



**HAL**  
open science

# Synthèse orthogonale de polymères à séquences contrôlées, optimisés pour la lecture de données digitales

Chloé Laure

## ► To cite this version:

Chloé Laure. Synthèse orthogonale de polymères à séquences contrôlées, optimisés pour la lecture de données digitales. Polymères. Université de Strasbourg, 2017. Français. NNT : 2017STRAF080 . tel-02917987

**HAL Id: tel-02917987**

**<https://theses.hal.science/tel-02917987>**

Submitted on 20 Aug 2020

**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.

**ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES**

**Institut Charles Sadron**

**THÈSE** présentée par :

**Chloé LAURE**

soutenue le : **09 Octobre 2017**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'Université de Strasbourg**

Discipline/ Spécialité : Chimie des polymères

**Synthèse orthogonale de polymères à  
séquences contrôlées, optimisés pour la lecture  
de données digitales**

**THÈSE dirigée par :**

**M. Jean-François LUTZ**

Directeur de Recherche au CNRS, ICS, Strasbourg

**RAPPORTEURS :**

**M. Daniel TATON**

Professeur, LCPO, Bordeaux

**M. Mathias DESTARAC**

Professeur, UFR Physique-Chimie-Automatique,

Toulouse

**AUTRES MEMBRES DU JURY :**

**Mme. Laurence CHARLES**

Professeur, ICR, Marseille

**M. Alberto BIANCO**

Directeur de Recherche au CNRS, IBMC, Strasbourg



*À Alexis...*





# Remerciements

*Pour ces trois années de thèse qui m'ont menée à l'obtention de mon doctorat, je tiens tout d'abord à remercier mon directeur, le Dr. Jean-François Lutz, qui m'a permis de travailler sur des projets novateurs et porteurs, en m'accordant sa confiance et m'embauchant au sein de son équipe. Equipe qui, par son dynamisme et la bonne ambiance qui y règne, a fait du troisième étage de l'ICS un endroit où il a fait bon travailler. Merci d'abord aux personnes qui m'ont formée et permis de m'améliorer durant ces 3 années : Laurence, pour ses conseils au quotidien, son sens pratique et sa patience à mon égard, Raj pour m'avoir transmis avec pédagogie son savoir sur la synthèse itérative, Tam qui m'a guidée lors de mes premiers pas dans l'équipe, et bien sûr Aziz, pour sa disponibilité, son grand savoir qu'il sait transmettre, et ses encouragements. Merci à Fair, Olga, Delphine, et Nezha, qui m'ont chaleureusement accueillie, et bien sûr au reste des Precious Club Members : Sofia, d'une profonde bienveillance, Denize, toujours attentive et avec qui ce fut un réel plaisir de collaborer, Roza étonnante d'énergie, Ufuk et le thé à la turque, Jereon qui a su me surprendre au fil du temps, Romain et ses discussions intéressantes, Gianiklas, pour la bonne humeur dans le bureau, les rires et les échanges linguistiques, Benoît, que j'ai aimé découvrir, sans oublier Elliot, parce c'est comme s'il faisait partie de l'équipe ! Merci également à Cécile et Clément, des PECMAT qu'on ne saurait remplacer. Clément, je ne pensais pas découvrir un mec aussi génial quand on s'est retrouvés, Cécile, je suis heureuse d'avoir trouvée une amie. Guillaume, tu as été mon binôme durant ces trois dernières années. De nos discussions est née une amitié, tu as toujours été là, pour chanter au labo, m'aider à obtenir des présentations parfaites, s'amuser, m'encourager, écrire des chansons... Pour tout ça, merci. Je n'oublierai pas de remercier toutes les collaborations qui m'ont permis d'enrichir cette thèse : Dr. Hans Börner et Dario Remmler de Berlin, Dr. Aziz Dinia d'avoir pris le temps de m'expliquer son travail, Julie, Mélanie et Catherine de la GPC, et évidemment Pr. Laurence Charles, sans qui mon travail de*

*synthèse n'aurait trouvé un tel intérêt. Je tiens également à remercier les autres membres de mon jury, Dr. Alberto Bianco, Pr. Daniel Taton, et Pr. Mathias Destarac, qui ont pris le temps de juger mon travail. Enfin, merci ceux de passage qui ont amené de la gaieté au sein de l'équipe: Stejn, Emmanuelle, et bien sûr Héloïse, qui fut un plaisir à encadrer, grâce à sa joie et sa curiosité.*

*Ces trois années ont également été égayées grâce à la présence quotidienne d'amis. Quentin, mon parrain, nos pauses café et nos classes vertes restent de beaux souvenirs, sans oublier de mentionner que tu étais mon consultant organicien! Charlotte, toujours disponible quand j'avais besoin de décompresser, merci d'être toujours là. Mathilde, ma Chouquette, pour m'avoir portée et soutenue jusque-là, et Marion parce que je peux toujours compter sur toi, merci. Lèna, pour m'avoir offert le plaisir de partager cette ville avec toi, merci. Lilia, pour avoir continué d'être là, tu es simplement géniale. Et Angéline, avec toi les discussions n'ont pas de fin et je suis heureuse d'en avoir partagées tant. Enfin, je ne saurais oublier de remercier celui qui fut pour moi un soutien au quotidien, et sans qui je n'aurais su traverser toutes les épreuves rencontrées au cours de ces trois dernières années. Merci à toi, Vincent, dont la patience et l'attention à mon égard les périodes plus difficiles m'ont impressionnée et touchée. Merci de toujours croire en moi. Je t'aime. Pour finir, je tiens à remercier toutes les personnes qui comptent pour moi, et en particulier ma famille. Papa, Maman, merci d'avoir cru en moi et de m'avoir permis d'en arriver là. Cette chance je vous la dois. Merci à tous ceux qui se sont déplacés le jour de ma soutenance et m'ont permis de vivre cette journée pleine d'émotions, et merci aux autres qui étaient là par la pensée.*

*Enfin, merci à vous de prendre le temps de découvrir mes travaux, et bonne lecture!*

# Table des matières

---

Liste des abréviations.....	1
Introduction générale .....	5
Chapitre I : Etat de l'art sur les polymères à séquences contrôlées	
I-1. Introduction .....	15
I-2. Les biopolymères, un exemple naturel de polymères à séquences contrôlées .....	17
I-3. Les polymérisations à séquences contrôlées.....	19
3.1 Polymérisations par étapes.....	19
3.2 Polymérisations en chaîne .....	21
3.2.1 Stratégie de mono-insertion de monomères.....	21
3.2.2 Insertion contrôlée cinétiquement d'unités fonctionnalisées.....	23
3.2.3 Synthèse de multiblocs pas ajouts successifs de monomères.....	25
3.2.4 Design de monomères pour une polymérisation par ouverture de cycle par métathèse	26
3.3 Synthèses multi-étapes.....	27
3.3.1 Introduction .....	27
3.3.2 Principe de la synthèse itérative sur support solide .....	28
3.3.3 Synthèse itérative de polymères à séquences contrôlées par l'approche « AB+AB ».....	30
3.3.4 Synthèse itérative sur support soluble .....	33
I-4. Synthèse itérative de polymères à séquences contrôlées sans groupements protecteurs .....	35
4.1 Introduction .....	35
4.2 Synthèse itérative mettant en jeu des groupements réactifs dormants.....	36
4.3 Stratégie « AA+BB » : utilisation de monomères bifonctionnels en large excès .....	37
4.4 Stratégie « AB+CD » basée sur une approche chimiosélective .....	38
4.5 Stratégie intermédiaire « AA+BC » .....	40
4.6 Utilisation de réactions multicomposants .....	41
I-5. Séquençage des polymères à séquences contrôlées.....	42
5.1 Techniques de séquençage développées pour les biopolymères .....	42

5.2	Techniques de séquençage des polymères synthétiques.....	43
Chapitre II : Synthèse orthogonale de poly(alcoxyamine amide)s à séquences contrôlées		
II-1.	Introduction .....	49
II-2.	Synthèse des monomères.....	52
2.1	Synthèse de l'anhydride 2-bromo-2-méthylpropanoïque codant pour 1 .....	52
2.2	Synthèse de l'anhydride 2-bromo-propanoïque codant pour 0 .....	53
II-3.	Synthèse itérative de poly(alcoxyamine amide)s sur support solide $R_{GW}$ .....	55
3.1	Stratégie générale de synthèse itérative des poly(alcoxyamine amide)s.....	55
3.2	Synthèse orthogonale d'une bibliothèque d'oligo(alcoxyamine amide)s codant pour 3 bits	56
3.3	Lecture des oligo(alcoxyamine)amides par spectrométrie de masse tandem .....	59
II-4.	Optimisation des conditions de couplage radicalaire .....	62
4.1	Influence du chauffage par micro-onde sur l'étape de couplage radicalaire .....	62
4.2	Recherche de nouvelles conditions pour un couplage radicalaire en présence d'air .....	66
4.2.1	Système acide ascorbique/ $CuSO_4$ .....	66
4.2.2	Système $CuX_2/Sn(II)$ .....	68
II-5.	Synthèse de poly(alcoxyamine)amides sur différents supports solubles .....	71
5.1	Choix d'une longue chaîne de poly(alcoxyamine)amides en tant que support soluble .....	72
5.2	Etude de la synthèse sur des supports solubles à différents taux de fonctionnalisation.....	75
5.2.1	Essai de référence sur support soluble fonctionnalisé en bout de chaîne $S_0$ .....	75
5.2.2	Etude sur les supports solubles fonctionnalisés latéralement $S_1$ et $S_2$ .....	77
5.2.3	Synthèse sur support soluble bifonctionnalisé latéralement $S_2$ .....	78
5.2.4	Ajustement du taux de fonctions réactives du support : synthèse sur support soluble monofonctionnalisé latéralement $S_1$ .....	81
II-6.	Synthèse de poly(alcoxyamine)amides sur support fluoré.....	84
6.1	Synthèse du support fluoré.....	85
6.1.1	Synthèse du support fluoré voie A.....	86
6.1.2	Synthèse du support fluoré voie B.....	87
6.2	Synthèse des oligo(alcoxyamine amide)s sur support fluoré .....	89
II-7.	Conclusion.....	93

