* (5), 761-764.

3-(1H-imidazol-1-yl)-N,N-diisopropylpropan-1-amine 124



$C_{12}H_{23}N_3$
Exact Mass: 209,1892
Translucid oil

Compound **141** (5 g, 31.4 mmol, 1 eq) and *N*, *N*-diisopropylethyl amine (DIPEA) (6.3 mL, 37.7 mmol, 1.2 eq) were added to anhydrous acetonitrile (200 mL) in a Schlenk flask. Tosyl chloride (7.18 g, 37.7 mmol, 1.2 eq) was then added to the mixture at room temperature. Potassium carbonate (4.34 g, 31.4 mmol, 1 eq) and imidazole (8.55 g, 125.6 mmol, 4 eq) were added to the mixture and the solution was stirred at 70°C for 3 hours. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was extracted with dichloromethane (30 mL) and water (3x20 ml). The organic layer was washed with brine (20 mL) and dried over anhydrous magnesium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was chromatographied on silica gel (dichloromethane/methanol, 96/4 to 80/20, v/v). The desired compound **124** was obtained in 40% yield (2.62 g).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.41 (s, 1H, H-6), 6.99 (s, 1H, H-7), 6.85 (s, 1H, H-8), 3.90 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, 2 x H-3), 2.92 (m, 2H, 2 x H-2), 2.37 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, 2 x H-5), 1.79 (m, 2H, 2 x H-4), 0.91 (d, *J* = 6.6 Hz, 12H, 4 x CH_3).

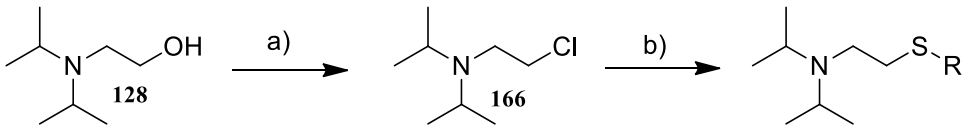
^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 136.74 (s), 128.9, 118.3, 47.6, 44.4, 41.2, 31.1, 20.2.

HRMS (ESI^+): Calcd for *m/z* $C_{12}H_{23}N_3$ 209.1822, Found 210.1969 [$M+H^+$]

IR ν_{max} (cm^{-1}): 1631 (C=C), 1036 (C-N)

2.4. Synthesis of compounds 164, 165 and 175:

Compounds **164**, **165 and 175** were synthetized according to the following pathway.

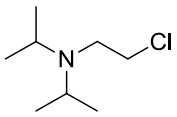


164: R = Et
165: R = CH_2CO_2Et
175: R = $COCH_3$

a) 2-(diisopropylamino)-ethanol, *$SOCl_2$, chloroform, reflux, 4 hours; b) Compound **164** (R = Et) : DMF, ethanethiolate, 2 days, rt; Compound **165** (R = CH_2CO_2Et): ethyl thioglycolate, K_2CO_3, acetone, 2 days, rt; Compound **175** (R = $COCH_3$), K_2CO_3, acetone, overnight, rt*

*Scheme 3: Synthesis of compounds **164**, **165** and **175***

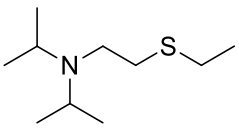
N-(2-chloroethyl)-N-isopropylpropan-2-amine 166



$C_8H_{18}ClN$
Exact Mass: 163.1128
Brown oil

2-(diisopropylamino)-ethanol (8.8 mL, 50 mmol, 1 eq) was added in 75 mL of $CHCl_3$. The mixture was then added dropwise to a cold solution (0°C) of thionyl chloride (10 ml, 137.8 mmol, 2.75eq) in 40 mL of $CHCl_3$. During the addition, the mixture became viscous and a sticky white solid was formed. When the addition was complete, the mixture was refluxed for 4 hours. The solvent was removed under reduced pressure at 50°C to give a pale-yellow oil. The crude product was directly used without more purification to the next steps.

N-(2-(ethylthio)ethyl)-N-isopropylpropan-2-amine 164



$C_{10}H_{23}NS$
Exact Mass: 189,1551
Brown oil

Compound **166** (2.24 g, 9 mmol, 1eq) was added in 5 mL of DMF. The mixture was then added to a stirred solution of sodium ethanethiolate (23 mmol, 2.5 eq) in 12 mL methanol. The solution

was at room temperature for 2 additional days. The mixture was then extracted with dichloromethane (3x25 mL). The organic layers were collected and dried over anhydrous sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure to give the desired product as a brown oil in 82% yield (1.70 g).

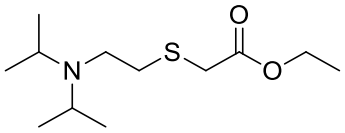
^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 2.95 (m, 2H, 2 x CH), 2.61 – 2.39 (m, 6H, 3 x CH_2), 1.20 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, $SCH_2C\underline{H_3}$), 0.94 (d, *J* = 6.5 Hz, 12H, 2 x 2 x $CH(C\underline{H_3})_2$).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 49.1, 46.1, 33.5, 26.1, 20.8, 15.0.

HRMS (ESI^+): Calcd for *m/z* $C_{10}H_{23}NS$ 189.1551, Found 190.1630 [$M+H^+$]

IR ν_{max} (cm^{-1}): 2964 (C-H), 1158 (C-N)

Ethyl 2-((2-(diisopropylamino)ethyl)thio)acetate 165



$C_{12}H_{25}NO_2S$
Exact Mass: 247,1606
Brown oil

Ethyl thioglycolate (2.14 mL, 23 mmol, 1 eq) was added to a solution of potassium carbonate (7.8 g, 57.5 mmol, 1.5 eq) in 50 mL of acetone. The solution was stirred overnight at room temperature. Compound **166** (3.76 g, 23 mmol, 1 eq) was then added at room temperature, and the mixture was stirred at 60°C for 2 days. After cooling, the mixture was extracted with dichloromethane (3x20 mL). The organic layers were collected and dried over anhydrous sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure to give the desired product as a brown oil in 71% yield (4.03 g).

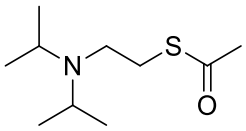
^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.13 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH_2), 3.19 (s, 2H, SCH_2CO), 3.03 – 2.83 (q, *J* = 6.4 Hz, 2H, 2 x CH), 2.58 (s, 4H, NCH_2CH_2S), 1.22 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, $OCH_2C\underline{H_3}$), 0.94 (d, *J* = 6.5 Hz, 12H, 2 x 2 x $CH(C\underline{H_3})_2$).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 170.7, 61.2, 48.8, 45.3, 34.0, 33.8, 20.8, 14.1.

HRMS (ESI^+): Calcd for *m/z* $C_{10}H_{23}NS$ 247.1606, Found 248.1674 [$M+H^+$]

IR ν_{max} (cm^{-1}): 2966 (C-H), 1735(C=O), 1128 (C-N)

S-(2-(diisopropylamino)ethyl) ethanethioate 175



$C_{10}H_{21}NOS$
Exact Mass: 203,1344
Yellow oil

Potassium thioacetate (3.43 g, 30 mmol, 1 eq) was added to a solution of compound **166** (4.94 g, 30 mmol, 1 eq) in 50 mL of acetone. The solution was stirred overnight at room temperature. The solvent was removed under reduced pressure, and the crude product was taken up in water (15 mL) and extracted with dichloromethane (3x20 mL). The organic layers were collected and dried over anhydrous sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure to give the desired product as a yellow oil in 30% yield (1.82 g).

^{1}H NMR (300 MHz, D_2O) δ 3.65 (m, 2H, $NCH_2C\underline{H_2}S$), 3.54 – 3.36 (m, 2H, $NC\underline{H_2}CH_2S$), 3.16 – 2.92 (m, 2H, 2 x CH), 2.31 (s, 3H, $COCH_3$), 1.50 (d, *J* = 6.5 Hz, 6H, 2 x $CH(C\underline{H_3})_2$).

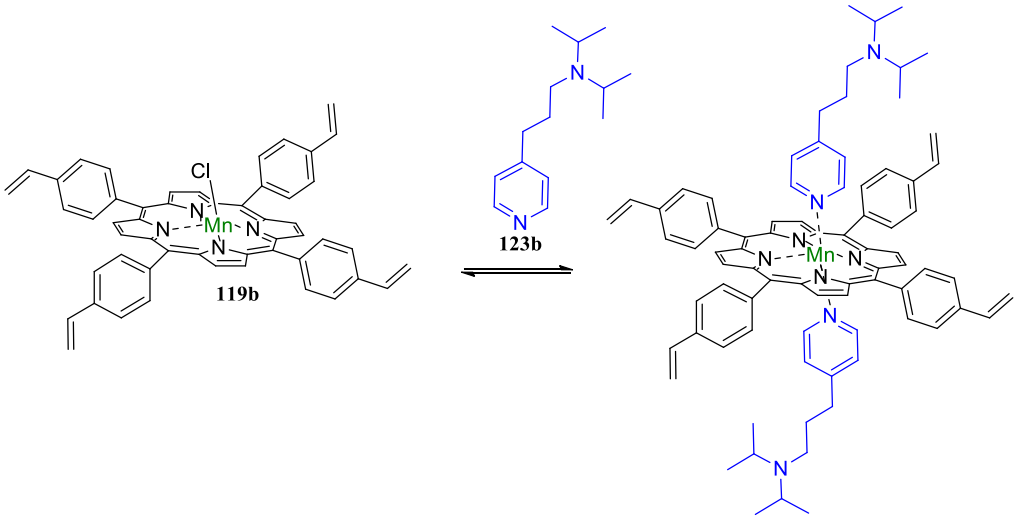
^{13}C NMR (75 MHz, D_2O) δ 199.8, 55.3, 46.2, 29.7, 25.5, 17.8, 16.1.

HRMS (ESI^+): Calcd for *m/z* $C_{10}H_{21}NOS$ 203.1344, Found 204.1417 [$M+H^+$]

IR ν_{max} (cm^{-1}): 1693 (C=O), 1152 (C-N)

3. Procedure of complexation of manganoporphyrin 123b with template

3.1 Procedure of complexation of manganoporphyrin 123b with compound 119b



Preparation of template stock solutions

Solution A: compound 123b (220.2 mg) was added in chloroform (100 mL). The concentration of the solution A was 1.10^{-2} M.

Preparation of manganoporphyrin stock solution

Solution B: compound 119b (8 mg) was added in chloroform (2.5 mL). The concentration of the solution was 10^{-3} mM.

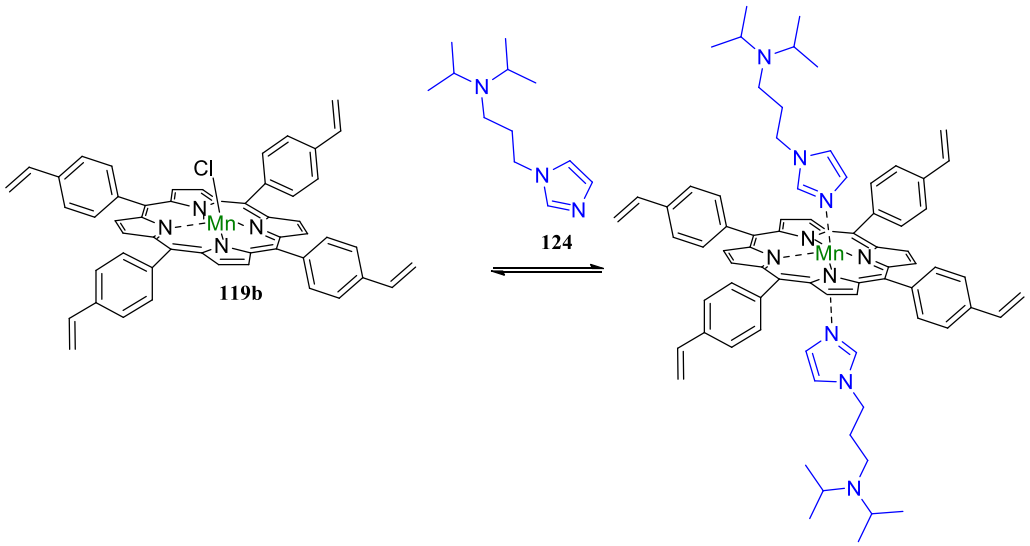
Complexation studies

The complexation studies were performed using samples S1-S9 (Table 1). They were carried out at room temperature (25 ° C) and monitored by UV-Visible analysis in following the characteristic shift of the Soret band (480 nm) for the manganoporphyrin **119b**. A hypsochromic displacement of 2 nm on the Soret Band was observed corresponding to "manganoporphyrin **119b** / template **123b**" complex after the addition of 1400 equivalents of compound **123b** versus compound **119b**.

Samples contents for complexation experiments oh template 123b

	S1	***S2***	***S3***	***S4***	***S5***	***S6***	***S7***	***S8***	***S9***
Compound **119b** (mM)	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}
Compound **123b** (mM)	0.1	0.2	0.6	1	2	6	10	14	18
Solution A (µl)	10	20	60	100	200	600	-	-	-
Amount **123b** (mg)	–	–	–	–	–	-	2.2	3	3.96
Solution B (µL)	10	10	10	10	10	10	10	10	10
$CHCl_3$ (µl)	980	970	930	890	700	490	990	990	990

3.2 Procedure of complexation of manganoporphyrin 119b with compound 124



Preparation of template stock solutions

Solution A: compound 124 (100 mg) was added in chloroform (10 mL). The concentration of the solution A was 9.5 mM.

Solution B: compound 124 (100 mg) was added in chloroform (2.5 mL). The concentration of the solution was 191.2 mM.

Preparation of manganoporphyrin stock solution

Solution C: compound 119b (8 mg) was added in chloroform (2.5 mL). The concentration of the solution was 10^{-3} mM.

Complexation studies

The complexation studies were performed using samples S1-S8 (Table 2). They were carried out at room temperature (25 ° C) and monitored by UV-Visible analysis in following the characteristic shift of the Soret band (480 nm) for the manganoporphyrin **119b**. A hypsochromic displacement of 2 nm on the Soret Band was observed corresponding to "manganoporphyrin **119b** / template **124**" complex after the addition of 100 equivalents of compound **124** versus compound **119b**.

Samples contents for complexation experiments of template 124

	S1	***S2***	***S3***	***S4***	***S5***	***S6***	***S7***	***S8***
Compound **119b** (mM)	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}
Compound **124** (mM)	0.2	0.6	1	2	6	10	14	18
Solution A (µl)	21.0	63.2	105	210.5	632	–	–	–
Solution B (µl)	–	–	–	–	–	52.3	73.2	94.1
Solution C (µl)	10	10	10	10	10	10	10	10
$CHCl_3$ (µl)	969.0	926.8	885	779.5	358	937.7	916.8	895.9

4. Polymers

4.1 Moleculary Imprinted Polymer (MIP-SA, MIP-AA) with compound 123b

Manganoporphyrin **119b** (2.10^{-3} mmol, 1.61 mg, 1 eq) and compound **123b** (616.5 mg, 2.8 mmol, 1400 eq) were dissolved in chloroform (1 mL) at room temperature. The complexation reaction was monitored by UV-visible until completion, prior the polymerization step. Divinylbenzene (1 mmol, 0.142 ml, 500 eq) and the radical initiator azobisisobutyronitrile (AIBN) (0.073 mmol, 12 mg, 0.06 eq) were then added under an argon atmosphere. For MIP-AA, acrylic acid (2.8 mmol, 192 µL, 1400 eq) was added in the reaction media. The polymerization reaction was left at 65°C for 5h. Once the polymerization completed, the resulting green polymer was washed four times with chloroform (15 mL). It was crushed and passed a 63 µm sieve.