## Chapitre III : Synthèse optimisée de poly(alcoxyamine amide)s pour l'écriture, le stockage, et la lecture d'informations

III-1. Introduction .....	97
III-2. Synthèse convergente pour un encodage facile par ajout de diades .....	98
2.1 Introduction .....	98
2.2 Synthèse des diades sur support $R_W$ .....	99
2.3 Synthèse convergente sur support $R_{GW}$ .....	102
III-3. Synthèse de codes-barres moléculaires pour augmenter la capacité de stockage .....	106
3.1 Introduction .....	106
3.2 Synthèse itérative des oligomères encodés monodisperses .....	108
3.3 Mélange intentionnellement polymoléculaire .....	109
III-4. Capping partiel pour une lecture sans fragmentation .....	112
4.1 Introduction .....	112
4.2 Résultats et discussion .....	114
4.2.1 Synthèse sur résine Rink-Amide $R_{RA}$ .....	114
4.2.2 Synthèse sur résine Fmoc-Gly-Wang .....	115
5. Conclusion .....	117
Chapitre IV : Synthèse itérative orthogonale de poly(alcoxyamine triazole)s	
IV-1. Introduction .....	121
IV-2. Synthèse des monomères .....	123
2.1 Synthèse du comonomère espaceur : le TEMPO- $N_3$ .....	123
2.2 Synthèse du comonomère codant : la cyclooctyne .....	125
2.2.1 Voie A : Synthèse du 2-(cyclooct-2-yn-1-yloxy)ethyl 2-bromo-2-methylpropanoate ..	125
2.2.2 Voie B : Synthèse du 4-(cyclooct-2-yn-1-yloxy)butyl 2-bromo-2-methylpropanoate ..	126
IV-3. Synthèses d'oligomères .....	128
3.1 Réactions modèles .....	128
3.1.1 Réaction 1 dans l'acétonitrile .....	128
3.1.2 Réaction 2 dans le chloroforme .....	129
3.1.3 Réaction 3 dans le mélange méthanol/eau .....	130
3.2 Synthèse itérative sur support $R_{GW}$ .....	133

IV-4. Conclusion et perspectives .....	137
Conclusion Générale .....	139
Partie Expérimentale .....	147
1. Techniques d'analyse et matériel utilisé.....	149
1.1 Résonance magnétique nucléaire.....	149
1.2 Chromatographie .....	149
1.3 Spectroscopie infrarouge .....	149
1.4 Spectrométrie de masse .....	149
1.5 Micro-onde .....	149
1.6 Synthèse itérative .....	150
2. Réactifs et solvants .....	150
3. Synthèse et analyses.....	151
3.1 Synthèses du Chapitre II .....	151
3.1.1 Synthèse de l'anhydride 2-bromo-2-méthylpropanoïque codant pour 1 .....	151
3.1.3 Stratégie générale de synthèse des poly(alcoxyamine amide)s sur support $R_{GW}$ .....	152
3.1.4 Analyse de la bibliothèque des 8 oligomères codant pour 3 bits.....	153
3.1.5 Synthèse d'oligo(alcoxyamine amide)s en utilisant le système acide ascorbique/ $CuSO_4$ pour l'étape de couplage radicalaire .....	158
3.1.6 Synthèse d'oligo(alcoxyamine amide)s en utilisant le système $CuX_2/Sn(II)$ pour l'étape de couplage radicalaire .....	158
3.1.7 Synthèse de poly(alcoxyamine amide)s sur une longue chaîne poly(alcoxyamine amide) utilisée en tant que support soluble .....	159
3.1.8 Stratégie générale de synthèse des poly(alcoxyamine amide)s sur les supports solubles $S_0, S_1$ , et $S_2$ .....	159
3.1.9 Synthèse du support fluoré Voie A .....	160
3.1.10 Synthèse du support fluoré Voie B .....	161
3.1.11 Synthèse de poly(alcoxyamine amide)s sur support fluoré.....	162
3.2 Synthèses du Chapitre III .....	163
3.2.1 Synthèse des 4 diades sur support $R_W$ .....	163
3.2.2 Synthèse convergente de poly(alcoxyamine amide)s sur support $R_{GW}$ .....	163

3.2.3	Synthèse des poly(alcoxyamine amide)s sur support $R_{GW}$ pour l'élaboration de codes-barres moléculaires.....	164
3.2.4	Synthèse avec capping partiel sur support $R_{RA}$ .....	170
3.2.5	Synthèse avec capping partiel sur support $R_{GW}$ .....	171
3.3	Synthèses du Chapitre IV .....	173
3.3.1	Synthèse du TEMPO- $N_3$ .....	173
3.3.2	Synthèse du 2(cyclooct-2-yne-1-yloxy)ethyl-2-bromo-2-méthylpropanoate.....	174
3.3.3	Synthèse du 2(cyclooct-2-yne-1-yloxy)butyl-2-bromo-2-méthylpropanoate.....	176
3.3.4	Réactions modèles dans un tube RMN .....	179
3.3.5	Synthèse d'un oligo(alcoxyamine triazole) sur support $R_{GW}$ à température ambiante	182
3.3.6	Synthèse d'un oligo(alcoxyamine triazole) sur support $R_{GW}$ avec utilisation du micro-onde	183
	Références .....	185
	Liste des publications.....	191





# Liste des abréviations

---

<b>ADMET</b>	Acyclic Diene Metathesis
<b>ADN</b>	Acide Désoxyribonucléique
<b>ARGET</b>	Activator Regenerated by Electron Transfer
<b>ARN</b>	Acide ribonucléique
<b>ATRP</b>	Atom-Transfer Radical Polymerization
<b>CNRS</b>	Centre National de la Recherche Scientifique
<b>CuAAC</b>	Copper-catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition
<b>Đ</b>	Indice de polymolécularité
<b>DCC</b>	N,N'-dicyclohexylcarbodiimide
<b>DCM</b>	Dichlorométhane
<b>DIPEA</b>	N, N-diisopropyléthylamine
<b>DMAP</b>	4-Diméthylaminopyridine
<b>DMF</b>	Diméthylformamide
<b>DMT</b>	Diméthoxytritle
<b>DMSO</b>	Diméthylsulfoxyde
<b>DSC</b>	Carbonate de N-N'-Disuccinimidyle
<b>ESI</b>	Electrospray Ionization
<b>Fmoc</b>	Fluorénylméthoxycarbonyle
<b>GMR</b>	Giant Magneto Resistance
<b>HBTU</b>	2-(1 <i>H</i> -benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate
<b>HPLC</b>	High-performance liquid chromatography
<b>HRMS</b>	High Resolution Mass Spectrometry
<b>ICAR</b>	Initiators for Continuous Activator Regeneration
<b>MALDI-TOF</b>	Matrix-assisted laser desorption/ionization - Time of Flight
<b>Me6tren</b>	Tris[2-(diméthylamino)éthyl]amine
<b>Mn</b>	Masse molaire moyenne en nombre
<b>MO</b>	Micro-onde
<b>MS</b>	Spectrométrie de Masse
<b>MS/MS</b>	Spectrométrie de masse tandem
<b>Mw</b>	Masse molaire moyenne en masse

<b>NAM</b>	Nucleic Acid Memory
<b>NMP</b>	Nitroxide-Mediated Polymerization
<b>PEG</b>	Polyéthylène glycol
<b>PEO</b>	Poly(oxyde d'éthylène)
<b>PMC</b>	Precision Macromolecular Chemistry
<b>PTzNA</b>	Peptide Triazole Nucleic Acid
<b>RAFT</b>	Reversible Addition-Fragmentation Chain-Transfer Polymerization
<b>RGW</b>	Résine Fmoc-Gly-Wang
<b>RMN</b>	Résonance Magnétique Nucléaire
<b>ROMP</b>	Ring-Opening Metathesis Polymerization
<b>ROP</b>	Ring-Opening Polymerization
<b>RRA</b>	Résine Rink-Amide
<b>RW</b>	Résine Wang
<b>SARA</b>	Supplemental Activator and Reducing Agent
<b>SEC</b>	Steric Exclusion Chromatography
<b>SpAAC</b>	Strain-Promoted Azide-Alkyne Cycloaddition
<b>SPE</b>	Solid Phase Extraction
<b>Ta</b>	Température ambiante
<b><i>t</i>-Bu</b>	<i>tert</i> -butyle
<b>TEMPO</b>	2,2,6,6-tétraméthylpipéridin-1-yl)oxyl
<b>TEMPO-NH<sub>2</sub></b>	4-Amino-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl
<b>TFA</b>	Trifluoroacetic Acid