4.2 Moleculary Imprinted Polymer (MIP-SA, MIP-AA) with compound 124 and Non Imprinted Polymer syntheses (NIP)

Manganoporphyrin **119b** (2.10^{-3} mmol, 1.61 mg, 1 eq) and compound **124** (41.8 mg, 0.2 mmol, 100 eq) were dissolved in chloroform (1 mL) at room temperature. The complexation reaction was monitored by UV-visible until completion, prior the polymerization step. Divinylbenzene (0.142 ml, 1 mmol, 500 eq) and the radical initiator azobisisobutyronitrile (AIBN) (12 mg, 0.073 mmol, 0.06 eq) were then added under an argon atmosphere. For MIP-AA, acrylic acid (0.2 mmol, 13.7 µL, 100 eq) was added in the reaction media. The polymerization reaction was left at 65°C for 5h. Once the polymerization completed, the resulting green polymer was washed four times with chloroform (15 mL). It was crushed and passed a 63 µm sieve.

The NIP (control) was obtained under the same experimental conditions for polymerization than MIP without adding compound **124**.

4.3Template extraction from MIP-SA

200 mg of the imprinted polymers were washed with 30 mL of chloroform, then 50 ml of solution of HCl 6N. The acidic solution was basified with NaOH solution (6N) until pH=8 then after extraction with dichloromethane (3x40 mL), the template (compound 132) was recovered with 90% yield and confirmed by NMR ^{1}H.

4.4Template extraction from MIP-AA

200 mg of the imprinted corresponding nanospheres were treated with 20 ml of a 1:1 (v/v) mixture of MeOH/ NaOH 5M at reflux for 4 days. The solid was recovered by centrifugation for a total time of 10 min. This washing is repeated three times to make sure that all the template was extracted from the polimeric matrix. After recuperation of the solid by centrifugation, the polymer was washed several times with water, dried overnight in vacuum to give the corresponding imprinted polymer. The extraction was 64% yield, confirmed by NMR ^{1}H and the product was isolated.

4.5Binding parameters

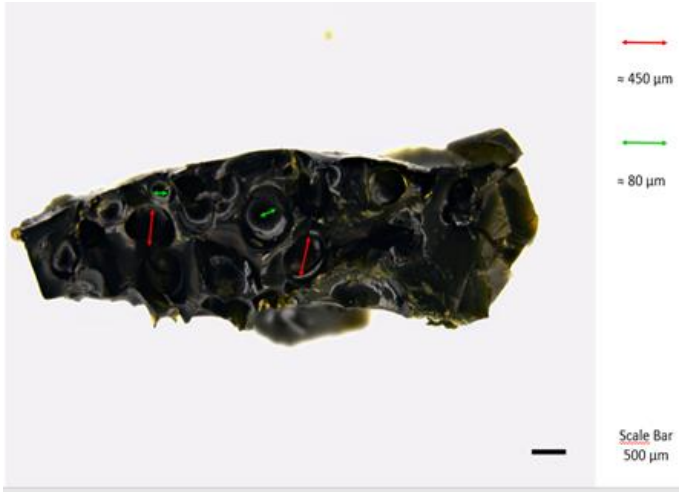
Binding parameters of MIP and NIP

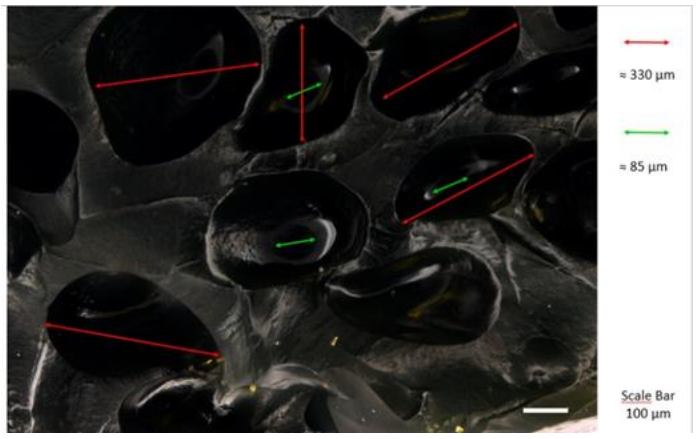
	m	$N_{kmin\text{-}kmax}$ [µmol.g^{-1}]	$K_{kmin\text{-}kmax}$ [M^{-1}]	R^2
MIP	1.0294	4977	31.7277	0.9888
NIP	0.95045	1805	26.8537	0.9897

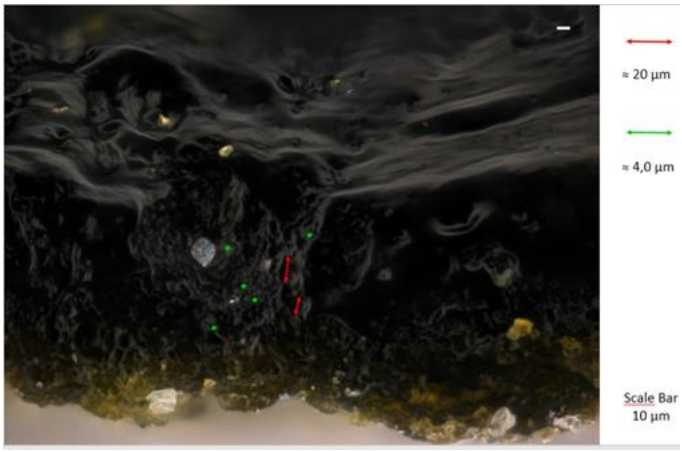
4.6 Confocal macroscopy of MIP

To visualize the fluorescence of the porphyrin polymer, a MIP fragment was illuminated with a 405-nm wavelength light by means of a laser diode through a confocal laser scanning macroscope equipped with a x2 dry objective (working distance: 39 mm, diameter: 58 mm, Leica Microsystems), and fluorescence emission was detected from 410 to 750 nm. To finely resolve the structure of the polymer, images were acquired with an additional optical zoom factor of 1.8. Resulting image is the projection of 32 different focal planes along the z-axis (step size: 211 µm; size-depth : 6.5 mm). The pore size is between 330 and 4 µm.

Confocal macroscopy of MIP







4.7 Template 124 and counterparts 164 and 165 binding

Incubations were made with 10 mg of MIP (theoretical amount of active sites: 7 μmol), in 1 mL of compound **124**, **164** or **165** solutions (0.4, 0.7, 1.4, 2.8, 4.3, 7.1, 21.4, 28.6 and 42.8 equivalents *versus* theoretical amount of active sites) in a mixture of water/methanol (1/1, v/v) and incubated at 22°C for 24h. The vials were then centrifuged during 5 min at 6000 rpm, and the resulting supernatants were transferred on vials for triplicate HPLC analyses. The concentration of the missing compound **124**, **164** or **165** in the mixture solution compared to the initial concentration was referred as that portion being absorbed by MIP.

All calibration plots displayed $r^2 > 0.997$.

*Imprinting effect of template **124***

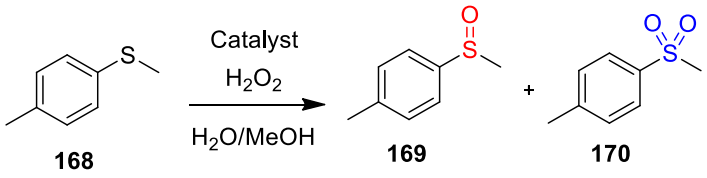
Compound 124 (mM)	***3***	***5***	***10***	***20***	***30***	***50***	***150***	***200***
IF MIP	5.95	6.16	5.49	5.19	5.22	5.11	5.22	5.89

*Selectivity factors (SF) of counterparts **164** and **165** related to template **124***

Compound (mM)	***10***	***20***	***30***	***50***	***200***
*SF (compound **164**)*	0.41	–	0.33	0.66	0.57
*SF (compound **165**)*	1.09	0.50	0.53	1.06	0.96

5. Oxidation of sulfur derivatives

5.1 Oxidation of methyl *p*-tolyl sulfide



5.1.1 Homogeneous conditions

Methyl *p*-tolyl sulfide **168** (134 µL, 1 mmol, 1 eq) and MnTDCPPCl **119c** were added to 5 mL of a mixture methanol/water (1/1, v/v) under an argon atmosphere in a necked flask (25 mL) with magnetic stirring. Hydrogen peroxide (172 µL, 2 mmol, 2 eq) was then added to the reaction mixture. The mixture was stirred at 37°C.

Experiments were performed using catalyst concentrations varying from 0.25% to 3 mol % *versus* substrate.

Catalyst amounts

Entry	***1***	***2***	***3***	***4***
Catalyst (µmol / mg)	2.5 / 2.43	5 / 4.9	10 / 9.8	30 / 29.4
Catalyst (mol %)*	0.25	0.50	1.00	3.00

** versus methyl p-tolyl sulfide*

At 3 mol % of catalyst, two other experiments were carried out:

- by adding hydrogen peroxide (86 µL, 1 mmol, 1 eq) after 50 min of reaction,
- by successively adding hydrogen peroxide (86 µL, 1 mmol, 1 eq) and MnTDCPPCl (9.8 mg, 10 µmol) after 60 min of reaction.

All experiments were performed in triplicate.

The reaction was monitored by ^{1}H NMR. For each NMR analysis, a sample was prepared by adding 100 µL of the reaction medium in 500 µL of MeOD. At different time points for up to 7 h, the monitoring was performed by integrations of the residual sulfide signals (CH_3, singlets, 2.29 and 2.43 ppm) and the sulfoxide **169** signals (CH_3, singlets, 2.42 and 2.85 ppm).

5.1.2 Heterogeneous conditions

Methyl *p*-tolyl sulfide **168** (134 µL, 1 mmol, 1 eq) and MIP (30 mg, 0.8 mol %) * were added to 5 mL of a mixture methanol/water (1/1, v/v) under an argon atmosphere in a necked flask (25 mL) with magnetic stirring. Hydrogen peroxide (172 µL, 2 mmol, 2 eq or 344 µL, 4 mmol, 4 eq) was then added to the reaction mixture. The mixture was stirred at 37°C.

** The concentration of catalytic sites was obtained by ICPMS, measuring the released manganese after lixiviation of the polymer in acidic medium and assuming that the whole manganese in the polymer is catalytically active. In this way, a maximal value is obtained.*

All experiments were performed in triplicate.

The reaction was monitored by ^{1}H NMR. For each NMR analysis, a sample was prepared by adding 100 µL of the reaction medium in 500 µL of MeOD. A filtration was carried out to remove the insoluble residue. At different time points for up to 4 h, the monitoring was performed by integrations of the residual sulfide signals (CH_3, singlets, 2.29 and 2.43 ppm) and the sulfoxide signals (CH_3, singlets, 2.42 and 2.85 ppm).

5.1.3 Catalytic activity of MIP

Methyl *p*-tolyl sulfide **168** and MIP or NIP (30 mg, 0.8%) were added to 5 mL of a mixture methanol/water (1/1, v/v) under an argon atmosphere in a necked flask (25 mL) with magnetic stirring. Hydrogen peroxide (4 eq *versus* methyl *p*-tolyl sulfide) was then added to the reaction mixture. The mixture was stirred at 37°C.

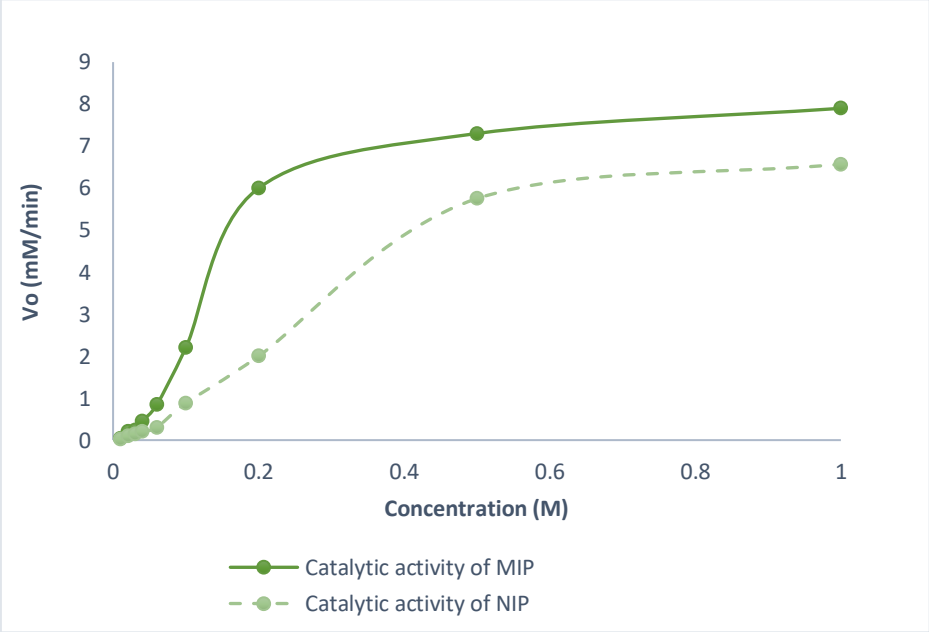
Experiments were performed using substrate concentrations varying from 10^{-2} M to 1 M.

Substrate and oxidant amounts

	S1	***S2***	***S3***	***S4***	***S5***	***S6***	***S7***	***S8***	***S9***
Compound **168** (M)	10^{-2}	2.10^{-2}	3.10^{-2}	4.10^{-2}	6.10^{-2}	10^{-1}	2.10^{-1}	5.10^{-1}	1
Hydrogen peroxide (M)	4.10^{-2}	8.10^{-2}	12.10^{-2}	16.10^{-2}	24.10^{-2}	4.10^{-1}	8.10^{-1}	2	4
Compound **168** (µL)	13.0	13.0	20	27	16	27	54	134.5	270
Hydrogen peroxide (µL)	20	32.3	52	69	41	69	137	343.8	687
Solvent (mL)	10	5	5	5	2	2	2	2	2

The steady state rate of the reaction was estimated by measuring the concentration of generated sulfoxide **169** at a fixed reaction time of 15 minutes for MIP and NIP. The reaction was monitored by ^{1}H NMR. For each NMR analysis, a sample was prepared by adding 100 µL of the reaction medium in 500 µL of MeOD. A filtration was carried out to remove the insoluble residue. At 15 min, the monitoring was performed by integrations of the residual sulfide **170** signals (CH_3, singlets, 2.29 and 2.43 ppm) and the sulfoxide **169** signals (CH_3, singlets, 2.42 and 2.85 ppm).

Initial reaction rate at different concentrations of methyl p-tolyl sulfide with MIP and NIP



The kinetic parameters for the oxidation of compound **168** were obtained by adjusting data to the Hill equation.

Kinetic parameters of methyl p-tolyl sulfide oxidation

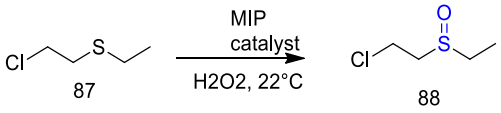
	n	***Vmax* (*mM.min*$^{-1}$)**	***K*$_s$* (*M*)**	***Kcat* (*min*$^{-1}$)**	***R*^{2}**
MIP	**3.00** ± 0.25	7.71 ± 0.09	(**13.62** ± 0.48) 10^{-2}	214	0.9887
NIP	**2.53** ± 0.30	**6.90** ± 0.08	(**28.05** ± 1.84) 10^{-2}	97	0.9947

.

5.1.4 Recyclability studies of the MIP catalyst

After completion of each experiment, the reaction mixture was centrifuged during 5 minutes at 6000 rpm. The supernatant was carefully removed, and the MIP was directly reloaded to the next oxidation reaction under the experimental conditions described in section 5.1.2 by using 4 eq of hydrogen peroxide and the monitoring was performed for up 160 min.

5.2 Oxidation of 2-chloroethyl ethyl sulfide (CEES)



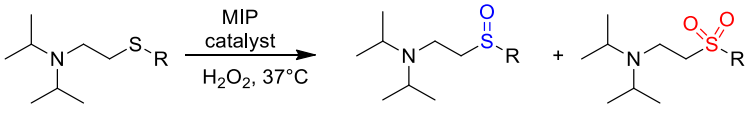
2-chloroethyl ethyl sulfide (116.5 mg, 1 mmol, 0.2M, 1 eq) and MIP (30 mg, 0.8 mol %) * were added to 5 mL of a mixture methanol/water (1/1, v/v) under an argon atmosphere in a necked flask (25 mL) with magnetic stirring. Hydrogen peroxide (85.9 µL, 1 mmol, 1 eq) was then added to the reaction mixture. The mixture was stirred at 22°C.