# Introduction générale

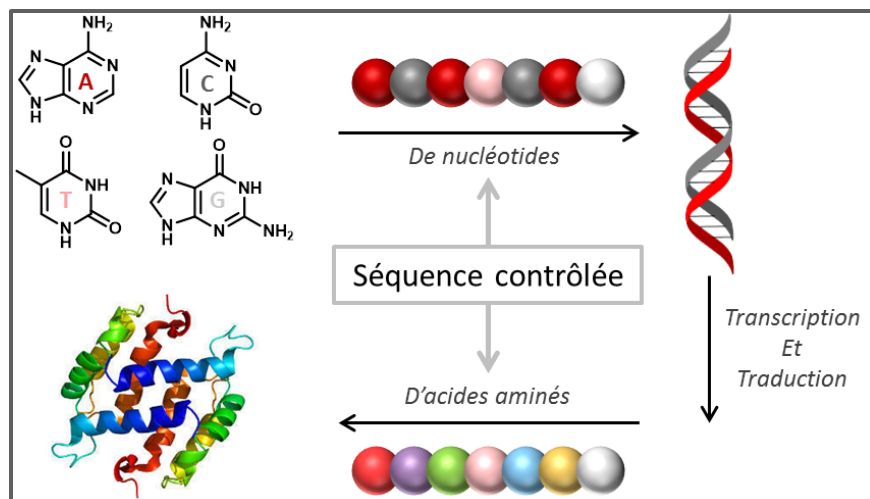
---



Les informations numériques sont actuellement principalement stockées sur des disques durs. A l'échelle planétaire, les données sont réparties sur plus de 2000 centres de données distribués à travers le monde, chacun de ces centres pouvant contenir jusqu'à 1200 serveurs. La quantité de données digitales émises par l'Homme ne cessant de croître - 5 exabits ( $10^{18}$  bits) en 2003 contre 160 en 2016 -, ces centres de données occupent aujourd'hui plusieurs millions de kilomètres carrés, occasionnant ainsi une perte de place d'une part, et une grande consommation d'énergie pour l'alimentation et le refroidissement des serveurs d'autre part.<sup>[1, 2]</sup> C'est pourquoi de nombreuses recherches ont été menées ces dernières années dans différents domaines afin d'optimiser la façon de stocker ces données. La découverte majeure du XX<sup>ème</sup> siècle dans ce domaine fut la résistance magnétique géante (GMR) en 1988, pour laquelle Fert<sup>[3]</sup> et Grünberg<sup>[4]</sup> reçurent le prix Nobel de physique en 2007. Cette avancée a permis la miniaturisation des mémoires actuellement présentes dans nos ordinateurs, car elle permet de détecter un champ magnétique très faible, et donc de lire des données à petite échelle. De plus, des recherches sur la microscopie à effet tunnel ont été menées depuis plusieurs décennies,<sup>[5]</sup> et les avancées récentes dans ce domaine permettent aujourd'hui de coder à l'échelle de l'atome par exemple, jusqu'à un kilooctet sur une surface de cuivre.<sup>[6]</sup>

Par ailleurs, le codage de l'information est également possible sur des macromolécules.<sup>[7]</sup> La nature offre en effet des exemples de polymères contenant de l'information. L'ADN possède une structure primaire contrôlée présentant un enchaînement de 4 bases : la guanine, la thymine, la cytosine et l'adénine. La séquence spécifique de ces bases contient l'information génétique et s'organise en double hélice. De même, après transcription en ARN et traduction en protéine, la séquence spécifique d'acides aminés contenue par cette dernière induira ses structures secondaires et tertiaires ainsi que ses fonctions propres. L'importance de contrôler la séquence est ainsi montrée Figure 1. Les recherches sur la synthèse et le séquençage de l'ADN se sont d'ailleurs énormément développées ces dernières décennies.<sup>[8]</sup> Les technologies actuelles permettent désormais d'encoder et de décoder de l'information portée par l'ADN, comme l'ont récemment prouvé Church et Goldman, indépendamment. Le premier a en effet encodé un livre en ADN,<sup>[9]</sup> tandis que le second a synthétisé des fichiers informatiques contenant 739 kilooctets d'informations.<sup>[10]</sup> Encore plus récemment, Erlich a encodé plus de 2 mégaoctets d'informations grâce à l'utilisation de « fontaines d'ADN ».<sup>[11]</sup>





**Figure 1 : Importance de la structure primaire en biologie. La séquence de nucléotides induit une double hélice d'ADN contenant l'information génétique. Après transcription et traduction de l'ARN, la séquence d'acides aminés induit la structure et ainsi la fonction de la protéine.**

Bien qu'il ait été prouvé que les biopolymères sont de bons candidats pour le stockage de données, leur structure moléculaire n'est pas forcément optimale pour des applications non-biologiques. Ils demeurent cependant une source d'inspiration pour la synthèse de polymères synthétiques. De la même façon, ceux-ci permettraient effectivement le stockage d'informations, en imposant simplement qu'un comonomère code pour **1** et un second pour **0** dans le cas d'un codage binaire.<sup>[2]</sup> Cela nécessite alors un contrôle parfait de l'ordre des monomères, codant pour **0** ou pour **1**, le long de la chaîne. Ces dernières décennies, de nouvelles techniques de polymérisations contrôlées ont été développées. Ces outils peuvent être classifiés en 3 grandes catégories (i) les polymérisations par étapes, (ii) les polymérisations en chaîne, et (iii) les synthèses multi-étapes.<sup>[12]</sup> Les polymérisations en chaîne et par étapes conventionnelles engendrent la plupart du temps des polymères aux indices de polymolécularité élevés présentant des structures peu définies.<sup>[13]</sup> Le développement des polymérisations en chaîne ioniques vivantes a par ailleurs permis d'accéder à des polymères de polymolécularité inférieure à 1,1. Le contrôle induit des bouts de chaîne en a fait, par exemple, une technique adéquate pour la synthèse de copolymères à blocs.<sup>[14]</sup> Les polymérisations ioniques requièrent toutefois une grande pureté des réactifs mis en jeu. Par ailleurs, différentes techniques de polymérisations radicalaires contrôlées (CRP), plus faciles à mettre en œuvre, ont été développées. La NMP (Nitroxide-Mediated Polymérisation),<sup>[15]</sup> l'ATRP (Atom-Transfer radical polymerization),<sup>[16, 17]</sup> et la RAFT (Reversible Addition-Fragmentation chain-Transfer polymerization),<sup>[18]</sup> permettent ainsi d'obtenir des polymères aux structures variées et aux architectures contrôlées.<sup>[19]</sup> Ces techniques n'engendrent cependant pas un contrôle de la séquence, monomère par monomère.

En revanche, la synthèse multi-étape offre un contrôle absolu de la structure primaire grâce à la synthèse itérative, qui consiste à attacher les monomères un à un sur une chaîne en croissance.<sup>[12]</sup> En 1963, Merrifield a développé la synthèse sur support solide pour la synthèse peptidique.<sup>[20]</sup> Cette

technique de synthèse itérative, permettant l'ajout d'acides aminés dans l'ordre désiré, peut s'adapter à la synthèse de polymères non naturels à conditions de choisir des comonomères pouvant réagir entre eux, et non homopolymérisables. Ainsi, cette stratégie de synthèse s'est avérée intéressante à explorer pour la synthèse de polymères contenant de l'information digitale. La synthèse itérative permet en effet d'ajouter les comonomères codants dans un ordre désiré.

Une grande variété de réactions chimiques s'offre à l'expérimentateur pour synthétiser un polymère à séquence contrôlée par voie itérative. Pour synthétiser un tel polymère encodé digitalement, un monomère codant pour **0** et un second codant pour **1** sont requis. Dans le but de s'affranchir des étapes de protection et de déprotection, chronophages dans le cadre d'une synthèse peptidique, une chimie orthogonale peut être mise en jeu. L'approche « **AB+CD** », expliquée Figure 2 et basée sur la chimiosélectivité, est étudiée et développée dans cette thèse. Dans celle-ci, deux types de monomères sont utilisés et sont impliqués dans deux types de réaction différents. La fonction **A** du premier monomère ne peut réagir qu'avec la fonction **C** du second, tandis que les fonctions **B** et **D** des premier et second respectivement ne peuvent réagir qu'entre elles. Afin de pouvoir mettre en place cette chimie orthogonale, deux types de comonomères sont utilisés dans cette thèse lors des synthèses de polymères séquencés : le comonomère codant –pour **0** ou pour **1** selon son substituant- ainsi qu'un espaceur. Les ajouts successifs d'unités codantes et d'espacesurs s'alternent donc tout au long de la synthèse.

Dans le cadre de cette thèse, différentes combinaisons de chimies orthogonales ont été étudiées ; le premier type de structure étudié met en jeu une amidification et un couplage radicalaire, tandis que le second implique une SpAAC (Strain-promoted Alkyne-Azide Cycloaddition) et ce même couplage. Dans chaque cas, l'ajout itératif des deux comonomères utilisés, a permis l'obtention de polymères séquencés encodés digitalement. De plus, chacune des structures étudiées présente des liaisons alcoxyamines, ce qui est un atout majeur pour la lecture du code. En effet, la labilité de ces liaisons permet de prévoir un chemin de fragmentation lors d'un séquençage par spectrométrie de masse tandem, permettant ensuite de recouvrer le code incrémenté le long de la chaîne grâce aux masses caractéristiques des unités codantes.

Cette thèse est organisée en 4 chapitres. Afin de permettre au lecteur de découvrir le contexte dans lequel s'inscrit cette dernière, le **chapitre I** est une introduction bibliographique aux polymères à séquences contrôlées. Dans un premier temps, les biopolymères et leurs applications dans l'encodage de données sont décrits brièvement. Puis, les différentes techniques de polymérisation à séquences contrôlées sont détaillées, avec un intérêt particulier pour la synthèse multi-étape étudiée dans cette thèse. Les approches permettant la synthèse de polymères à séquences contrôlées ne nécessitant pas l'emploi de groupements protecteurs sont ensuite expliquées, puisque l'approche « **AB+CD** » investiguée au cours de cette thèse s'inscrit dans ce contexte. Enfin, une brève description des techniques de séquençages actuelles est donnée au lecteur.<sup>[21]</sup> Par la suite, trois chapitres expérimentaux ont été développés et sont représentés Figure 2.

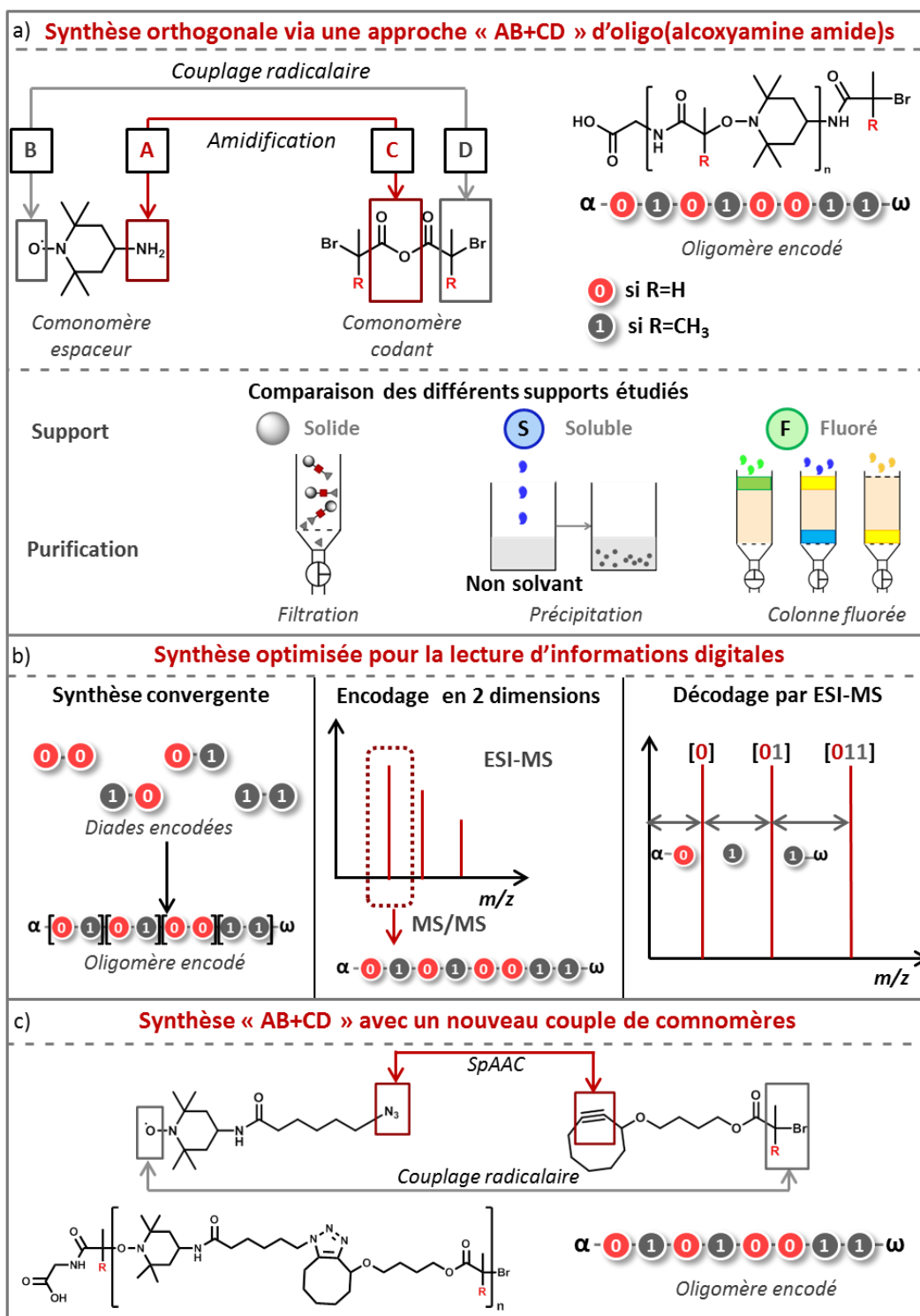


Figure 2 : Plan général des études menées. a) Chapitre II - Synthèse orthogonale des poly(alcoxyamine)amides : approche « AB+CD » et comparaison de différents supports –solide, soluble et fluoré. b) Chapitre III - Synthèse optimisée pour la lecture d'informations digitales : synthèse convergente par ajout de diades encodées, mélanges polydispersés pour une lecture en 2 dimensions, capping partiel après chaque ajout d'unité codante pour une lecture en ESI-MS. c) Chapitre IV - Etude d'un nouveau couple de comonomères pour une synthèse rapide d'oligomères encodés.

Le **chapitre II** décrit la synthèse et la lecture de poly(alcoxyamine amide)s. Dans un premier temps, l'optimisation des réactions orthogonales mises en jeu, que sont l'amidification et le couplage radicalaire, ainsi que la synthèse des monomères utilisés, sont discutées. L'optimisation de ces conditions a ensuite permis la synthèse de polymères séquencés contenant jusqu'à 8 unités codantes.<sup>[22]</sup> La lecture par spectrométrie de masse du code incrémenté, expliquée dans ce chapitre, s'est par ailleurs avérée pertinente grâce à la présence des liaisons alcoxyamines dans la structure.<sup>[23]</sup> De plus, il existe différents types de supports qui peuvent être utilisés dans le cadre d'une synthèse itérative. C'est pourquoi une comparaison des supports solides, solubles et fluorés a été menée dans ce chapitre, voir Figure 2-a).

Le **chapitre III** poursuit les études menées sur les poly(alcoxyamine amide)s. Il développe différentes stratégies, explorées dans le but d'optimiser l'encodage digital et la lecture de ces données, décrites Figure 2-b). Tout d'abord, la synthèse convergente a été étudiée et a permis d'obtenir rapidement un oligomère de 10 unités codantes, grâce à l'utilisation de diades pré-encodées.<sup>[24]</sup> Puis, afin d'augmenter la quantité d'informations contenues dans un échantillon, un codage en « 2 dimensions » a été effectué. Une série d'oligomères isomoléculaires de masses différentes a été synthétisée. Ces oligomères ont alors été mélangés, et l'échantillon résultant présente un pic par oligomère en électrospray. Chaque pic a ensuite pu être décodé par spectrométrie de masse tandem. L'acronyme « CNRS » a ainsi pu être synthétisé et lu.<sup>[25]</sup> Une dernière étude a été menée pour encore faciliter la lecture du code incrémenté : le capping partiel. Cette technique a permis d'effectuer un codage lisible sans fragmentation. Pour ce faire, la terminaison d'une fraction des chaînes en croissance a été induite après chaque ajout d'unité codante. Ainsi, après le clivage du support, l'échantillon contenait des chaînes avec 1 à n unités codantes, si n unités codantes avait été ajoutées. Lors de l'analyse par ESI-HRMS, à chaque taille de chaîne correspond une masse et donc un pic. L'écart entre chacun de ces pics a ensuite permis de déterminer quel bit **0** ou **1** a été ajouté à chaque étape.

Le **chapitre IV** explore quant à lui la synthèse de polymères à séquences contrôlées avec d'autres comonomères dessinés Figure 2-c). Dans la synthèse de poly(alcoxyamine amide)s, l'étape d'amidification dure 50 minutes. Or, dans la littérature, une réaction SpAAC mettant en jeu une cyclooctine et un azoture est décrite comme très rapide pour la formation de triazole. L'étude de cette cycloaddition pour remplacer l'amidification a donc été menée, tandis que l'étape de couplage radicalaire a été menée dans les mêmes conditions pour que pour la synthèse des poly(alcoxyamine amide)s. Les monomères mis en jeu ont donc été une cyclooctine fonctionnalisée par une unité codante bromée, ainsi qu'un TEMPO contenant une fonction azoture. Ce chapitre décrit la synthèse de ces monomères ainsi que les premières études de synthèse itérative sur support solide.



# Chapitre I

---

Etat de l'art sur les polymères à  
séquences contrôlées

---



## 1. Introduction

Le terme de polymères à séquences contrôlées s'applique à tout type de polymères présentant un arrangement séquentiel de monomères le long de leurs chaînes. Ce type de polymères se rencontre dans la nature, avec l'ADN ou les protéines par exemple. Il faut les distinguer des polymères séquencés, terme s'appliquant à tout polymère présentant des arrangements moins précis, tels que les copolymères à blocs, représentés Figure 3. Par ailleurs, le développement de techniques de polymérisations de plus en plus pointues a également permis un contrôle de la structure macromoléculaire de plus en plus fin lors de la synthèse de polymères non-naturels.

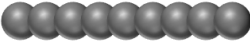


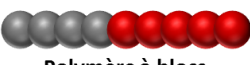
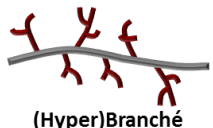

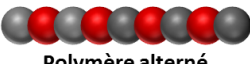
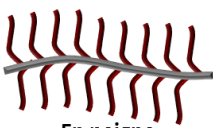
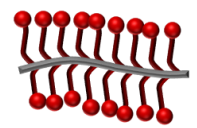

<i>Composition</i>	<i>Topologie</i>	<i>Fonctionnalité</i>
 <p>Homopolymère</p>	 <p>En étoile</p>	 <p>En bout de chaîne</p>
 <p>Polymère à blocs</p>	 <p>(Hyper)Branché</p>	 <p>Téléchélique</p>
 <p>Polymère alterné</p>	 <p>En peigne</p>	 <p>Aux chaînes latérales</p>
 <p>Polymère périodique</p>		

Figure 3 : Représentation non exhaustive de la diversité architecturale des polymères.

Ce chapitre explique les différents types de polymérisation existant actuellement, ainsi que les techniques développées pour atteindre un contrôle microstructural, le but étant d'obtenir un contrôle parfait de la séquence, monomère par monomère, afin de permettre l'encodage de données à l'échelle moléculaire.

L'ADN étant un polymère naturel dont la séquence de nucléotides contenue dans chaque brin est parfaitement ordonnée, il en fait un candidat parfait pour le stockage de données. C'est pourquoi, dans un premier temps, les dernières avancées pour l'encodage numérique sur des brins d'ADN sont décrites brièvement dans ce chapitre. Puis les 3 grandes catégories de polymérisations synthétiques que sont (i) la polymérisation par étape, (ii) la polymérisation en chaîne, et (iii) la synthèse multi-étapes, sont détaillées plus précisément. Chacune de ces approches peut être sous catégorisée en différentes techniques, comme le montre la Figure 4. Alors que la polymérisation par étapes n'offre que peu d'outils pour un contrôle des séquences, le développement des polymérisations vivantes contrôlées permet d'obtenir des polymères d'une isomolécularité proche de 1, avec des structures variées. En outre, seule la synthèse itérative permet un contrôle de la séquence monomère par monomère, nécessaire à l'encodage de données. C'est pourquoi un intérêt particulier est apporté à cette approche dans ce chapitre bibliographique.