** The concentration of catalytic sites was obtained by ICPMS, measuring the released manganese after lixiviation of the polymer in acidic medium and assuming that the whole manganese in the polymer is catalytically active. In this way, a maximal value is obtained.*

Experiment was performed in triplicate.

The reaction was monitored by GC-MS. For each GC-MS analysis, a sample was prepared by adding 100 µL of the reaction medium in 500 µL of MeOH. A filtration was carried out to remove the insoluble residue. At different time points for up to 2 h, the monitoring was performed by integration of the residual sulfide **87** peak at 3.75 min and the sulfoxide **88** peak at 5.46 min.

5.3 Oxidation of compounds 164 and 165



164: R = Et
165: R = CH_2CO_2Et

5.3.1 Compound 164

Compound **164** (189.15 mg, 1 mmol, 0.2 M, 1 eq) and MIP (30 mg, 0.8 mol %)* were added to 5 mL of solvent (1/1, v/v) under an argon atmosphere in a necked flask (25 mL) with magnetic stirring. Hydrogen peroxide (344 µL, 4 mmol, 4 eq) was then added to the reaction mixture. The mixture was stirred at 37°C.

** The concentration of catalytic sites was obtained by ICPMS, measuring the released manganese after lixiviation of the polymer in acidic medium and assuming that the whole manganese in the polymer is catalytically active. In this way, a maximal value is obtained.*

Experiment was performed in triplicate and in three different solvents: water, methanol and methanol/water (1/1, v/v).

The reaction was monitored by GC-MS. For each GC-MS analysis, a sample was prepared by adding 100 µL of the reaction medium in 500 µL of MeOH. A filtration was carried out to remove the insoluble residue. At different time points for up to 2 h, the monitoring was performed by integration of the residual sulfide **164** peak at 7.28 min and the sulfoxide **171** and sulfone **172** peaks respectively at 7.38 min and 9.69 min.

5.3.2 Compound 165

Compound **165** (247.16 mg, 1 mmol, 0.2 M, 1 eq) and MIP (30 mg, 0.8 mol %)* were added to 5 mL of a mixture methanol/water (1/1, v/v) under an argon atmosphere in a necked flask (25 mL) with magnetic stirring. Hydrogen peroxide (344 µL, 4 mmol, 4 eq) was then added to the reaction mixture. The mixture was stirred at 37°C.

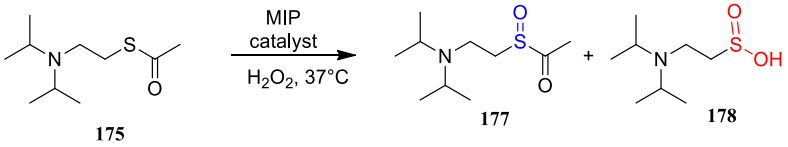
** The concentration of catalytic sites was obtained by ICPMS, measuring the released manganese after lixiviation of the polymer in acidic medium and assuming that the whole manganese in the polymer is catalytically active. In this way, a maximal value is obtained.*

Experiment was performed in triplicate.

The reaction was monitored by GC-MS. For each GC-MS analysis, a sample was prepared by adding 100 µL of the reaction medium in 500 µL of MeOH. A filtration was carried out to remove the insoluble residue. At different time points for up to 2 h, the monitoring was performed by integration of the residual sulfide **165** peak at 7.32 min and the sulfoxide **173** and sulfone **174** peaks respectively at 7.93 min and 11.19 min.

For both substrates **164** and **165**, MS analyses of sulfoxide and sulfone products showed a fragment with a base peak at *m/z* = 114 that corresponds to the cation $(C_7H_{16}N)^+$, *i.e.* the diisopropylamine moiety.

5.4 Oxidation of compound 175



Compound **175** (203.13 mg, 1 mmol, 0.2 M, 1 eq) and MIP (30 mg, 0.8 mol %)* were added to 5 mL of water under an argon atmosphere in a necked flask (25 mL) with magnetic stirring. Hydrogen peroxide (344 µL, 4 mmol, 4 eq) was then added to the reaction mixture. The mixture was stirred at 37°C.

** The concentration of catalytic sites was obtained by ICPMS, measuring the released manganese after lixiviation of the polymer in acidic medium and assuming that the whole manganese in the polymer is catalytically active. In this way, a maximal value is obtained.*

Experiment was performed in triplicate.

The reaction was monitored by GC-MS. For each GC-MS analysis, a sample was prepared by adding 100 µL of the reaction medium in 500 µL of MeOH. A filtration was carried out to remove the insoluble residue. At different time points for up to 2 h, the monitoring was performed by integration of the residual sulfide **175** peak at 6.02 min and the sulfoxide **177** and sulfinic acid **178** peaks respectively at 6.26 min and 9.46 min.

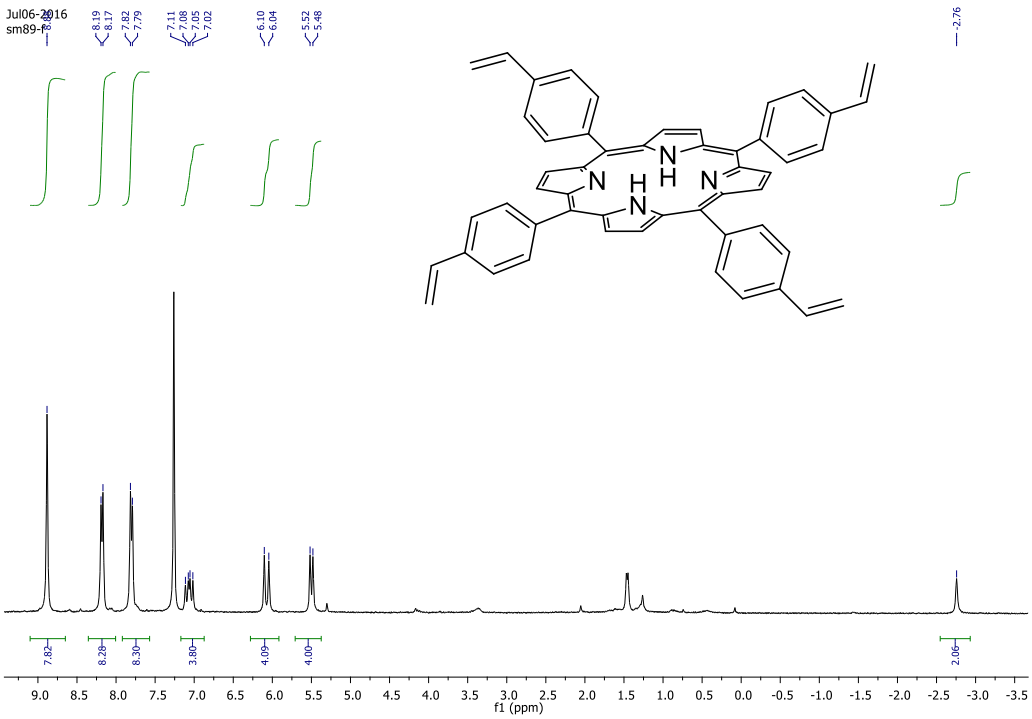
The MS analysis of sulfoxide and sulfinic acid showed a fragment with a base peak at *m/z* = 114 that corresponds to the cation $(C_7H_{16}N)^+$, *i.e.* the diisopropylamine moiety.

In addition to that, a fragment with a peak at *m/z* = 127 that corresponds to the radical cation $(C_8H_{17}N)^{+\bullet}$ was observed on the spectrum of sulfinic acid.

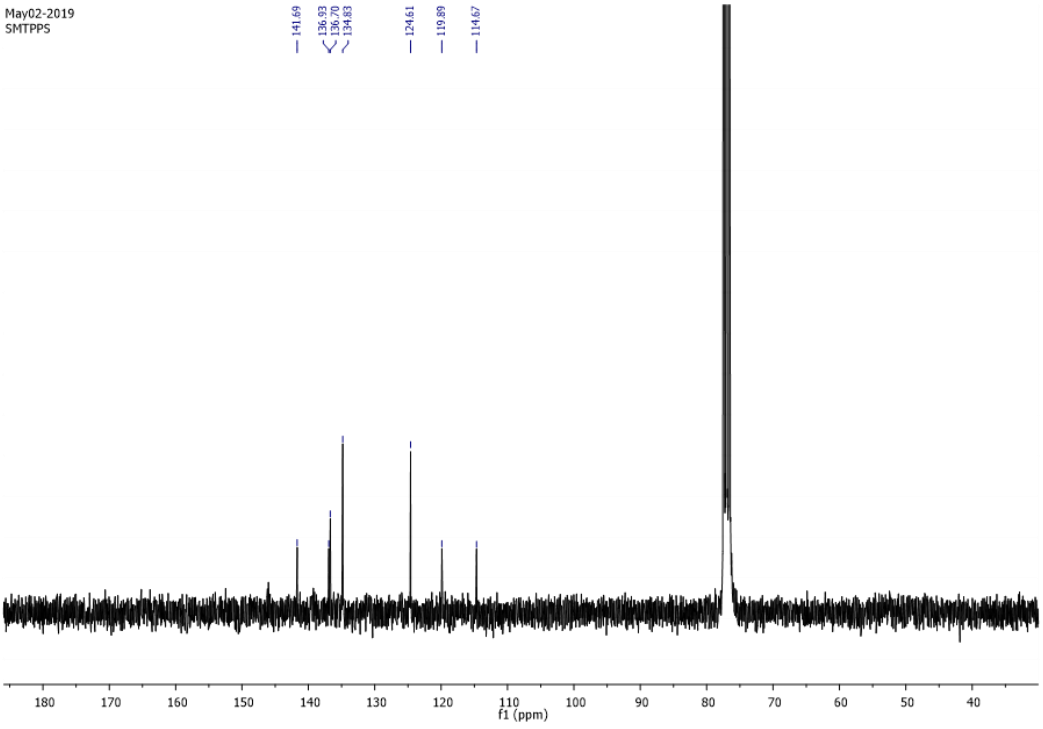
6. Routine Spectra analysis

6.1 Compound 122b

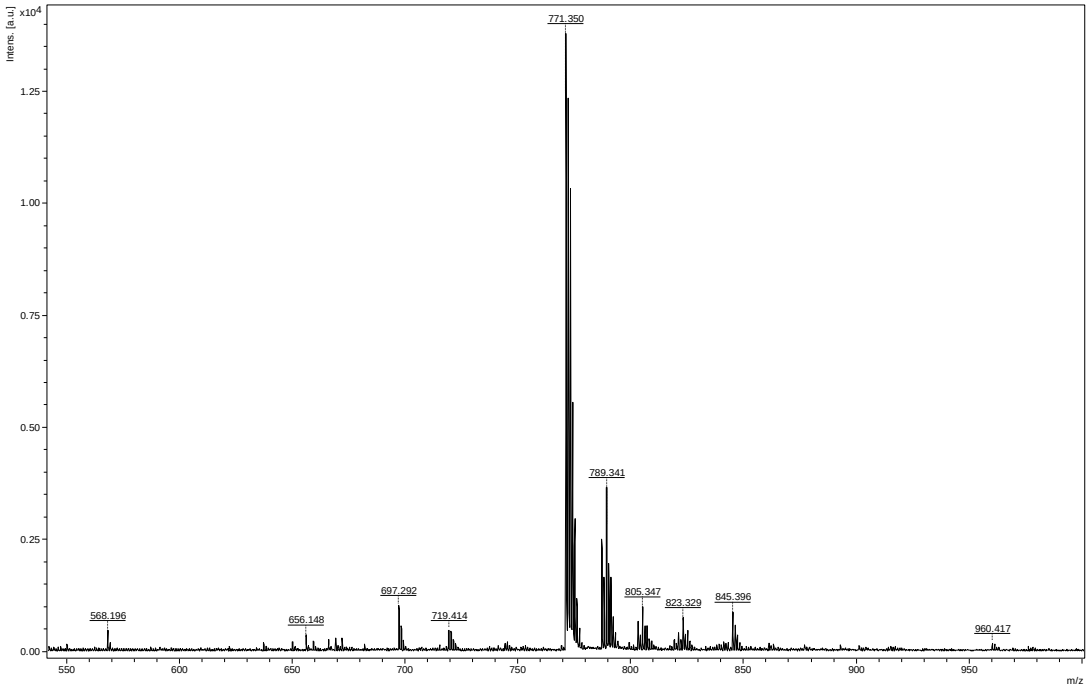
6.1.1 ^{1}H spectrum of non-metalated compound 122b



6.1.2 ^{13}C spectrum of non-metalated compound 122b

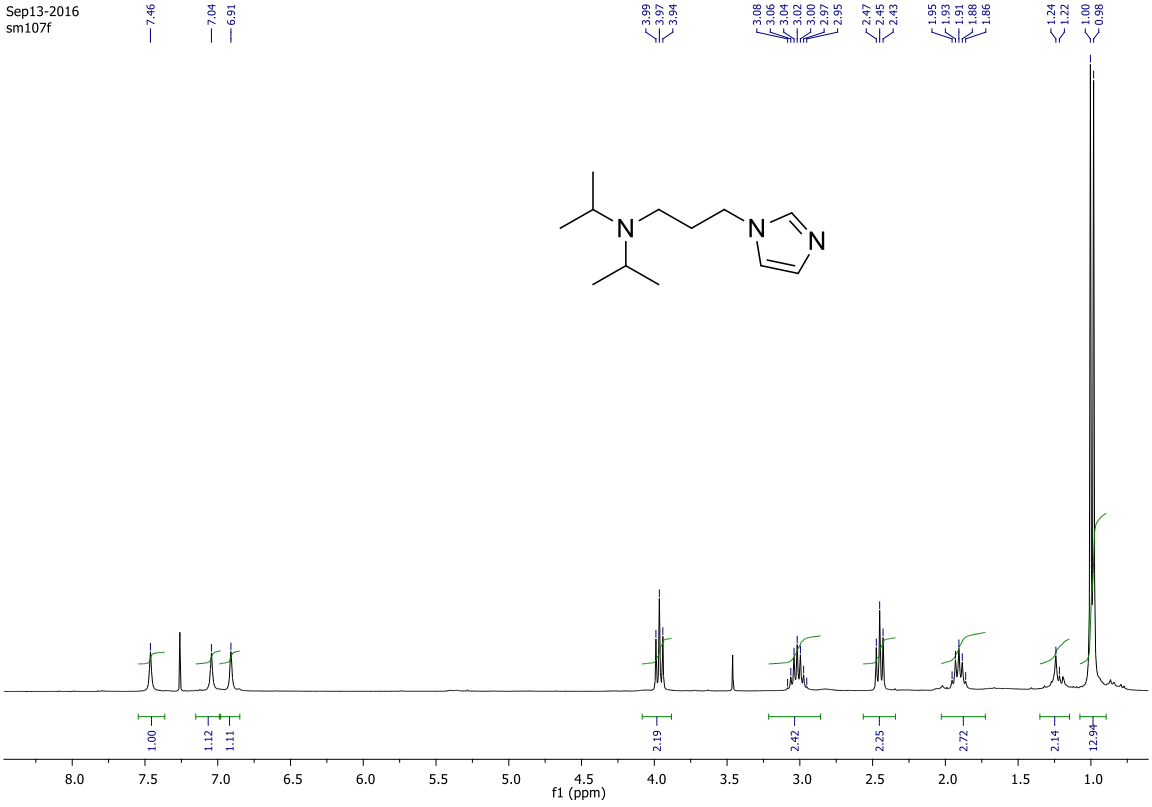


6.2 Mass spectrum of compound 119b

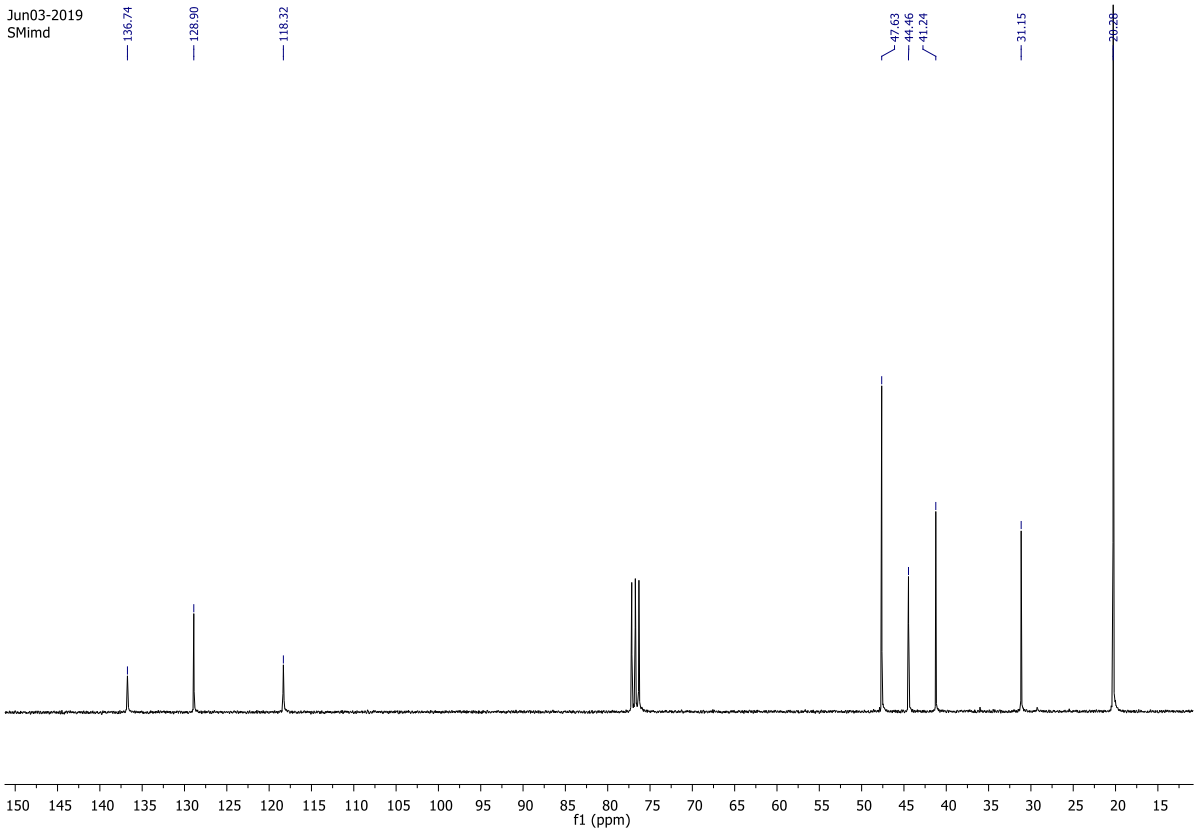


6.3 Compound 124

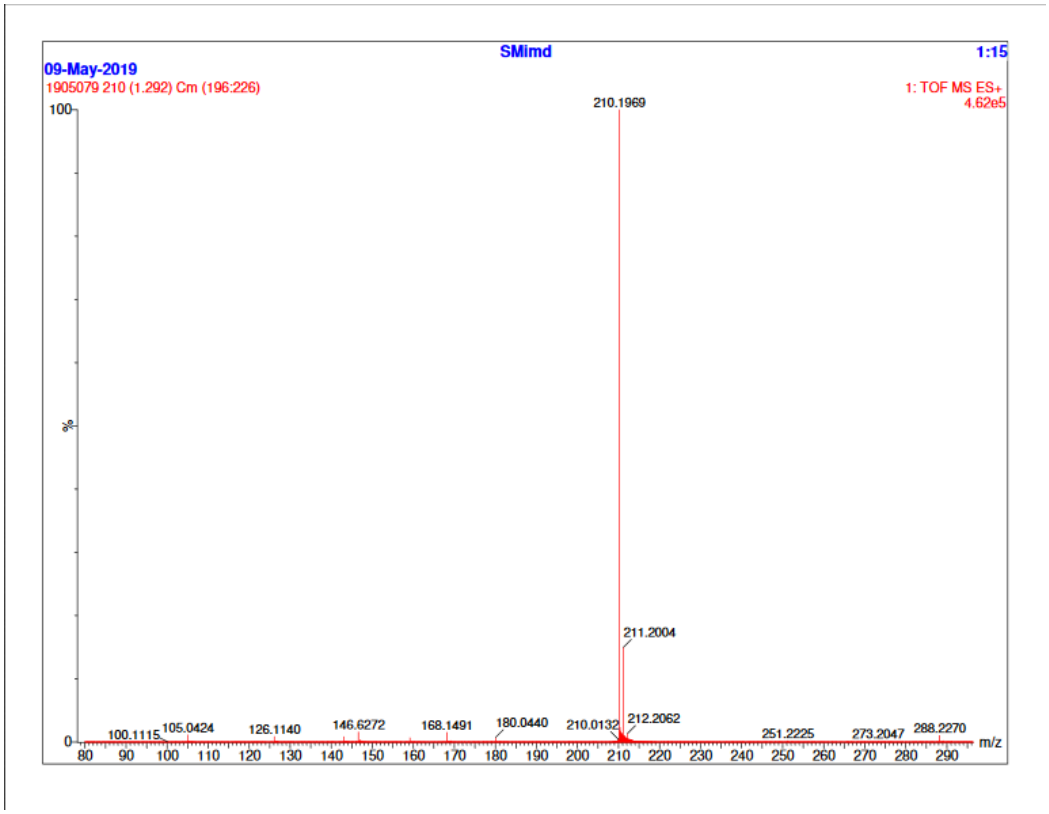
6.3.1 ^{1}H spectrum of compound 124



6.3.2 ^{13}C spectrum of compound 124

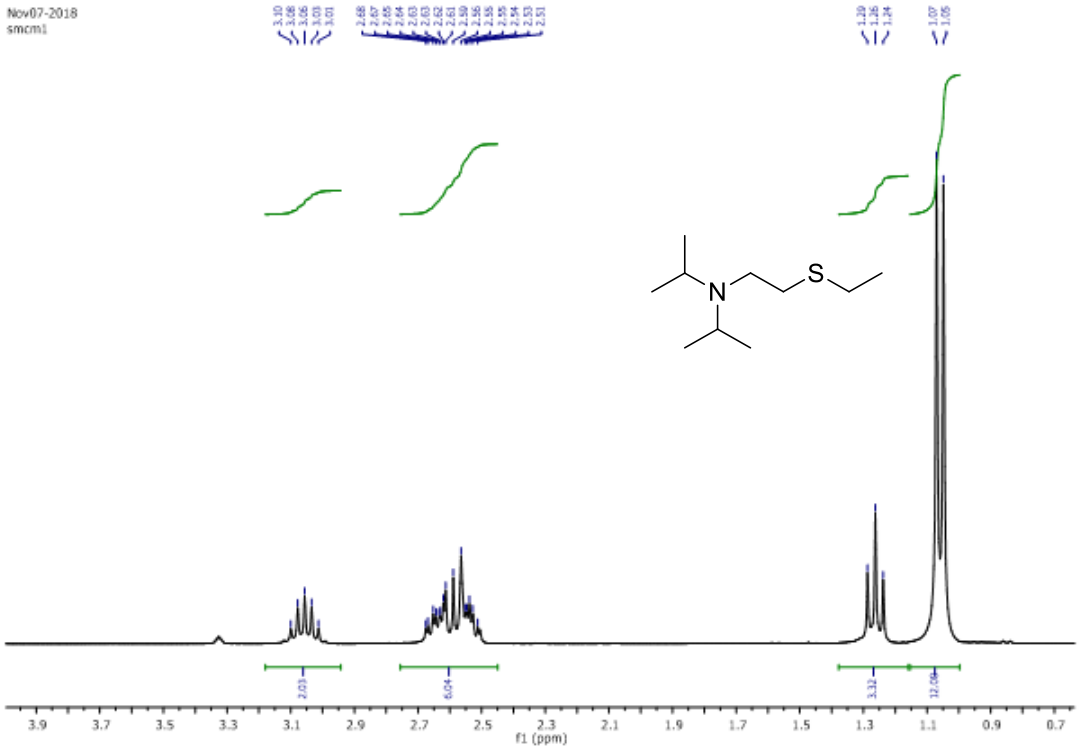


6.3.3 Mass spectrum of compound 124

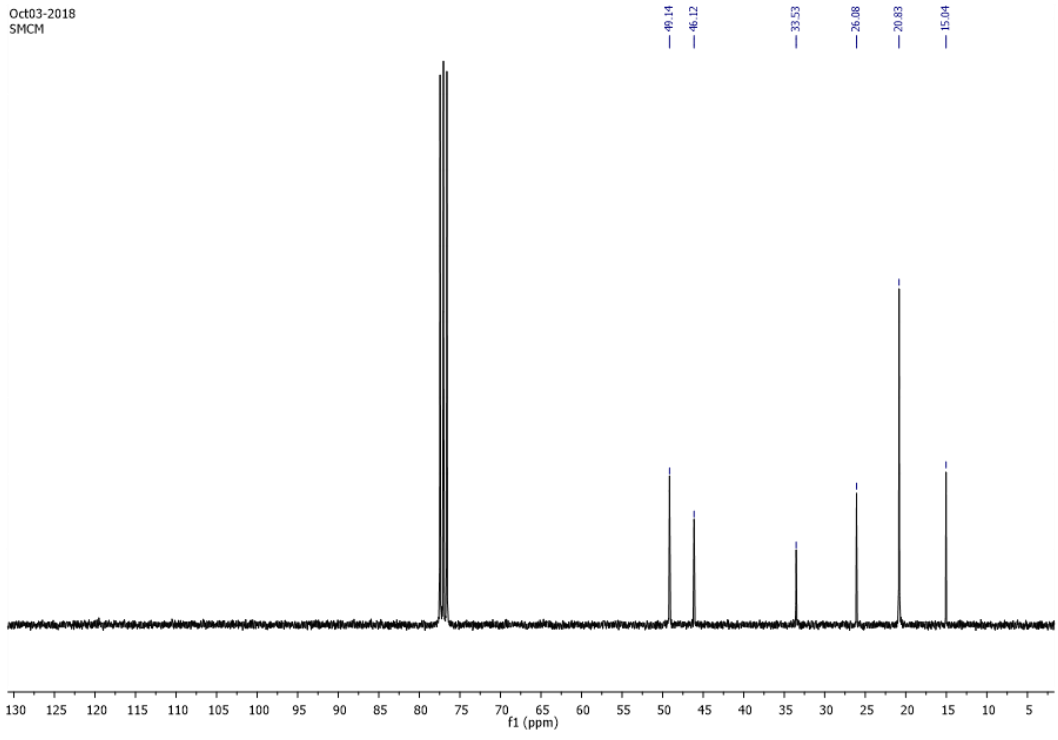


6.4 Compound 164

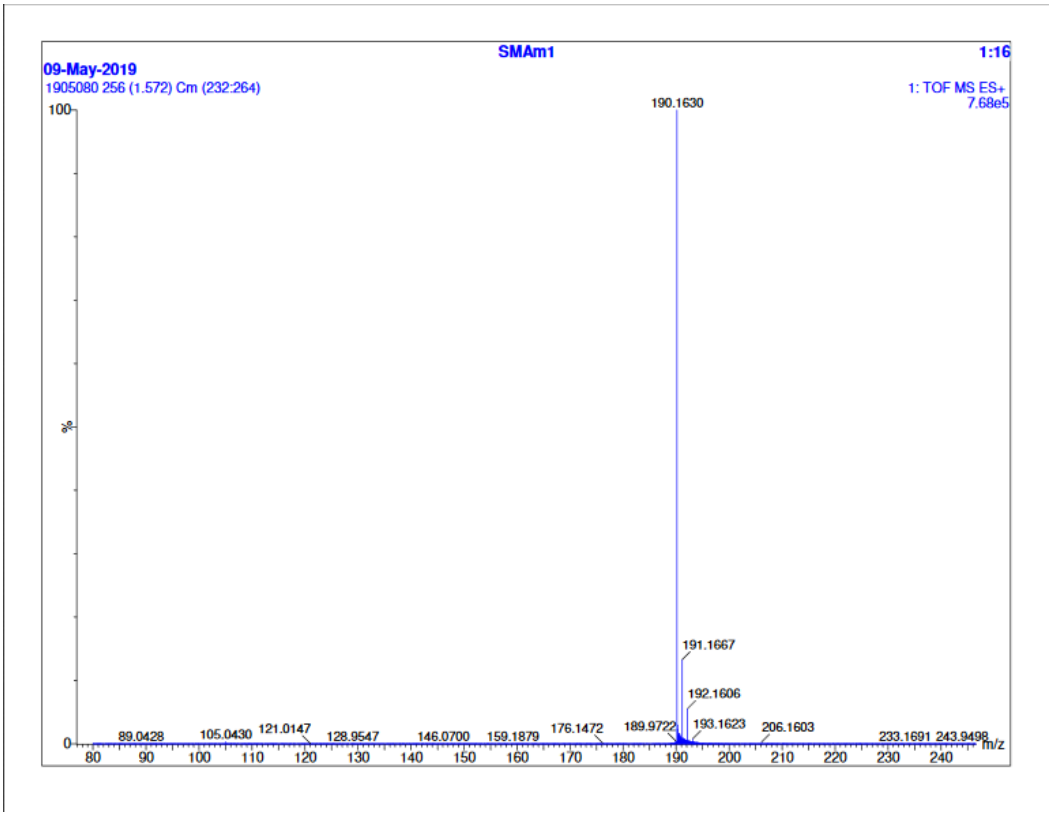
6.4.1 ^{1}H spectrum of compound 164



6.4.2 ^{13}C spectrum of compound 164

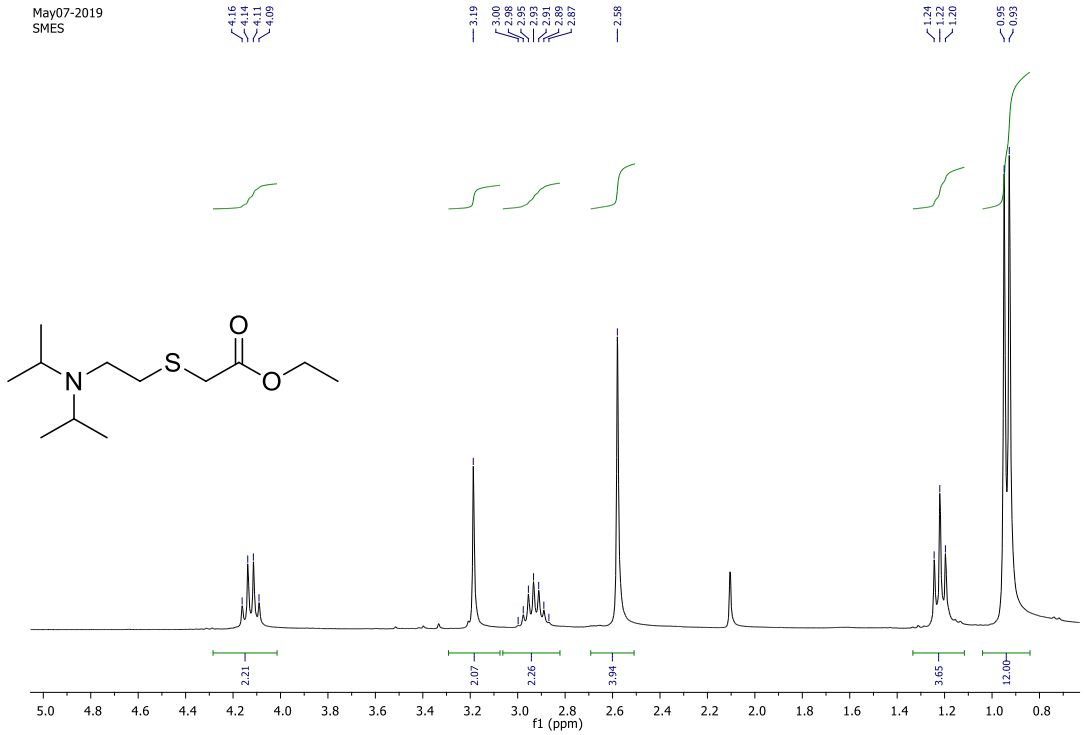


6.4.3 Mass spectrum of compound 164

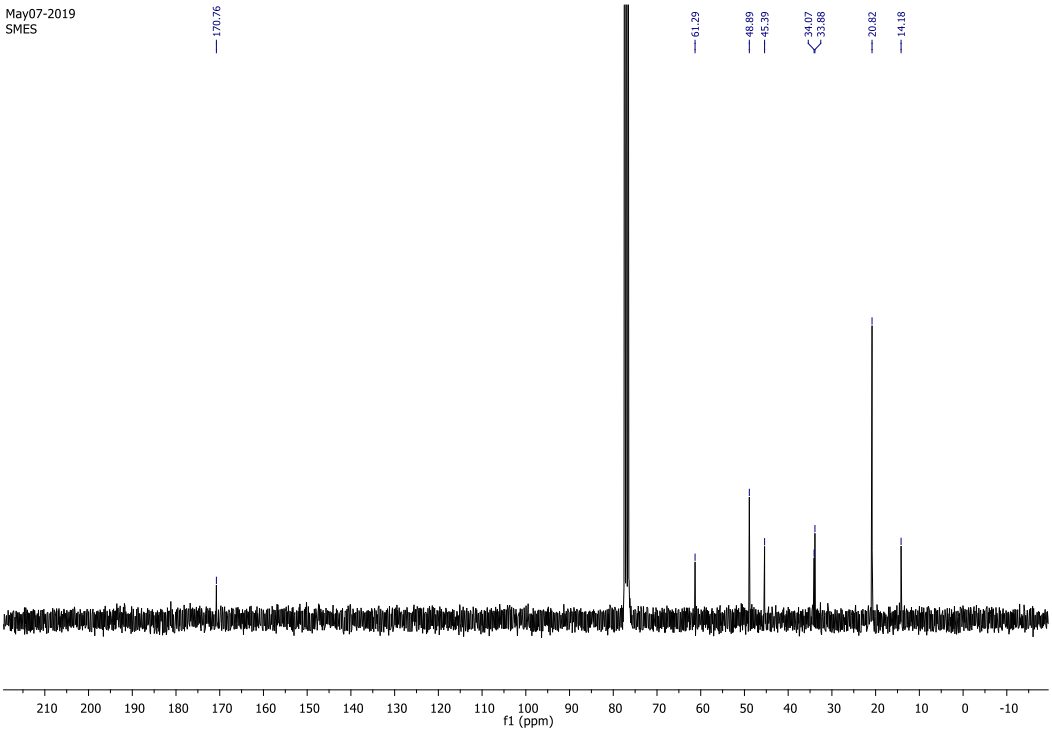


6.5 Compound 165

6.5.1 ^{1}H spectrum of compound 165



6.5.2 ^{13}C spectrum of compound 165



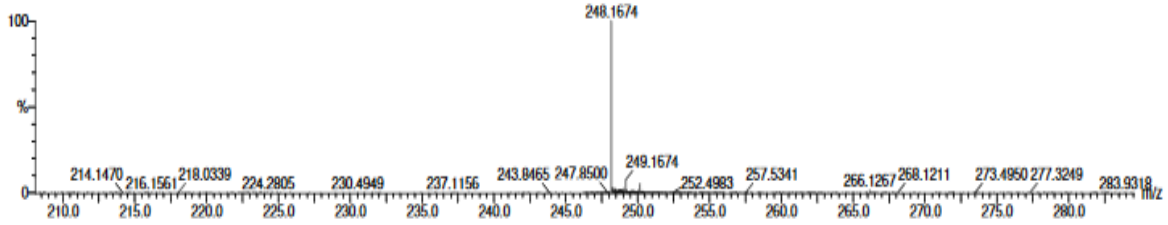
6.5.3 Mass spectrum of compound 165

Elemental Composition Report Page 1

Single Mass Analysis
Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -2.0, max = 20.0
Element prediction: Off
Number of isotope peaks used for I-FIT = 5

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions
546 formula(e) evaluated with 1 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)
Elements Used:
C: 0-500 H: 0-1000 N: 0-4 O: 0-10 Na: 0-1 S: 0-1

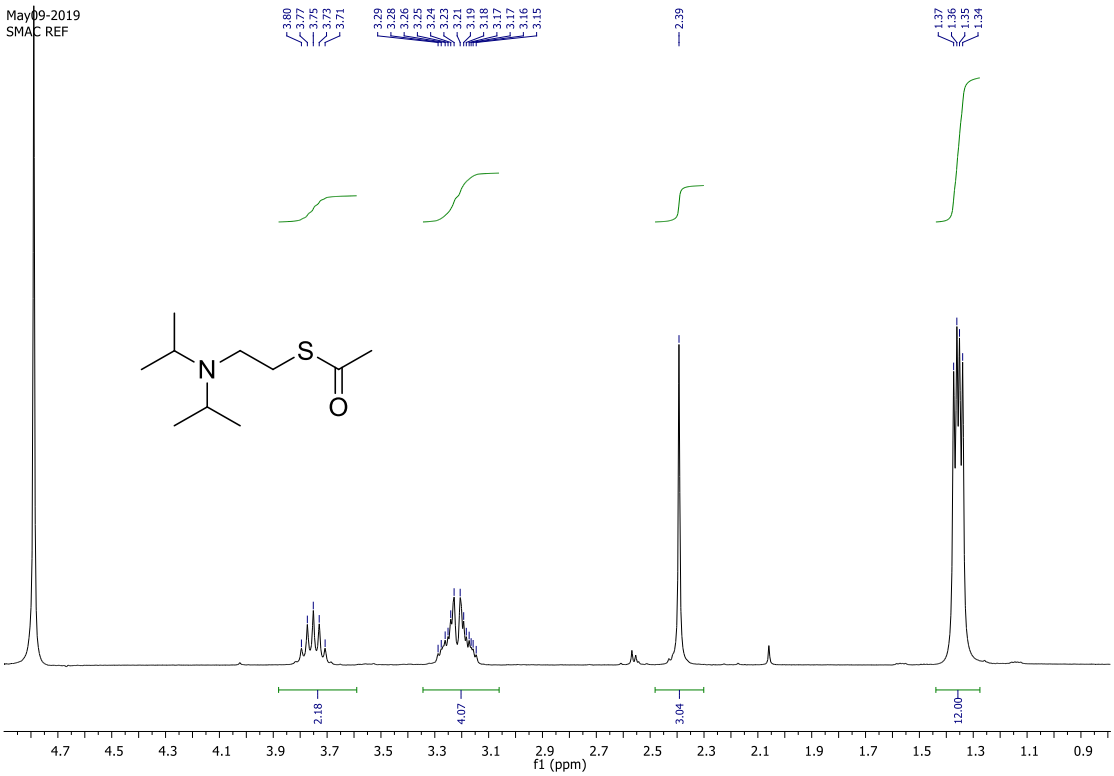
SMES 1:14
14-May-2019
1905127 290 (1.744) Cm (286:294-(194:201+353:365)) 1: TOF MS ES+ 1.76e+004



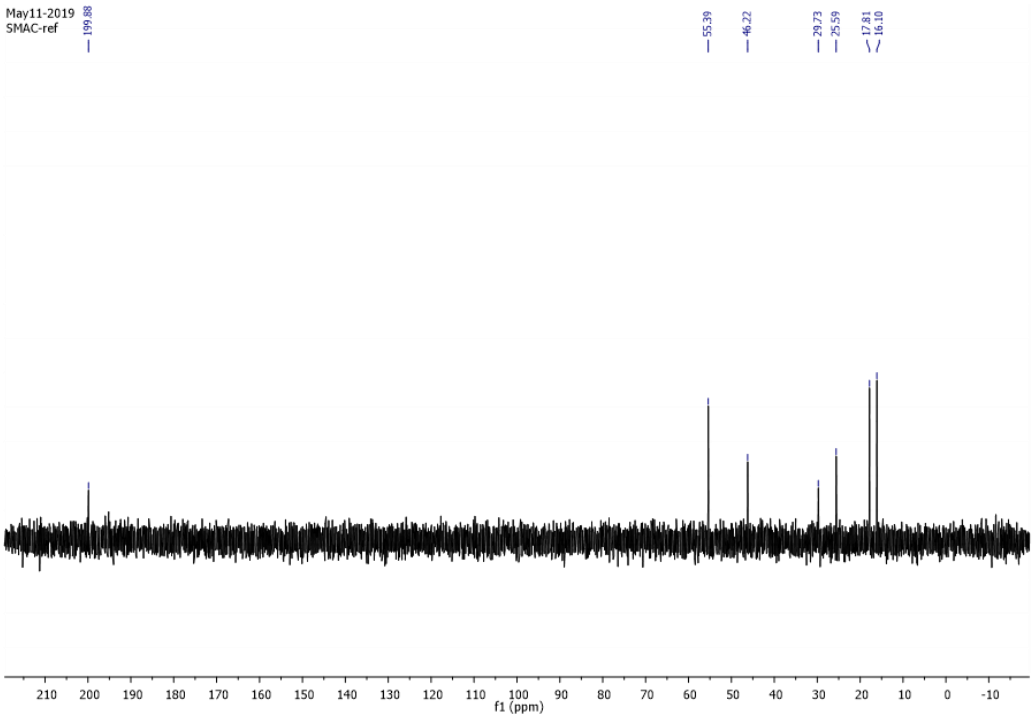
Minimum:				-2.0			
Maximum:		5.0	5.0	20.0			
Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	I-FIT	I-FIT (Norm)	Formula
248.1674	248.1684	-1.0	-4.0	0.5	792.0	0.0	C12 H26 N O2 S

6.6 Compound 175

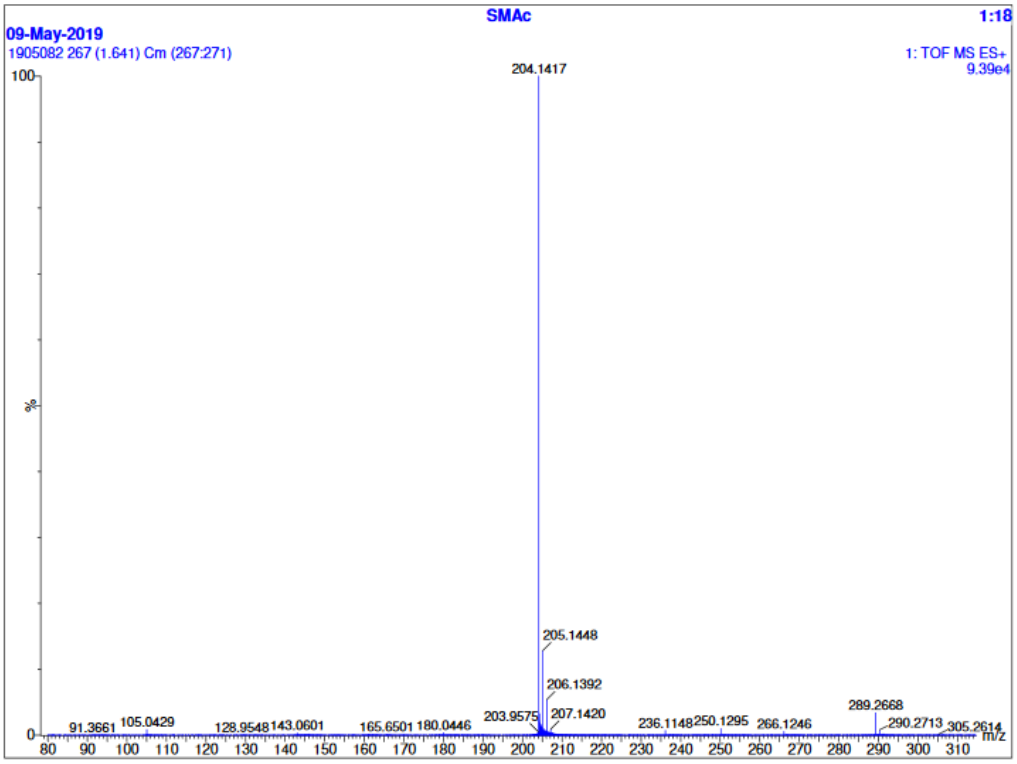
6.6.1 ^{1}H spectrum of compound 175



6.6.2 ^{13}C spectrum of compound 175



6.6.3 Mass spectrum of compound 175



Bibliographie

1. Fischer, E., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1894,** *27* (3), 2985-2993.

2. Polyakov, M. V., *Zhur. Fiz. Khim.* **1931,** *2*, 799–805.