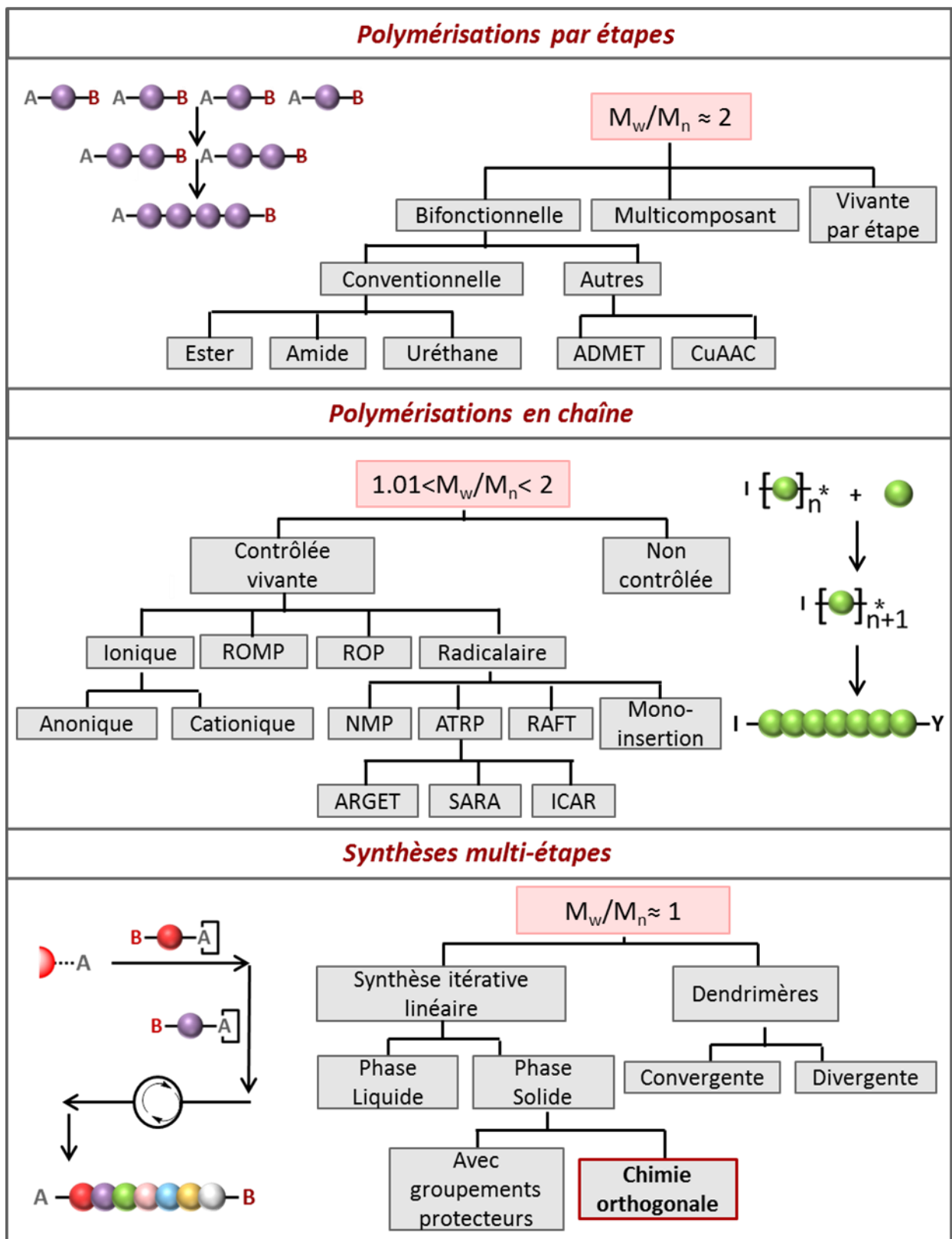


Figure 4 : Classification des trois principales approches pour la synthèse de polymères. Adapté de la référence <sup>[12]</sup>.

## 2. Les biopolymères, un exemple naturel de polymères à séquences contrôlées

Il a été expliqué dans l'**Introduction Générale** que la nature, source d'inspiration pour les scientifiques en général, propose des exemples de polymères dont la structure primaire est parfaitement contrôlée. Les protéines par exemple, résultent d'un enchaînement spécifique d'acides aminés, induisant leurs structures secondaires, tertiaires et quaternaires. L'ADN quant à lui, est un enchaînement de 4 nucléotides et s'organise en double hélice. Il est porteur de l'information génétique. De nombreuses études, s'inscrivant dans le cadre du « Humane Genome Project », ont d'ailleurs permis de décoder entièrement le génome humain en 2001.<sup>[26]</sup> Ce projet a conduit au développement de techniques de séquençages poussées des biopolymères séquencés.

Portées par ces avancées, différentes équipes se sont penchées sur la synthèse d'ADN en tant que support pour stocker de l'information. En effet, les spécialistes estiment que la demande mondiale en mémoire numérique atteindra les  $10^{24}$  bits en 2040, dépassant alors les ressources disponibles en silicium.<sup>[8]</sup> Or, les NAM (Nucleic Acid Memory) présentent différents avantages pour le stockage de données. Le temps de demi-vie de l'ADN à température ambiante par exemple, excède 100 ans, permettant une conservation des informations sur le long terme.<sup>[27]</sup> De plus, contrairement aux technologies actuelles, les NAM sont des technologies non volatiles – l'information ne disparaît pas lorsque le courant est coupé – atteignant une efficacité  $10^8$  fois supérieure à celle des mémoires flash industrielles.<sup>[8]</sup>

Ainsi, Church réussit en 2012 la performance d'écrire et de décoder un livre entier, ainsi qu'un programme JavaScript, pour une taille totale de plus de 0.65 mégaoctets.<sup>[9]</sup> L'année suivante, Goldman et son équipe synthétisent sur l'ADN des fichiers informatiques contenant 0.74 mégaoctets d'informations binaires.<sup>[10]</sup> Un faible pourcentage d'erreurs s'est cependant introduit et n'a pas permis de recouvrer parfaitement toutes les données implémentées. Certaines erreurs peuvent en effet se glisser durant l'écriture, le stockage à long terme, ainsi que pendant le séquençage. C'est pourquoi, en 2015, Grass intègre à sa méthode des codes de correction – codes Reed-Solomon<sup>[28]</sup> – et encode la charte fédérale de Suisse ainsi que la version anglaise de la Méthode d'Archimède, pour une taille totale de 83 kilooctets qui ont pu être entièrement décodés.<sup>[29]</sup> De plus, en encapsulant les brins d'ADN dans une matrice de silice, il a démontré grâce à un vieillissement accéléré qu'il était possible de stocker l'information sur ce type de support, et de la recouvrer sans erreur après 2000 ans dans des conditions climatiques européennes.

Une avancée plus récente encore a été rapportée par Erlich en mars dernier, avec la synthèse de « fontaines d'ADN » ; une approche robuste qui a permis l'encodage d'un système de fonctionnement complet d'un ordinateur, d'un film, ainsi que d'autres fichiers informatiques.<sup>[11]</sup> Il s'appuie sur le fait qu'idéalement, chaque nucléotide pourrait avoir une capacité d'informations de 2 bits - **[11]**, **[10]**, **[01]**, et **[00]** – pour augmenter la densité de stockage. En envisageant toutes les limitations lors de l'encodage

sur ADN, telles que la difficulté de synthèse de longs homopolymères ou encore la présence nécessaire sur chaque chaîne de nucléotides indexant et donc non codant, cette valeur s'élevé plus précisément à 1.83. La stratégie des « fontaines d'ADN » est basée sur un encodage en 3 étapes que sont (i) la segmentation du code binaire à incrémenter, (ii) la transformée de Luby, qui rassemble les données dans un nombre désiré de messages courts, appelés gouttelettes, et (iii) le screening, qui analyse les chaîne d'ADN synthétisées à partir de ces gouttelettes et les refuse si elles ne remplissent pas tous les critères désirés. Grâce à cette approche, Erlich a atteint une densité de stockage de 1.57 bit par nucléotide. Les résultats atteints par chacune des équipes mentionnées sont répertoriés de manière chronologique Tableau 1. Alors que tous ces travaux ont été effectués par assemblage *in vitro* d'oligonucléotides, on peut noter l'avancée récente de Church, qui a réussi à encoder un film digital à l'intérieur du génome d'une population de bactéries, par additions successives de nucléotides.<sup>[30]</sup>

Paramètre	Church <sup>[9]</sup> (2012)	Goldman <sup>[10]</sup> (2013)	Grass <sup>[29]</sup> (2015)	Erlich <sup>[11]</sup> (2017)
<b>Données encodées (Moctets)</b>	0.66	0.74	0.08	2.15
<b>Densité d'informations nette (bit/nt)</b>	0.83	0.33	1.14	1.57
<b>Densité physique (Poctet/g)</b>	1.28	2.25	25	214

**Tableau 1 : Comparaison chronologique de certains paramètres pour le codage d'information sur l'ADN. La densité d'informations nette correspond au nombre de bits moyen réellement encodés par nucléotide synthétisé. La densité physique correspond au ratio entre la quantité d'informations encodées et la masse minimum d'ADN à analyser pour recouvrer l'information dans sa totalité.**

Les récentes études montrent bien que l'ADN est un support prometteur pour le stockage de l'information à long terme. De plus, contrairement aux technologies utilisées actuellement, les NAM peuvent être répliquées en un grand nombre de copies, et à bas prix. Enfin, quelques avancées récentes tendent à montrer que ce secteur sera en expansion dans les années à venir : Oxford Nanopore Technologies a développé un instrument de séquençage portable pesant seulement 70 grammes,<sup>[31]</sup> tandis qu'Illumina travaille sur un séquenceur à puce d'ADN qui s'utiliserait comme un stéthoscope moléculaire.<sup>[32]</sup>

Grâce aux technologies préexistantes pour le séquençage de l'ADN, l'encodage sur ce support moléculaire s'est rapidement développé ces dernières années. Les bases mises en jeu lors de la synthèse de tels biopolymères sont cependant fixes, et pas forcément idéales pour l'application recherchée. En revanche, une même approche peut s'envisager sur des polymères synthétiques, dont la structure et les monomères mis en jeu lors de la synthèse peuvent être choisis par l'expérimentateur afin de répondre au mieux aux critères recherchés. Il faut alors être capable de synthétiser des polymères non-naturels avec un parfait contrôle de la séquence primaire, afin d'obtenir des chaînes isomoléculaires sur lesquelles sont incrémentés des bits d'information dans un ordre désiré.