3. Dickey, F. H., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **1949,** *35* (5), 227-229.

4. Wulff, G.; Sarhan, A.; Zabrocki, K., *Tetrahedron Lett.* **1973,** *14* (44), 4329-4332.

5. Sellergren, B.; Ekberg, B.; Mosbach, K.,. *J. Chromatogr. A* **1985,** *347*, 1-10.

6. Sellergren, B.; Allender, C. J., *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2005,** *57* (12), 1733-1741.

7. Tse Sum Bui, B.; Haupt, K., *Anal. Bioanal. Chem.* **2010,** *398* (6), 2481-2492.

8. Wulff, G.; Schauhoff, S., *J. Org. Chem.* **1991,** *56* (1), 395-400.

9. Wulff, G., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995,** *34* (17), 1812-1832.

10. Sellergren, B.; Andersson, L., *J. Org. Chem.* **1990,** *55* (10), 3381-3383.

11. Pérez, N.; Whitcombe, M. J.; Vulfson, E. N., *Macromolecules* **2001,** *34* (4), 830-836.

12. Cheong, S. H.; McNiven, S.; Rachkov, A.; Levi, R.; Yano, K.; Karube, I., *Macromolecules* **1997,** *30* (5), 1317-1322.

13. Bystroem, S. E.; Boerje, A.; Akermark, B., *J. Am. Chem. Soc.* **1993,** *115* (5), 2081-2083.

14. Mosbach, K., *Trends Biochem. Sci.* **1994,** *19* (1), 9-14.

15. Arshady, R.; Mosbach, K., *Makromol. Chem.* **1981,** *182* (2), 687-692.

16. Karlsson, J. G.; Karlsson, B.; Andersson, L. I.; Nicholls, I. A., *Analyst* **2004,** *129* (5), 456-462.

17. (a) Mayes, A. G.; Whitcombe, M. J., *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2005,** *57* (12), 1742-1778; (b) Vasapollo, G.; Sole, R. D.; Mergola, L.; Lazzoi, M. R.; Scardino, A.; Scorrano, S.; Mele, G., *Int. J. Mol. Sci.* **2011,** *12* (9), 5908-5945.

18. Hancock, R. D.; Martell, A. E., *Chem. Rev.* **1989,** *89* (8), 1875-1914.

19. Fujii, Y.; Matsutani, K.; Kikuchi, K., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1985,** (7), 415-417.

20. (a) Longo, L.; Vasapollo, G., *Mini-Rev. Org. Chem.* **2008,** *5* (3), 163-170; (b) J. Matsui, M. H., T. Takeuchi, *J. Am. Chem. Soc.* **2000,** *122*, 5218-5219.

21. Hart, B. R.; Shea, K. J., *Macromolecules* **2002,** *35* (16), 6192-6201.

22. Pan, J.; Xue, X.; Wang, J.; Xie, H.; Wu, Z., *Polymer* **2009,** *50* (11), 2365-2372.

23. Mayes, A. G.; Mosbach, K., *Anal. Chem.* **1996,** *68* (21), 3769-3774.

24. Ye, L.; A. G. Cormack, P.; Mosbach, K., *Anal. Commun.* **1999,** *36* (2), 35-38.

25. Pérez, N.; Whitcombe, M. J.; Vulfson, E. N., *J. Appl. Polym. Sci.* **2000,** *77* (8), 1851-1859.

26. F. Landfester, F. J. S., V. A. Kusuma, *C. R. Chimie* **2003,** *6*, 1337.

27. Lloyd, L. L., *J. Chromatogr. A* **1991,** *544*, 201-217.

28. Schmidt, R. H.; Belmont, A.-S.; Haupt, K., *Anal. Chim. Acta* **2005,** *542* (1), 118-124.

29. Sellergren, B.; Shea, K. J., *J. Chromatogr. A* **1993,** *635* (1), 31-49.

30. Nomachi, M.; Kubo, T.; Hosoya, K.; Kaya, K., *Anal. Bioanal. Chem.* **2006,** *384* (6), 1291-1296.

31. Shea, K. J.; Stoddard, G. J.; Shavelle, D. M.; Wakui, F.; Choate, R. M., *Macromolecules* **1990,** *23* (21), 4497-4507.

32. Alexander, C.; Andersson, H. S.; Andersson, L. I.; Ansell, R. J.; Kirsch, N.; Nicholls, I. A.; O'Mahony, J.; Whitcombe, M. J., *J. Mol. Recognit.* **2006,** *19* (2), 106-180.

33. O'Shannessy, D. J.; Ekberg, B.; Mosbach, K., *Anal. Biochem.* **1989,** *177* (1), 144-149.

34. García-Calzón, J. A.; Díaz-García, M. E., *Sens. Actuator B-Chem.* **2007,** *123* (2), 1180-1194.

35. Sellergren, B.; Hall, A. J., Chapter 2 - Fundamental aspects on the synthesis and characterisation of imprinted network polymers. In *Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*, Sellergren, B., Ed. Elsevier: 2001; Vol. 23, pp 21-57.

36. Sajonz, P.; Kele, M.; Zhong, G.; Sellergren, B.; Guiochon, G., *J. Chromatogr. A* **1998,** *810* (1), 1-17.

37. (a) Umpleby Ii, R. J.; Bode, M.; Shimizu, K. D., *Analyst* **2000,** *125* (7), 1261-1265; (b) Rushton, G. T.; Karns, C. L.; Shimizu, K. D., *Anal. Chim. Acta* **2005,** *528* (1), 107-113.

38. Kim J. M. , A. K. D., Strikovsky A. G. , Wulff G., *Bull. Korean Chem. Soc.* **2001,** *22* (7), 689.

39. Díaz-Díaz, G.; Diñeiro, Y.; Menéndez, M. I.; Blanco-López, M. C.; Lobo-Castañón, M. J.; Miranda-Ordieres, A. J.; Tuñón-Blanco, P., *Polymer* **2011,** *52* (12), 2468-2473.

40. Mason, H. S.; Fowlks, W. L.; Peterson, E., *J. Am. Chem. Soc.* **1955,** *77* (10), 2914-2915.

41. Hayaishi, O.; Katagiri, M.; Rothberg, S., *J. Am. Chem. Soc.* **1955,** *77* (20), 5450-5451.

42. Sono, M.; Roach, M. P.; Coulter, E. D.; Dawson, J. H., *Chem. Rev.* **1996,** *96* (7), 2841-2888.

43. Mansuy, D., *Comp. Biochem. Physiol. C, Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.* **1998,** *121* (1-3), 5-14.

44. Omura, T.; Sato, R., *J. Biol. Chem.* **1964,** *239*, 2370-8.

45. Mansuy, D., Cytochromes P-450 and model systems: great diversity of catalyzed reactions. In *Pure and Applied Chemistry*, 1994; Vol. 66, p 737.

46. Strobel, H. W.; David Dignam, J.; Gum, J. R., *Pharmacol. Therapeut.* **1980,** *8* (3), 525-537.

47. Guengerich, F. P.; Macdonald, T. L., *Acc. Chem. Res.* **1984,** *17* (1), 9-16.

48. Mansuy, D.; Battioni, P.; Battioni, J. P., *Eur. J. Biochem.* **1989,** *184* (2), 267-85.

49. Baciocchi, E.; Gerini, M. F.; Lanzalunga, O.; Lapi, A.; Grazia Lo Piparo, M., *Org. Biomol. Chem.* **2003,** *1* (2), 422-426.

50. Collman, J. P.; Zhang, X.; Lee, V. J.; Uffelman, E. S.; Brauman, J. I., *Science (New York, N.Y.)* **1993,** *261* (5127), 1404-11.

51. Sanders J.K.M. , K. K. M., Smith K. M., Guilard R. , *The Porphyrins Handbook, vol. III (Inorganic, organometallic and coordination chemistry) (Eds.)* **1999**.

52. Moss, G. P., *Eur. J. Biochem.* **1988,** *178* (2), 277-328.

53. Kadish K. M., S. K. M., Guilard R., *The Porphyrins Handbook, Vol.5 (NMR and EPR)* **1999**.

54. Gouterman, M., *J. Mol. Spectrosc.* **1961,** *6*, 138-163.

55. Boucher, L. J., *J. Am. Chem. Soc.* **1968,** *90* (24), 6640-6645.

56. Lahaye, D.; Muthukumaran, K.; Hung, C.-H.; Gryko, D.; Rebouças, J. S.; Spasojević, I.; Batinić-Haberle, I.; Lindsey, J. S., *Bioorg.Med. Chem.* **2007,** *15* (22), 7066-7086.

57. Boucher, L. J., Coordination Chemistry of Porphyrins. In *Coordination Chemistry of Macrocyclic Compounds*, Melson, G. A., Ed. Springer US: Boston, MA, 1979; pp 517-536.

58. Kirner, J. F.; Scheidt, W. R., *Inorg. Chem.* **1975,** *14* (9), 2081-2086.

59. Groves, J. T.; Stern, M. K., *J. Am. Chem. S.oc* **1988,** *110* (26), 8628-8638.

60. Kelly, S. L.; Kadish, K. M., *Inorg. Chem.* **1982,** *21* (10), 3631-3639.

61. Hambright, P., *Chem. Commun.* **1967,** (9), 470-471.

62. Rothemund, P., *J. Am. Chem. Soc.* **1939,** *61* (10), 2912-2915.

63. Adler, A. D.; Longo, F. R.; Finarelli, J. D.; Goldmacher, J.; Assour, J.; Korsakoff, L., *J. Org. Chem.* **1967,** *32* (2), 476-476.

64. Lindsey, J. S., The Synthesis of Meso-Substituted Porphyrins. In *Metalloporphyrins Catalyzed Oxidations*, Montanari, F.; Casella, L., Eds. Springer Netherlands: Dordrecht, 1994; pp 49-86.

65. Rothemund, P.; Menotti, A. R., *J. Am. Chem. Soc.* **1941,** *63* (1), 267-270.

66. Ball, R. H.; Dorough, G. D.; Calvin, M., *J. Am. Chem. Soc.* **1946,** *68* (11), 2278-2281.

67. Arsenault, G. P.; Bullock, E.; MacDonald, S. F., *J. Am. Chem. Soc.* **1960,** *82* (16), 4384-4389.

68. Goti, A.; Cardona, F. In *Hydrogen Peroxide in Green Oxidation Reactions: Recent Catalytic Processes*, Green Chemical Reactions, Dordrecht, 2008//; Tundo, P.; Esposito, V., Eds. Springer Netherlands: Dordrecht, 2008; pp 191-212.

69. Chino, M.; Leone, L.; Zambrano, G.; Pirro, F.; D'Alonzo, D.; Firpo, V.; Aref, D.; Lista, L.; Maglio, O.; Nastri, F.; Lombardi, A., *Biopolymers* **2018,** *109* (10), e23107.

70. Estour, F.; Akagah, B.; Segrestaa, J.; Verite, P.; Menager, S.; Lafont, O., *Ann Pharm Fr* **2004,** *62* (5), 297-303.

71. Jérôme Ségrestaa, *Optimisation d'un système biomimétique des enzymes à cytochrome P450 : application à l'oxydation d'hydrocarbures et des produits d'intérêt thérapeutique* , **Thèse soutenue le 14/01/2002, Université de Rouen**

72. Groves, J. T.; Nemo, T. E.; Myers, R. S., *J. Am. Chem. Soc.* **1979,** *101* (4), 1032-1033.

73. Dolphin, D.; Traylor, T. G.; Xie, L. Y., *Acc. Chem. Res.* **1997,** *30* (6), 251-259.

74. Nakagaki, S. F., G.K.B.; Ucoski, G.M.; Dias de Freitas Castro, K.A. , *Molecules* **2013** *18*, 7279-7308.

75. Oae, S.; Watanabe, Y.; Fujimori, K., *Tetrahedron Lett.* **1982,** *23* (11), 1189-1192.

76. Le Maux, P.; Simonneaux, G., *Chem. Commun.* **2011,** *47* (24), 6957-6959.

77. Srour, H.; Jalkh, J.; Le Maux, P.; Chevance, S.; Kobeissi, M.; Simonneaux, G., *J. Mol. Catal. A-Chem.* **2013,** *370*, 75-79.

78. Halterman, R. L.; Jan, S.-T.; Nimmons, H. L.; Standlee, D. J.; Khan, M. A., *Tetrahedron* **1997,** *53* (33), 11257-11276.

79. Zhou, X.-T.; Ji, H.-B.; Yuan, Q.-L.; Xu, J.-C.; Pei, L.-X.; Wang, L.-F., *Chin. J. Chem.* **2008,** *26* (6), 1114-1118.

80. Moghadam, M.; Tangestaninejad, S.; Habibi, M. H.; Mirkhani, V., *J. Mol. Catal. A - Chem.* **2004,** *217* (1), 9-12.

81. Zois, D.; Vartzouma, C.; Deligiannakis, Y.; Hadjiliadis, N.; Casella, L.; Monzani, E.; Louloudi, M., *J. Mol. Catal. A-Chem.* **2007,** *261* (2), 306-317.

82. Gandini, M. E. F.; Neri, C. R.; Vinhado, F. S.; Minorin, T. S.; Nascimento, O. R.; Serra, O. A.; Iamamoto, Y., *J. Braz. Chem. Soc.* **2008,** *19*, 344-351.

83. Ferrand, Y.; Daviaud, R.; Le Maux, P.; Simonneaux, G., *Tetrahedron: Asymmetry* **2006,** *17* (6), 952-960.

84. Karalliede, V. a., *The Lancet* **2002,** *360*, 35 -36.

85. Ganesan, K.; Raza, S. K.; Vijayaraghavan, R., *J. Pharm. Bioallied Sci.* **2010,** *2* (3), 166-178.

86. Prevention., Centers for Disease Control and Prevention, Hydrogen Cyanide (AC): Systemic Agent, **Accessed 21/12/18**.

87. Prevention, Centers for Disease Control and Prevention, Riot control agents/tear gas**,** **Accessed 02/01/19**.

88. Prevention., Centers for Disease Control and Prevention., Incapaciting agents, **Accessed 02/01/19**.

89. Stellman, J. M.; Stellman, S. D., *Am. J. Public Health* **2018,** *108* (6), 726-728.

90. Smith, B. M., *Chem. Soc. Rev.* **2008,** *37* (3), 470-478.

91. Bulman Page, P. C.; Buckley, B. R.; Elliott, C.; Chan, Y.; Dreyfus, N.; Marken, F., *Synlett* **2016,** *27* (01), 80-82.

92. Li, J.-K.; Wei, C.-P.; Wang, Y.-Y.; Zhang, M.; Lv, X.-R.; Hu, C.-W., *Inorg. Chem. Commun.* **2018,** *87*, 5-7.

93. Picard, B.; Gouilleux, B.; Lebleu, T.; Maddaluno, J.; Chataigner, I.; Penhoat, M.; Felpin, F.-X.; Giraudeau, P.; Legros, J., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2017,** *56* (26), 7568-7572.

94. Eubanks, L. M.; Dickerson, T. J.; Janda, K. D., *Chem. Soc. Rev.* **2007,** *36* (3), 458-70.

95. Kim, K.; Tsay, O. G.; Atwood, D. A.; Churchill, D. G., *Chem Rev* **2011,** *111* (9), 5345-403.

96. Holmstedt, B., Structure-Activity Relationships of the Organophosphorus Anticholinesterase Agents. In *Cholinesterases and Anticholinesterase Agents*, Koelle, G. B., Ed. Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 1963; pp 428-485.

97. Letort, S.; Balieu, S.; Erb, W.; Gouhier, G.; Estour, F., *Beilstein J. Org. Chem.* **2016,** *12*, 204-228.

98. Axelsen, P. H.; Harel, M.; Silman, I.; Sussman, J. L., *Protein Sci* **1994,** *3* (2), 188-197.

99. (a) Renou, J.; Dias, J.; Mercey, G.; Verdelet, T.; Rousseau, C.; Gastellier, A.-J.; Arboléas, M.; Touvrey-Loiodice, M.; Baati, R.; Jean, L.; Nachon, F.; Renard, P.-Y., *RSC Advances* **2016,** *6* (22), 17929-17940; (b) Santoni, G.; de Sousa, J.; de la Mora, E.; Dias, J.; Jean, L.; Sussman, J. L.; Silman, I.; Renard, P.-Y.; Brown, R. C. D.; Weik, M.; Baati, R.; Nachon, F., *J. Med. Chem.* **2018,** *61* (17), 7630-7639.

100. Berry, W. K.; Davies, D. R., *Biochem. J* **1966,** *100* (2).

101. Touvrey, C.; Courageux, C.; Guillon, V.; Terreux, R.; Nachon, F.; Brazzolotto, X., *Toxicol.* **2019,** *411*, 15-23.

102. Worek, F.; Seeger, T.; Zengerle, M.; Kubik, S.; Thiermann, H.; Wille, T., *Toxicol. Lett.* **2014,** *226* (2), 222-227.

103. Letort, S.; Mathiron, D.; Grel, T.; Albaret, C.; Daulon, S.; Djedaïni-Pilard, F.; Gouhier, G.; Estour, F., *Chem. Commun.* **2015,** *51* (13), 2601-2604.

104. Wagner, G. W.; Sorrick, D. C.; Procell, L. R.; Brickhouse, M. D.; McVey, I. F.; Schwartz, L. I., *Langmuir* **2007,** *23* (3), 1178-1186.

105. Schneider, C.; Bierwisch, A.; Koller, M.; Worek, F.; Kubik, S., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2016,** *55* (41), 12668-12672.

106. Beer, S.; Gangavarapu, P.; Pandey, K. S.; Danikhel, R. K.; Vijayaraghavan, R., *Def. Sci. J.* **2010,** *60*(4):428-441.

107. Gutch, P. K.; Mazumder, A.; Raviraju, G., *RSC Adv.* **2016,** *6* (3), 2295-2301.

108. Sellik, A.; Pollet, T.; Ouvry, L.; Briancon, S.; Fessi, H.; Hartmann, D. J.; Renaud, F. N., *Chem. Biol. Interact.* **2017,** *267*, 67-73.

109. Dai, Z.; Sun, Q.; Liu, X.; Bian, C.; Wu, Q.; Pan, S.; Wang, L.; Meng, X.; Deng, F.; Xiao, F.-S., *J. Catal.* **2016,** *338*, 202-209.

110. Burri, E.; Öhm, M.; Daguenet, C.; Severin, K., *Chem. A-Eur. J.* **2005,** *11* (17), 5055-5061.

111. Yang, L.-J.; Wang, S.-H.; Zhou, S.-Y.; Zhao, F.; Chang, Q.; Li, M.-Y.; Chen, W.; Yang, X.-D., *Mat. Sci. Eng. C* **2017,** *76*, 1136-1145.

112. Ayawei, N.; Ebelegi, A. N.; Wankasi, D., *J. Chem.* **2017,** *2017*, 11.

113. Zakaria, N. D.; Yusof, N. A.; Haron, J.; Abdullah, A. H., *Int. J. Mol. Sci.* **2009,** *10* (1), 354-365.

114. Aguiar, A.; Ribeiro, S.; Silva, A. M. N.; Cunha-Silva, L.; de Castro, B.; Silva, A. M. G.; Balula, S. S., *Appl. Catal. A-General* **2014,** *478*, 267-274.