### 3. Les polymérisations à séquences contrôlées

#### 3.1 Polymérisations par étapes

La polymérisation par étapes est un mécanisme qui, contrairement à la polymérisation en chaîne, s'effectue étape par étape. Chaque monomère est porteur de 2 fonctions (ou plus) pouvant réagir entre elles. Les dimères formés portent les même fonctions que précédemment et peuvent réagir entre eux, et ainsi de suite jusqu'à obtention d'un polymère –voir Figure 4. Ce type de polymérisation a dans un premier temps été développé pour la synthèse de polyesters, polyamides, polycarbonates ou encore polyuréthanes, et engendre généralement des indices de polymolécularité aux alentours de 2.<sup>[12]</sup> Cependant, de nouvelles approches telles que l'ADMET,<sup>[33]</sup> la CuAAC,<sup>[34]</sup> ou encore l'addition radicalaire,<sup>[35]</sup> ont été investiguées ces dernières années dans le but de parvenir à un meilleur contrôle des structures obtenues. Cette partie décrit de manière non exhaustive différents travaux effectués sur les nouvelles techniques de polymérisation par étapes.

La polymérisation ADMET repose sur des réactions de métathèse, dont la chimie a été découverte dans les années 60.<sup>[36]</sup> Les travaux de Wagener et Lindmark-Hambourg sur le mécanisme de l'ADMET ont ensuite permis d'améliorer les conditions de polymérisation afin d'obtenir des polymères insaturés synthétisés par ADMET, sans qu'une polymérisation radicalaire du vinyle n'entre en compétition.<sup>[37]</sup> Dans les années 90, Wagener développe la polymérisation ADMET et publie la première synthèse de polymère avec une masse moléculaire supérieure à  $100000\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ,<sup>[38]</sup> puis celle de polyéthylène parfaitement linéaire.<sup>[39]</sup> En 2012, l'équipe de Li publie la synthèse de copolymères vinyliques contenant des unités  $\gamma$ -butyrolactones par ADMET, dessinée Figure 5.<sup>[40]</sup> Les polymères ont été obtenus à partir de diènes symétriques contenant 2 unités  $\gamma$ -butyrolactones, polymérisés en présence d'un catalyseur de Grubbs. Cette stratégie a permis d'obtention de copolymères périodiques, dont l'espacement entre chaque unité  $\gamma$ -butyrolactones peut être régulé en jouant sur la longueur des chaînes alkyles portées par le monomère.

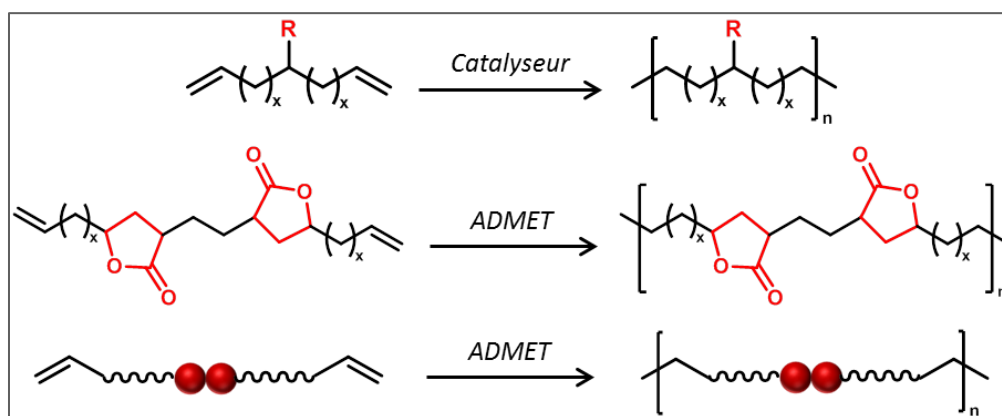
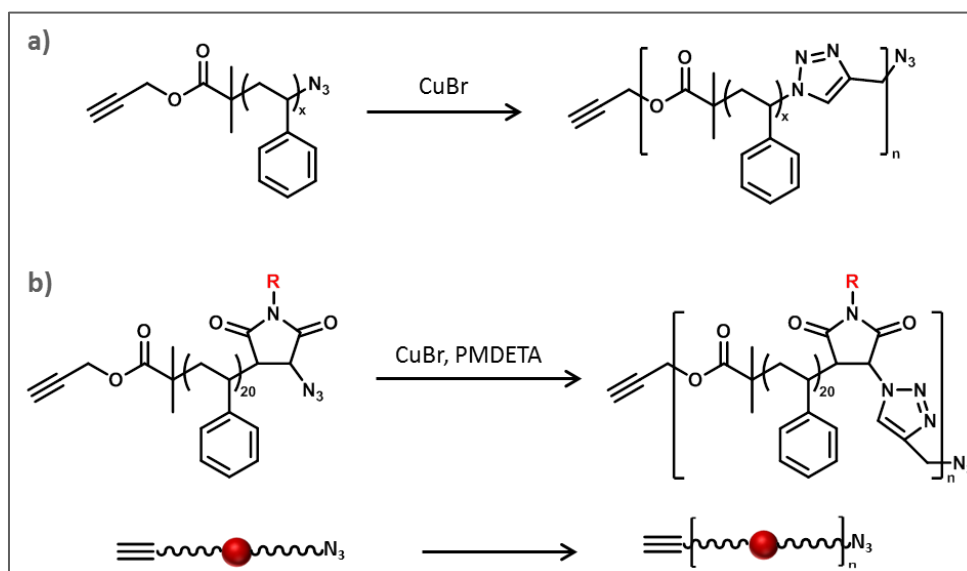


Figure 5 : Haut : principe de l'ADMET. Bas : Synthèse de copolymères périodiques contenant des unités  $\gamma$ -butyrolactones par ADMET. Adapté de la référence<sup>[40]</sup>.

Une autre technique permettant d'obtenir des copolymères périodiques est la polycondensation de monomères portant une liaison alcyne et un azoture, pouvant ainsi se soumettre à une cycloaddition de Huisgen, induisant la formation d'un triazole.<sup>[34]</sup> En 2005, Matyjaszewski rapporte la synthèse de copolymères par couplage de pré-polymères téléchéliques obtenus par ATRP – voir Figure 6-a).<sup>[41]</sup> Puis en 2009, Lutz s'appuie sur ce concept pour polymériser le même type de structure, à la différence que les monomères mis en jeu portent une unité maléimide positionnable, dont la fonction portée peut varier. Il parvient ainsi à synthétiser des copolymères périodiques atteignant des masses supérieures à 20000g.mol<sup>-1</sup>, et aux structures variant selon le groupement porté par le maléimide N-substitué, comme le montre la Figure 6-b).



**Figure 6 : Synthèse de copolymères périodiques contenant une unité triazole par cycloaddition de Huisgen. a) Polycondensation développée par Matyjaszewski.<sup>[41]</sup> b) Polycondensation développée par Lutz permettant la présence d'un groupement porté par l'unité maléimide N-substituée.<sup>[42]</sup>**

En 2010, Kamigaito publie la synthèse de copolymères à séquences régulées, par polymérisation par étapes radicalaires. Son équipe avait précédemment reporté le concept de la polycondensation radicalaire métalo-catalysée,<sup>[35, 43]</sup> qui est une évolution de l'addition de Karasch et met en jeu des monomères possédant une double liaison C=C insaturée ainsi qu'une liaison C-Cl réactive.<sup>[44]</sup> En présence de métal, ces deux liaisons forment des radicaux pouvant réagir ensemble, menant ainsi à la formation d'une nouvelle liaison C-C. Des polyesters linéaires ont ainsi été obtenus. De plus, en travaillant le design des monomères mis en jeu, des copolymères séquencés « **AABC** » ont été synthétisés – voir Figure 7. L'analyse RMN de ces copolymères synthétiques linéaires à squelette carboné atteste d'un enchaînement contrôlé des unités acrylate-acrylate-chlorure de vinyle-styrène, tandis que les analyses SEC indiquent un indice de polymolécularité compris entre 1,7 et 2,3.<sup>[45]</sup>

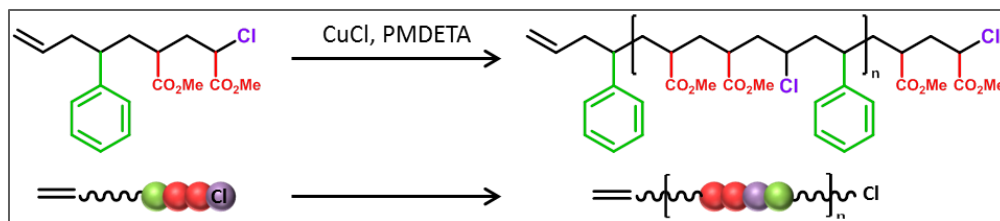


Figure 7 : Synthèse de copolymères périodique « AABC » par polymérisation radicalaire par étapes catalysée au métal, développée par Kamigaito.<sup>[45]</sup>

## 3.2 Polymérisations en chaîne

Les polymérisations par étapes sont utiles pour obtenir des polymères présentant des séquences de monomères périodiques. Cependant, ces techniques conduisent la plupart du temps à des indices de polymolécularité élevés. Il est en revanche possible d'obtenir des séquences plus diversifiées grâce aux polymérisations en chaîne. L'apparition des polymérisations vivantes contrôlées a permis la synthèse de macromolécules avec une longueur de chaîne contrôlée, ainsi qu'une polymolécularité assez faible. Les techniques de polymérisation radicalaires contrôlées, telles que la NMP,<sup>[15]</sup> l'ATRP,<sup>[16]</sup> ou encore la RAFT,<sup>[18]</sup> sont de bons outils pour la synthèse de polymères à architectures contrôlées et permettent le contrôle de paramètres moléculaires tels que les séquences de comonomères. Cette partie décrit, de manière non exhaustive, les travaux récents sur les copolymérisations en chaîne visant un contrôle microstructural des séquences obtenues.