115. Yang, Y. C.; Baker, J. A.; Ward, J. R., *Chem. Rev.* **1992,** *92* (8), 1729-1743.

116. McAnoy, A. M.; Williams, J.; Paine, M. R. L.; Rogers, M. L.; Blanksby, S. J., *J. Org. Chem.* **2009,** *74* (24), 9319-9327.

117. Vakhitova, L. N.; Matvienko, K. V.; Taran, N. A.; Lakhtarenko, N. V.; Popov, A. F., *Russ. J. Organ. Chem.* **2011,** *47* (7), 965.

118. Zhou, X.-T.; Ren, G.-Q.; Ji, H.-B., *J. Porph. Phthalocyanines* **2013,** *17* (11), 1104-1112.

119. Pires, S. M. G.; Simões, M. M. Q.; Santos, I. C. M. S.; Rebelo, S. L. H.; Paz, F. A. A.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S., *Appl. Catal. B-Environmental* **2014,** *160-161*, 80-88.

Projet publication

COMMUNICATION

A versatile and recyclable molecularly imprinted polymer as an oxidative catalyst of sulfur derivatives – A new possible way of mustard gas and V nerve agents decontamination

Received 00th January 20xx,
Accepted 00th January 20xx

DOI: 10.1039/x0xx00000x

Sophie Mohamed,[a] Sébastien Balieu,*[a] Emilie Petit,[a] Ludovic Galas,[b] Damien Schapman,[b] Julie Hardouin,[c] Rachid Baati[d] and François Estour*[a]

A Molecularly Imprinted Polymer involving a porphyrin unit was developed as an heteregenous catalyst for oxidation. Its efficiency under mild conditions and its easy recovery after reaction are a great asset in the future to design new tools for the decontamination of chemical weapons such as yperite and VX.

Molecularly imprinting of polymers is a useful technique to create artificial receptors able to selectively bind substrates.[1] Indeed, various molecular imprinted polymers were developed as biosensors,[2] chromatographic stationary phases[3] or materials for solid phase extraction.[4] Though, only a few examples of mimic natural proteins such as antibodies or enzymes have been described.[5] For these latter, compound has to easly diffuse through the Molecular Imprinted Polymer (MIP) and the MIP cavity has to selectively recognize the substrate before inducing its chemical transformation. Finally, the obtained product has to be readily released in order to guarantee substrate / metabolite exchange. Beyond requirements, MIPs have the advantage to be an inexpensive strategy compared to the preparation of biomolecules by biotechnology.[6] Moreover, they are generally more stable and can be used in a larger panel of reactions under various conditions.[7]

This study focuses on the development on a MIP oxidative catalyst based on a porphyrin core, a wellkown tetrapyrrolic macrocycle found in the structure of relevant biological compounds.[8] Thus, they are the key element of cytochrome P450: mainly located in liver microsomes, these metal enzymes are involved in the oxidation-reduction reactions of living organisms. Nevertheless, their use to oxidize derivatives is limited to weak amounts of products.[9] To overcome this drawback, synthetic porphyrins were extensively studied, particulalry to better understand the natural catalyzed processes and perform regio- and/or stereoselective reactions.[10] But a larger number of studies was even carried out at an analytical level with the need to develop selective tools requiring tedious synthesis of sophisticated porphyrins.[11] If the porphyrin moiety is compulsory to mime the active site of cytochrome P450 enzymes, the protein environment playing a determinant role in the natural catalyst to orient the substrate towards the metallic center can be replaced. The creation of memory-insides cavities towards targeted substrates, in a polymer including a porphyrine derivative in its core, would reproduce the active site surrounded by a hydrophobic part.

By this approach, we developed a reusable supramolecular assembly able to oxidize sulfur derivatives under heterogenous catalytic conditions in the presence of hydrogen peroxide as a mild, safety and eco-sustainable oxidizer. Exemples of relevant oxidation reactions are already described. The conversion of sulfure compounds in the corresponding oxidized derivatives is an attractive strategy in industrial processes to limit sulfur content in fuels.[12] Sulfoxides and sulfones are used as intermediates for the preparation of pharmaceuticals such as Omeprazole a wellknown proton-pump inhibitor and fine chemicals.[13] This methodology could be also useful in future for the decontamination of vesicants and V nerve agents. These are highly toxic derivatives developed as Chemical Warfare Agents (CWAs), and therefore representing a considerable threat in the current context of terrorist attacks and asymmetric wars.[14] Two prominent members of CWAs are the vesicant bis(2-chloroethyl) sulfide (so-called “mustard gas”, HD) and the nerve agent *O*-ethyl-*S*-[2(diisopropylamino)ethyl] methylphosphonothioate (VX). Possible ways to decontaminate these chemical weapons are to selectively oxidize the sulfide group, under control of several parameters for an

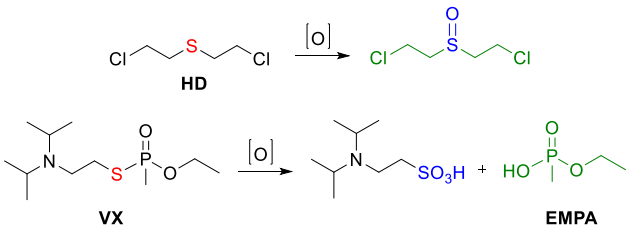
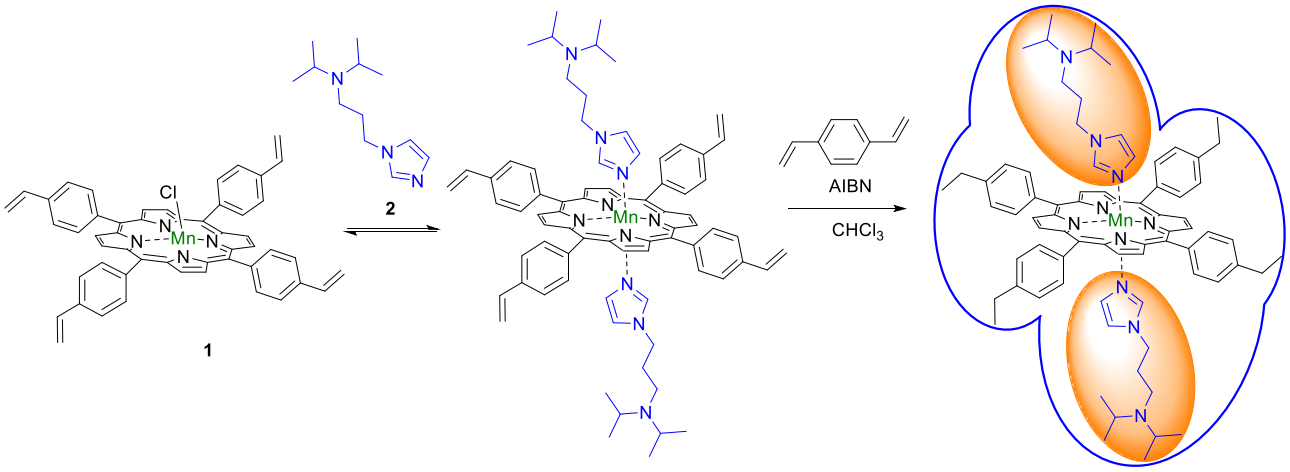


Fig. 1 Detoxification pathways of HD and VX

[a] Normandie Univ, INSA Rouen, UNIROUEN, CNRS, COBRA (UMR 6014 & FR3038), 76000 Rouen, France. E-mail : francois.estour@univ-rouen.fr
[b] Normandie University, UNIROUEN, INSERM, Regional Cell Imaging Platform of Normandy (PRIMACEN), 76000 Rouen, France
[c] Normandie Université, UNIROUEN, UMR-6270, CNRS, IRIB, Mont-Saint-Aignan, France
[d] Université de Strasbourg, ICPEES, UMR CNRS 7515, 67087 Strasbourg, France.

† Electronic Supplementary Information (ESI) available: Materials, instruments, experimental procedures of syntheses, binding studies and oxidative reactions, spectroscopic data. See DOI: 10.1039/x0xx00000x

Please do not adjust margins



Scheme 1 Synthesis of the MIP oxidative catalyst based on a porphyrin core

efficient process (Figure 1).[15] Thus, HD has to be metabolized into a nonvesicant sulfoxide as oxidation into sulfone would lead to a toxic product.[16] In the case of VX, the regiocontrolled cleavage of the P-S bond leads to the nontoxic EMPA, whereas a competitive P-O bond cleavage would give a toxic by-product. For this purpose, the intramolecular sulfur oxidation is essential to lead to nontoxic products from VX. [14b,17]

The development of a porphyrin based MIP as a ready-to-use equipment for the decontamination of CWAs under mild conditions represents an attractive solution. To preserve the structure of the porphyrin into the MIP from an oxidative destruction,[18] the use of low amounts of the oxidant is suitable: the substrate is maintained close to the metallo-catalyst and its oxidation promoted. As a proof of concept, we focused on the design and developpement of a MIP's for oxidative reactions of various sulfides selected for their structure, physicochemical and/or reactivity properties (Scheme 1). To this regard, the shape of cavities is determinant for the positioning of the substrate towards the metal centre of the manganoporphyrin 1. In this context, the creation of the suitable cavities into the polymer was quite tricky because the substrates HD and VX themselves cannot be used in academic laboratories. As already made for other MIPs, a pseudo-substrate acting as the template needed to be developed to perform the MIP synthesis[19] The targeted MIP was designed using an imidazole derivative 2 as template (Scheme 1). The choice was based on the VX structure considering its most important steric hindrance compared to HD. Thus, the nitrogen heterocycle can coordinate the metal while the diisopropylamine moiety will provide enough steric hindrance to promote cavities with well defined space (orange areas in Scheme 1) once the polymer formed and the template successively removed. After coordination of the template **2** with the metallic centre of porphyrin monomer **1** as confirmed by UV-visible analysis, the polymer formation was carried out in the presence of 1,4-divinylbenzene as crosslinking agent and azobisisobutyronitrile (AIBN) as radical initiator. Under these conditions, the bulk polymer was obtained as a green solid. After grinding and sieving, the particles were successively treated in acidic medium to allow formation of two empty cavities on both sides of the porphyrin (Figure 2). The fluorescence of porphryin detected into the polymer by confocal scanning macroscopy showed the largest pores with a size of about 330 µm. The MIP properties to recognize the template molecules used for its preparation were the most important feature of these materials. The experimental adsorption isotherms of compound **2** into the MIP were determined from the Freundlich model, and compared with those obtained in the case of the corresponding non imprinted polymer with the manganoporphyrin (NIP). According to the Freundlich equation,[20] the binding parameters were evaluated for MIP and NIP (Table 1).

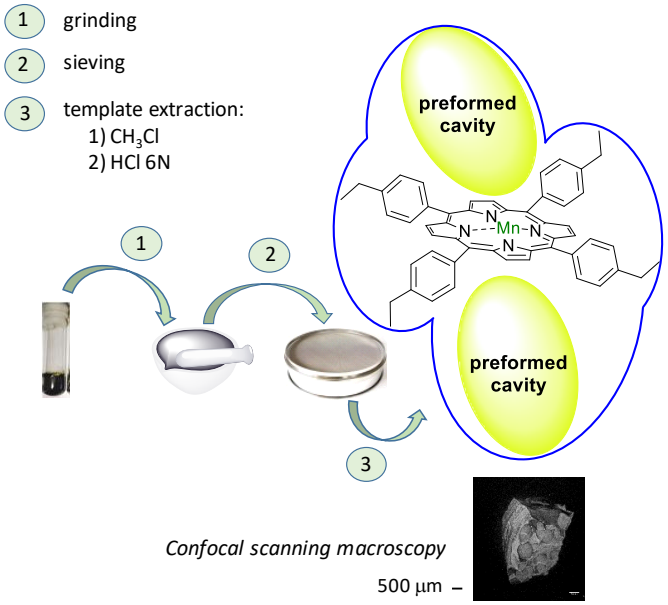


Fig. 2 Template extraction from the MIP

Table 1. Binding parameters of MIP and NIP: *m* (heterogeneity index), $N_{kmin\text{-}kmax}$ (average number of binding sites), $K_{kmin\text{-}kmax}$ (affinity constant)

	m	$N_{kmin\text{-}kmax}$ ($\mu mol.g^{-1}$)	$K_{kmin\text{-}kmax}$ (M^{-1})	R^2
MIP	1.03	4977	31.8	0.989
NIP	0.95	1805	26.9	0.990

The heterogeneity index close to 1.00 proved that the MIP material had binding sites homogeneously distributed. The resulting imprinted factor was calculated to 5.52 as an average value, showing that the template has a specific affinity for the

This journal is © The Royal Society of Chemistry 20xx

Please do not adjust margins

Please do not adjust margins

imprints into the MIP. It was also expected that the MIP recognizes derivatives having a similar structure to derivative **2**. Therefore, the binding studies were extended to counterparts **3** and **4** (Figure 3). The obtained results showed that both compounds could be easily accommodated into the cavities and be recognized by the MIP. Regarding the selectivity factors related to template **2**, the counterpart **4** bearing the ester function exhibited a higher value (0.96) than **3** (0.57). The carboxylate group of **4** being likely to coordinate the metal, that it was not possible with derivative **3**. This orientation of the substrate towards the porphyrin core into the MIP cavities was then suitable to enable sulfide group oxidation.

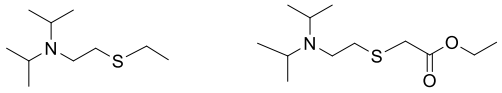


Fig. 3 Structures of counterparts

Once the desired MIP obtained and well characterized, oxidation reactions of sulfure derivatives were implemented to test the catalyst efficiency. We firstly used 4-methylthioanisole **5** (Figure 4) as model of HD substrate. Oxidation of substituted phenyl methyl sulfides is particularly well-documented and thioanisole itself has often been selected as HD simulant in various studies due to its similar reactivity and also its hydrophobicity.[21] We chose its 4-methylated derivative to verify that the benzylic position was not reactive in presence of the MIP. A comparison was performed with the reaction conducted in homogeneous phase using the manganese(III) porphyrin chloride[22] so-called "MnTDCPPCl" as catalyst, in order to highlight the added value of the MIP.

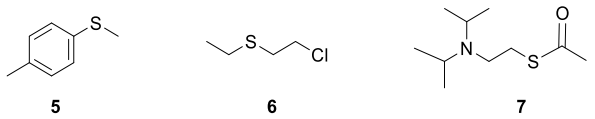


Fig. 4 Structures of selected sulfides as substrates for oxidations

At 37°C, 2 equivalents of H_2O_2 and 0.25 mol % of MnTDCPCl, the conversion of **5** into sulfoxide was total after 3h. With 1 mol % catalyst, the reaction time increased to 5h. Thus, the higher the MnTDCPPCl concentration, the longer the reaction time, probably due to a porphyrin degradation *versus* the substrate oxidation. At 3 mol % of MnTDCPPCl, the oxidation of **5** into the corresponding sulfoxide reached a plateau at 80% after 4h. Under these conditions, the addition of one more equivalent of H_2O_2 after 60min of reaction time increased the yield to 95%. The total conversion was reached in 2h if one equivalent of oxidant and 1 mol % catalyst were added after 50 min of reaction. All these results proved that the catalyst was indeed sensitive to H_2O_2 and its concomitant degradation during the reaction was a limiting factor. When we used 0.8 mol % MIP, 80% of **5** were converted into sulfoxide in 3h. If the amount of oxidant was doubled (*i.e.* 4 equivalents with respect to 4-methyl-thioanisole **5**), the reaction was quantitative after 2h30. It is important to note that the heterogeneous catalyst was recovered at the end of the process and used in three more oxidation reaction without significative loss of its catalytic efficiency. Under these optimized conditions, the steady-state rate of the reaction was estimated by measuring the concentration of the formed sulfoxide at a fixed reaction time of 15min. After fitting the kinetic data to the Hill equation by an iterative procedure following the Marquardt–Levenberg non-linear least squares algorithm, using Origin 8.5 software, the kinetic parameters (n, V_{max} and the pseudo-Michaelis constant K_s*) were obtained (Table 2). The ICP-AES analysis provided the concentration of Mn catalytic sites, and therefore the catalytic constants k_{cat} were evaluated at 214min^{-1} and 97min^{-1} respectivly for MIP and NIP. Compared to the NIP, the catalytic efficiency of MIP estimated by the ratio k_{cat}/K_s* resulted almost 4.5 fold higher.