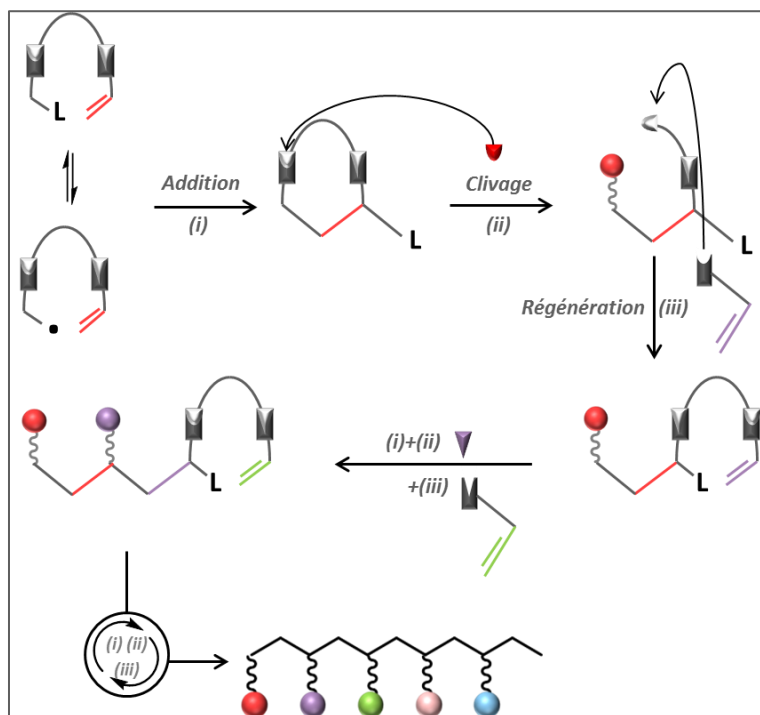
### 3.2.1 Stratégie de mono-insertion de monomères

La régulation locale des séquences de monomères peut être obtenue par des réactions de mono-addition de monomères sur les chaînes polymères. Quelques exemples sont décrits dans cette partie. En 1990, l'équipe de Higashimura décrit la synthèse d'oligomères à séquences régulées par polymérisation cationique vivante.<sup>[46]</sup> La polymérisation d'éthers de vinyle a été amorcée par le couple HI/ZnI<sub>2</sub> afin de contrôler les séquences. En effet, en réagissant avec un premier monomère, HI forme un adduit iodé stable. L'espèce dormante ne peut s'activer qu'en présence de ZnI<sub>2</sub> et du second monomère ajouté au milieu. Cette approche aurait donc théoriquement dû mener à des polymères à séquences parfaitement contrôlées. Il faut cependant que les étapes d'activation/addition soient cinétiquement bien plus favorables que l'homopolymérisation pour arriver à un tel contrôle. C'est pourquoi les oligomères n'ont été obtenus qu'avec un contrôle partiel des séquences, celui-ci s'améliorant lorsque les monomères ont été ajoutés par ordre décroissant de réactivité.

Plus récemment, de nombreuses études se sont portées sur la polymérisation RAFT des acrylates, puisque ces derniers peuvent porter une grande variété de fonctions différentes. En 2013, Junkers synthétise des oligo(acrylate)s à séquences contrôlées par additions successive de monomères polymérisant par RAFT.<sup>[47]</sup> Après chaque ajout de monomère, le composé a dû être purifié. La nouveauté de leur approche repose cependant sur l'utilisation d'une chromatographie à exclusion stérique

automatisée et recyclant, moins coûteuse en temps et en argent qu'une colonne de chromatographie sur silice classique.<sup>[48]</sup> Deux structures différentes d'oligo(acrylate)s portant 4 fonctions différentes ont ainsi été synthétisées.

Sawamoto a également réalisé de nombreux travaux sur le contrôle de la séquence par polymérisation en chaîne. L'une de ses approches a été l'utilisation d'un « template », amorceur macromoléculaire contenant deux liaisons C-Cl réactives, l'une pour la polymérisation cationique vivante, et l'autre pour la polymérisation radicalaire.<sup>[49]</sup> La reconnaissance spécifique des monomères ajoutés, particulièrement en présence d'un catalyseur de choix, a permis l'addition radicalaire sélective de méthacrylates, menant à la synthèse de polymères à séquences régulées.<sup>[50]</sup> Plus récemment, il a proposé une stratégie, décrite Figure 8, basée sur une cyclisation radicalaire contrôlée itérative, pour la synthèse de polymères vinyliques présentant un contrôle de la séquence.<sup>[51]</sup> Cette approche s'inspire de la croissance d'une chaîne peptidique dans un ribosome. Ici, l'amorceur-monomère de départ contient deux liaisons différentes clivables et régénérables, que sont la liaison NHS-ester et la liaison Py-SS. Les additions radicalaires successives menant à la cyclisation du composé, suivies par un clivage et une régénération en fin de chaîne, ont permis l'obtention de chaînes courtes à séquences contrôlées.



**Figure 8 : Principe de la cyclisation itérative à partir d'un amorceur-monomère portant deux types de liaisons clivables et régénérables : (i) Mono-addition de monomère contrôlée par une cyclisation donnant lieu à une structure « fermée ». Puis le clivage sélectif (ii), suivi de la régénération de la liaison portant le groupe vinyle suivant (iii), permettent une nouvelle mono-addition de monomère. Adaptée de la référence <sup>[51]</sup>.**

Enfin, il a appliqué ce principe d'addition radicalaire itérative à un monomère précis : un méthacrylate alkyle tertiaire, portant d'une part un groupe adamantyle, et d'autre part un groupe isopropyle. Après chaque ajout de ce monomère, une acidolyse permet d'obtenir une fonction acide, qui

peut ensuite réagir par estérification, permettant l'ajout de différentes fonctions selon celle portée par l'alcool mis en jeu. La structure obtenue après un cycle (i) addition de monomère, (ii) acidolyse, (iii) estérification, permet de réitérer ce cycle le nombre de fois choisi par l'expérimentateur, en variant les fonctions ajoutées lors de l'estérification.<sup>[52]</sup>

### 3.2.2 Insertion contrôlée cinétiquement d'unités fonctionnalisées

Bien qu'il soit difficile de contrôler la séquence de comonomères lors d'une copolymérisation en chaîne, la copolymérisation radicalaire du styrène avec des anhydrides maléimiques ou bien des maléimides N-substitués fait exception, grâce au caractère donneur-accepteur unique de ce couple de comonomères. En effet, lors de la polymérisation, la propagation croisée est hautement favorisée comparée à l'homopolymérisation, menant à la synthèse de copolymères alternés.<sup>[53]</sup> Hawker et Russel ont ainsi démontré que, lors d'une polymérisation radicalaire contrôlée, ce comportement cinétique permettait l'obtention de copolymères bien définis grâce à la consommation rapide du monomère ajouté, composés de petites séquences de copolymères alternés, connectées à de longues séquences de styrène.<sup>[54]</sup>

En s'appuyant sur ces observations, Pfeifer et Lutz ont décrit, en 2007, une nouvelle stratégie de synthèse de copolymères fonctionnalisés à séquences contrôlées, basée sur des insertions d'unités maléimides contrôlées cinétiquement lors d'une polymérisation ATRP de styrène.<sup>[55]</sup> Cette copolymérisation radicalaire contrôlée repose sur 2 principes cinétiques : (i) toutes les chaînes croissent simultanément (ii) la propagation croisée des comonomères est grandement favorisée par rapport à l'homopolymérisation. Ainsi, de faibles quantités de maléimides ont été ajoutées au milieu à des temps précis, et consommées très rapidement, permettant l'obtention de chaînes polystyrène contenant des unités maléimides fonctionnalisées localisées, comme expliqué Figure 9-a). L'année suivante, cette approche a été étendue à une bibliothèque de 20 maléimides N-substitués portant des fonctions variées, prouvant ainsi son caractère polyvalent.<sup>[56]</sup>

La grande variété de maléimides pouvant être mis en jeu dans cette copolymérisation a permis la synthèse de polymères fonctionnalisés pour différentes applications. Par exemple, Lutz et son équipe ont décrit la synthèse de polyélectrolytes de précision grâce à cette approche.<sup>[57]</sup> Le tert-butyl 4-vinyle benzoate a été polymérisé par ATRP tandis qu'un ajout cinétiquement contrôlé de maléimides N-substitués a été effectué. Après la polymérisation, les macromolécules ont été hydrolysées en polyanions, ouvrant la voie à la synthèse de polymères hydrosolubles aux microstructures contrôlées. Puis en 2013, l'équipe de Lutz reporte la synthèse novatrice de polymères portant différents sucres.<sup>[58]</sup> Les glycopolymères sont en effet intéressants pour des applications biotechnologiques grâce à leur reconnaissance des lectines.<sup>[59]</sup> Dans cette approche expliquée Figure 9-b), des unités maléimides portant chacune une fonction alcyne protégée par un groupement protecteur différent ont été insérées le long de la chaîne. Puis, après une déprotection sélective, chacun des sites alcyne a été fonctionnalisé par un sucre porteur d'une fonction azoture via une CuAAC. Il a ainsi été possible de synthétiser des



glycopolymères de hautes masses moléculaires à séquences contrôlées. En outre, cette technique de polymérisation a été automatisée par l'équipe de Lutz, permettant alors la synthèse de copolymères avec un degré de polymérisation de 100, avec 8 insertions d'unités maléimides N-substitués.<sup>[60]</sup>

Un dernier exemple a été décrit par Lutz en 2011 : la synthèse de chaînes présentant différentes formes grâce à la présence de ponts covalents intramoléculaires.<sup>[61]</sup> Les unités maléimides ajoutées présentaient des fonctions azotures ou alcynes protégées. Ainsi, après la copolymérisation et après déprotection, ces fonctions ont pu réagir entre elles dans les conditions d'une CuAAC. En contrôlant avec précision les emplacements des fonctions azoture et alcyne sur la chaîne, les ponts intramoléculaires ont permis la formation de différentes formes - P, Q, 8, ou encore  $\alpha$  -, comme le montre la Figure 9-c).