Table 2. Kinetic parameters for the oxidation of compound **5**

	n	V_{max} ($mM{\cdot}min^{-1}$)	K_s* (M)	R^2
MIP	3.00 ± 0.25	7.71 ± 0.09	(13.62 ± 0.48) x 10^{-2}	0.989
NIP	2.53 ± 0.30	6.90 ± 0.08	(28.05 ± 1.84) x 10^{-2}	0.994

The catalytic efficiency of MIP being proved, further investigations were carried out with (2-chloroethyl)(ethyl)sulfane (CEES) **6** that presents a similar moiety to HD and is considered as one of the most communly employed sulfur mustard simulants. In the presence of MIP, CEES **6** was converted into the corresponding sulfoxide in 98.4% yield in 1h, and 99.3% yield in 2h. No by-product was observed, showing that these mild conditions avoided any overoxidation into sulfone.

In a subsequent step, we focused on the influence of the MIP to oxidize substrates **3** and **4** (Figure 3). The greatest resemblance of these targeted molecules with the imprint molecule **2** could strongly influence the spatial positioning of reactants into the cavities. Three different solvents were firstly tested with **3** (Table 3). We noticed that the reaction time was directly correlated to the efficiency of the oxidation and larger quantities of sulfoxide were formed for long reaction times. The reaction was faster and highly selective in water, yielding 96% of sulfoxide and 4% of sulfone after 1h. Under the same conditions in absence of MIP, 24% of the starting materiel were recovered after 1h. In presence of methanol, oxidation of **3** by MIP was slowed down since 28% of the starting material were still detected after 1h. Instead, using a mixture of H_2O/CH_3OH (1/1, v/v) as solvent promoted the sulfone formation, especially after 2h. This was also confirmed replacing substrate **3** by **4** as all the starting material was converted leading to 67% sulfoxide and 33% sulfone after 2h. Nevertheless, comparing the results on the oxidation of **3** and **4** proved that the carboxyl ester group in **4** caused a reverse selectivity leading to the sulfoxide as major product. Thus, the fitting of the substrate into the MIP cavity influenced the organometallic catalyst activity.

Table 3. Oxidation of compound **3** by MIP

		H_2O/CH_3OH (1/1, v/v)	CH_3OH	H_2O
1h	*sulfide (%)*	10	28	0
	sulfoxide (%)	80	72	96
	sulfone (%)	10	0	4
2h	*sulfide (%)*	0	5	0
	sulfoxide (%)	36	77	57
	sulfone (%)	64	18	43

Finally, oxidation of **7** (Figure 4) involving a thioester function gave two products, *i.e.* the corresponding sulfoxide, then the

Please do not adjust margins

Please do not adjust margins

resulting sulfinic acid obtained after the C-S bond cleavage. Thus, the hydrolysis of this bond was promoted by initiating the reaction by oxidation at the sulphur.

In conclusion, we developed a porphyrin based MIP as a heterogeneous organometallic catalyst. This approach allows for the first time the access to a macromolecular porphyrin derivative with highly improved heme stability under oxidative conditions and increased efficacy as the catalyst was recycled three times without loss of its catalytic performance. Furthermore, the easy catalyst recovery after the reaction opens the way to a wide number of applications. We tested the efficiency of the MIP in the oxidation of sulfides into sulfoxides and sulfones, because this process is of great interest to various industrial fields and for the defence against chemical weapons such as sulfur mustards or V nerve agents. The mild conditions used for the catalysis are suitable to control the oxidation into sulfoxide in the case of HD simulants, and the C-S bond cleavage was successfully in the case of a carbonothioate derivative bearing a diisoprylpropan-amine group as in VX. This approach represents a well-defined strategy of decontamination and could be applied in the case of chemical warfare agents.

This work was partially supported by Normandie Université (NU), the Région Normandie, the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Université de Rouen Normandie (URN), INSA Rouen Normandie, Labex SynOrg (ANR-11-LABX-0029), Innovation Chimie Carnot (I2C). The authors are grateful to L. Bailly and C. Martin for their engaged technical assistance.

Conflicts of interest

The authors of this manuscript have no conflicts to declare.

References

1 (*a*) J. Pan, W. Chen, Y Ma, and G. Pan, *Chem. Soc. Rev.*, 2018, **47**, 5574–5587; (*b*) V. Lemau de Talance, O. Massinon, R. Baati, A. Wagner and S.P. Vincent, *Chem. Commun.*, 2012, **48**, 10684–10686; (*c*) J. de Dieu Habimana, J. Ji, F. Pi, E. Karangwa, J. Sun, W. Guo, F. Cui, J. Shao, C. Ntakirutimana and X. Sun, *Analytica Chimica Acta*, 2018, **1031**, 134–144; (*d*) Y. Kitayama, K. Yoshikawa, and T. Takeuchi, *Macromolecules*, 2017, **50**, 7526–7534.

2 (*a*) K. Betlem, M.P. Down, C.W. Foster, S. Akthar, K. Eersels, B. van Grinsven, T.J. Cleij, C.E. Banks and M. Peeters, *MRS Advances*, 2018, **3**, 1569–1574; (*b*) J. Ashley, X.T. Feng, and Y. Sun, *Talanta*, 2018, **182**, 49–54; (*c*) S. Chen, X. Chen, L. Zhang, J. Gao and Q. Ma, *ACS Appl. Mater. & Interfaces*, 2017, **9**, 5430–5436; (*d*) J. Xia, X. Cao, Z. Wang, M. Yang, F. Zhang, B. Lu, F. Li, L. Xia, Y. Li, and Y. Xia, *Sensors and Actuators B*, 2016, **225**, 305–311.

3 (*a*) D.M. Chen, Q. Fu, W. Du, S.J. Sun, P. Huang and C. Chang, *J. Pharm. Anal.* 2011**, 1**, 26–31; *(b*) R. Sun, H. Yu, H. Luo and Z. Shen, *J. Chromatogr. A*, 2004, **1055**, 1–9; (*c*) Q. Liu, J. Wan, X. Cao, *Proc. Biochem.*, 2018, **70**, 168–178; (*d*) Y.J. Yang, X.W. Liu, X.J. Kong, Z. Qin, Ze.H. Jiao, S.H. Li and J.Y. Li, *Molecules*, 2018, **23**, 1881/1–1881/14.

4 (*a*) W. Ruya, C. Yanru, H. Fan, L. Wei, D. Qiuzheng, Z. Yan, Z. Jun, H. Tao, F. Meriem and H. Hua, *J. Chromatogr. A*, 2019, Ahead of Print; (*b*) L. Yuanchen, W. Dan, D. Fuyou, Z. Wenqian, L. Zhimin, X. Zhigang, H. Xianzhi and L. Hongcheng *Microchem. J.*, 2019, **145**, 337–344; (*c*) P. Panjan, R.P. Monasterio, A. Carrasco-Pancorbo, A. Fernandez-Gutierrez, A.M. Sesay, and J.F. Fernandez-Sanchez, *J. Chromatogr. A*, 2018, **1576**, 26–33; (*d*) Z. Li, Z.Qian, S. Hu, T. Gong, and Q. Xian, *Chemosphere*, 2018, **212**, 872–880.

5 (*a*) G. Wulff, *Angew Chem. Int. Ed. Eng.*, 1995, **34**, 1812–1832; (*b*) E. Toorisaka, K. Uezu, M. Goto and S. Furusaki, Shintaro *Biochem. Eng. J.*, 2003, **14**, 85–91; (*c*) L. Zhang, X. Zhang, and Z. Xu, *Adv. Mater. Res.*, 2012, 466–467, 84–87; (*d*) D. Mathew, B. Thomas and K.S. Devaky, *React. Funct. Polym.*, 2018, **124**, 121–128.

6 Y. Bow, Hairul and I. Hajar. *Int. J. on Adv. Sci. Eng. and Information Tech.* 2015, **5**, 422-425.

7 L. Ye, T. Zhou and X. Shen, *Mol. Impr.*, 2015; **3**, 8–16

8 (*a*) J. Deisenhofer, O. Epp, K. Miki, R. Huberand H. Michel, *Nature* 1985, **318**, 618–624; (*b*) R. N. Pittman in Regulation of Tissue Oxygenation, Chapter 4-Oxygen Transport (Eds.: D. N. Granger, J. Granger), Morgan & Claypool Publishers Life Science series, 2011, pp. 19–30; (*c*) P. R. Ortiz de Montellano in Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry Chapter 4-Substrate Oxidation by Cytochrome P450 Enzymes (Eds.: P. R. Ortiz de Montellano), Springer, 2015, pp. 111–176.

9 B. Akagah, F. Estour, P. Vérité, P. Lameiras, M. Nour, C. Cavé, S. Ménager and O. Lafont, *Chirality*, 2004, **16**, 398–403.

10 (*a*) K.P. Shing, Y. Liu, B. Cao, X.Y. Chang, T. You and C.M. Che, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2018, **57**, 11947 –11951; (*b*) J.C. Wang, Y. Zhang, Z.J. Xu, V. K.Y. Lo and C.M. Che, *ACS Catal.*, 2013, **3**, 1144−1148

11 (*a*) H. Lu and N. Kobayashi, *Chem. Rev.*, 2016, **116**, 6184−6261; (*b*) G. Chatel, C. Goux-Henry, A. Mirabaud, T. Rossi, N. Kardos, B. Andrioletti and M. Draye *J. Catal.* 2012, **291** 127–132.

12 A. Aguiar, S. Ribeiro, A.M.N. Silva, L. Cunha-Silva, B. de Castro, A.M.G. Silva and S.S. Balula, *Appl. Catal. A*, 2014, **478**, 267–274.

13 P. Le Maux and G. Simonneaux, *Chem. Commun.*, 2011, **47**, 6957–6959.

14 (*a*) R. Pita and J. Domingo, *Toxics*, 2014, **2**, 391−402; (*b*) Y. C. Yang, J. A. Baker and J. R. Ward, *Chem. Rev.* 1992, **92**, 1729–1743; (*c*) K. Kim, O. G. Tsay, D. A. Atwood and D. G. Churchill, *Chem. Rev.*, 2011, **111**, 5345–5403; (*d*) B. M. Smith, *Chem. Soc. Rev.*, 2008, **37**, 470–478.

15 (*a*) A. J. Howarth, C. T. Buru, Y. Liu, A. M. Ploskonka, K. J. Hartlieb, M. McEntee, J. J. Mahle, J. H. Buchanan, E. M. Durke, S. S. Al-Juaid, J. F. Stoddart, J. B. DeCoste, J. T. Hupp and O. K. Farha, *Chem. Eur. J.*, 2017, **23**, 214–218; (b) Y.-C. Yang, *Acc. Chem. Res.*, 1999, **32**, 109−115.

16 G.W. Wagner, D.C. Sorrick, L.R. Procell, M.D. Brickhouse, I.F. Mcvey and L.I. Schwartz, *Langmuir,* 2007, **23**, 1178−1186.

17 A.M. McAnoy, J. Williams, M.R. L. Paine, M. L. Rogers and S.J. Blanksby, *J. Org. Chem.*, 2009, **74**, 9319–9327.

18 J. Ségrestaa, P. Vérité, F. Estour, S. Ménager and O. Lafont, *Chem. Pharm. Bull.* 2002, **50**, 744-748.

19 E. Burri, M. Öhm, C. Daguenet and K. Severin, *Chem. Eur. J.*, 2005, **11**, 5055 – 5061.

20 (*a*) R.J. Umpleby, M. Bode and K.D. Shimizu, *Analyst*, 2000, **125**, 1261–1265; (*b*) R.J. Umpleby II, S.C. Baxter, M. Bode, J.K. Berch, R.N. Shah and K.D. Shimizu, *Anal. Chim. Acta*, 2001, **435**, 35–42; (*c*) P. Sajonz, M. Kele, G. Zhong, B. Sellergren and G. Guiochon, *J. Chromatogr. A*, 1998, **810**, 1–17.

21 L.N. Vakhitova, K.V. Matvienko, N.A. Taran, N.V. Lakhtarenko and A. F. Popov, *Russ. J. Org. Chem.*, 2011, **47**, 951-960.

22 (*a*) J.S. Lindsey, H.C. Hsu and I.C. Schreiman, *Tetrahedron Lett.* 1986, **27**, 4969–4970; (*b*) G. Traylor, S. Tshuchiva, *Inorg. Chem.*, 1987, **26**, 1338–1339; (*c*) S. Farhadi, Abedien Zabardasti and M. Hosien Rahmati, *J. Chem. Res.*, 2011, 157–160.

 This journal is © The Royal Society of Chemistry 20xx

Please do not adjust margins

Résumé

L'impression moléculaire de polymères est une technique utile pour créer des récepteurs artificiels capables de lier sélectivement des substrats. Cette propriété de reconnaissance rend les polymères à empreintes moléculaires particulièrement intéressants pour développer des catalyseurs macromoléculaires. Notre objectif a ainsi été d'accéder à un catalyseur supramoléculaire recyclable et capable d'oxyder des dérivés du soufre dans des conditions hétérogènes en présence d'un oxydant doux et éco-compatible tel que le peroxyde d'hydrogène. Compte-tenu de l'engagement du laboratoire dans la lutte contre les armes chimiques, nous avons décidé d'orienter nos travaux vers la mise au point d'un système catalytique qui serait utile pour la décontamination de surfaces ou de matériels, suite à l'exposition à certains composés dont la détoxification passe par l'oxydation sélective d'un sulfure. Nous avons ainsi préparé un MIP à base de porphyrine dont nous avons testé l'efficacité dans l'oxydation de divers sulfures d'intérêt. Les conditions douces utilisées pour la catalyse ont ainsi permis de contrôler le degré d'oxydation d'un simulant de l'ypérite, en obtenant avec une très grande sélectivité le dérivé sulfoxyde, sans que le dérivé sulfone qui serait tout aussi toxique que l'arme chimique elle-même ne se forme. Aves des structures plus proches de celle du VX, nous avons montré qu'il était possible d'oxyder régiosélectivement le soufre, et mis en évidence l'intérêt de ce procédé pour faciliter le clivage d'une liaison C-S. Cette approche représente donc une stratégie de décontamination intéressante qu'il conviendra d'évaluer dans le cas de véritables agents de guerre chimique.

Mots clés

Polymères à empreinte moléculaire – Porphyrine – Catalyseur d'oxydation – Armes chimiques – Dérivés soufrés

Abstract

Molecular imprinting polymer is a useful technique for creating artificial receptors able of selectively binding substrates. These recognition properties are particularly interesting for developing macromolecular catalysts. Our aim was to access to a reusable supramolecular catalyst able of oxidizing sulfur derivatives under heterogeneous conditions in the presence of a mild and eco-sustainable oxidant such as hydrogen peroxide. Given the expertise of the team, we decided to focus our work on the development of a catalytic system for the decontamination of surfaces or equipment, after an exposure to compounds that can be detoxified by a selective oxidation of sulfides. Thus, we prepared a porphyrin-based MIP that we tested in the oxidation of various sulfides. The mild conditions used for the catalysis allowed a control of the oxidation degree of a simulant of yperite, leading to a great selectivity the sulfoxide derivative, and avoiding the toxic sulfone formation. With other structures similar to VX, we showed that it is possible to regioselectively oxidize the sulfur atom, and highlighted the interest of this process to facilitate the cleavage of a C-S bond. This approach is then an interesting decontamination strategy that will be evaluated in the future to the case of true chemical warfare agents.

Keywords

Molecular imprinting polymer – Porphyrin – Oxidative catalyst – Chemical weapons – Sulfur derivatives