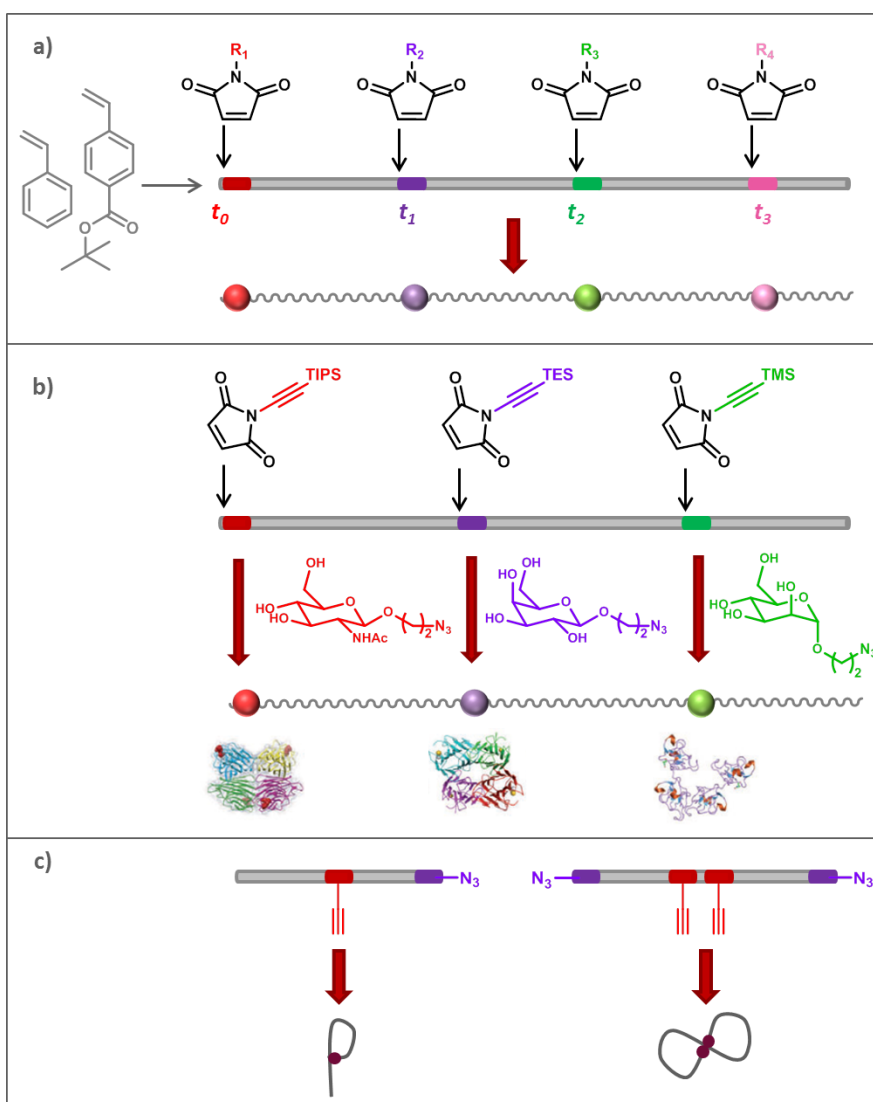


Figure 9 : a) Principe général de l'insertion contrôlée cinétiquement d'unités maléimides N-substituées fonctionnalisées le long d'une chaîne carbonée.<sup>[56]</sup> b) Déprotection sélective des alcynes pour le greffage de sucres localisé le long d'une chaîne polystyrène.<sup>[58]</sup> c) Contrôle de la structure de la chaîne par la formation de ponts covalents avec un emplacement choisi.<sup>[61]</sup>

### 3.2.3 Synthèse de multiblocs pas ajouts successifs de monomères

La même année, Perrier publie la synthèse de copolymères à blocs séquencés présentant une longueur de chaîne jusqu'à 20 blocs de 3 unités chacun.<sup>[62]</sup> Dans cette approche, basée sur une polymérisation radicalaire par transfert dégénératif, les monomères sont ajoutés successivement au milieu, dans des conditions non-restrictives, et sans purification après chaque ajout, ouvrant la voie à une mise en œuvre à plus grande échelle. Cependant, la fraction de chaînes mortes augmente après chaque ajout de monomère, augmentant ainsi la polymolécularité de l'échantillon. Les copolymères ont ainsi été obtenus avec un indice de polymolécularité de 1,36.

Plus récemment encore, Haddleton et son équipe ont étudié la synthèse de copolymères séquencés d'acrylates par photopolymérisation.<sup>[63]</sup> Les ajouts successifs d'acrylates fonctionnalisés ont été effectués en présence de  $\text{CuBr}_2$  et du ligand  $\text{Me}_6\text{TREN}$ , sous irradiation UV à 360nm. Comme décrit Figure 10, les ajouts successifs de monomères au milieu, sans précautions particulières, ont permis l'obtention de copolymères à séquences contrôlées portant 4 fonctions différentes, et avec un indice de polymolécularité inférieur à 2.

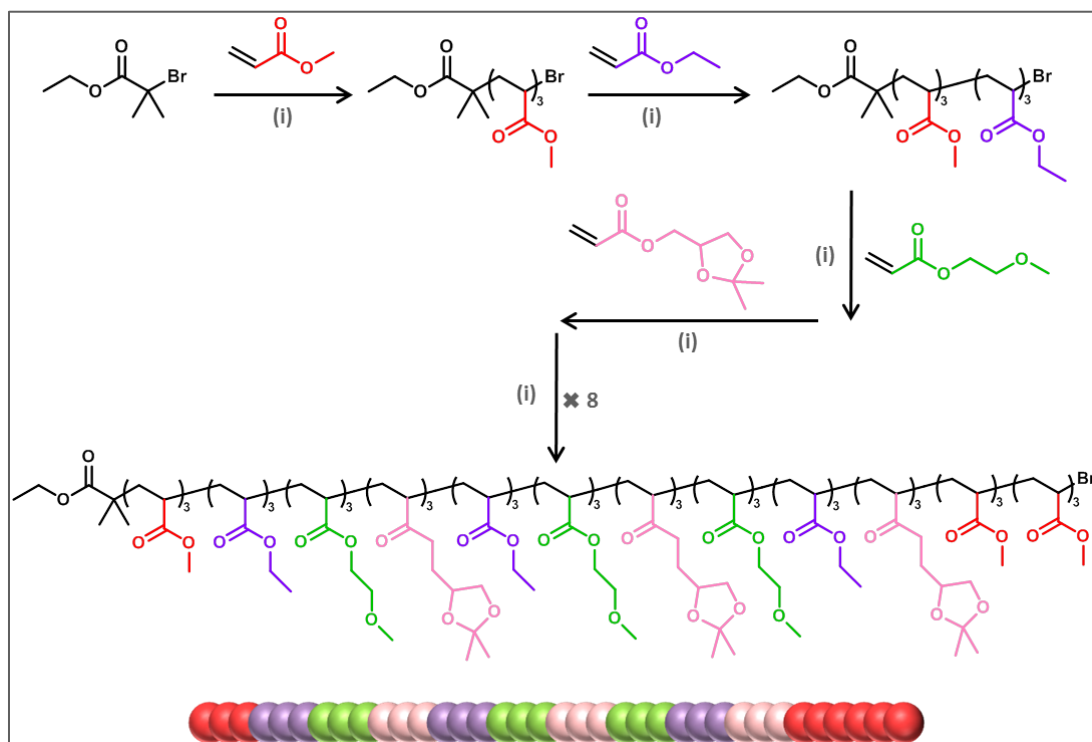


Figure 10 : Synthèse de copolymères à séquences contrôlées par photopolymérisation d'acrylates. (i)  $\text{CuBr}_2$ ,  $\text{Me}_6\text{TREN}$ , UV (360nm), DMSO.

### 3.2.4 Design de monomères pour une polymérisation par ouverture de cycle par métathèse

La polymérisation par ouverture de cycle par métathèse est une polymérisation en chaîne résultant de la métathèse d'alcènes cycliques. Ce type de polymérisation requiert généralement des macrocycles contraints pour permettre l'ouverture de cycle. Cependant, les travaux de Choi ont prouvé qu'il était possible de polymériser un cyclohexène non contraint grâce à la présence d'une fonction alcyne sur le cycle.<sup>[64]</sup> En s'appuyant sur ces observations préalables, Gutekunst et Hawker ont synthétisé en 2015 un cyclo-alcène fonctionnalisé, dans le but d'obtenir des polymères à séquences contrôlées par ROMP.<sup>[65]</sup> La synthèse du macrocycle s'est inspirée des travaux de Hoyer sur la fermeture de cycle par métathèse,<sup>[66]</sup> et a permis l'obtention d'un monomère portant 5 fonctions différentes. Ce dernier a ensuite été polymérisé en présence d'un catalyseur de Grubbs de 3<sup>ème</sup> génération, pour obtenir un polymère multifonctionnel, dont les fonctions portées par le squelette s'enchaînent toujours dans le même ordre, comme le montre la Figure 11, avec une polymolécularité de 1,2 en moyenne.

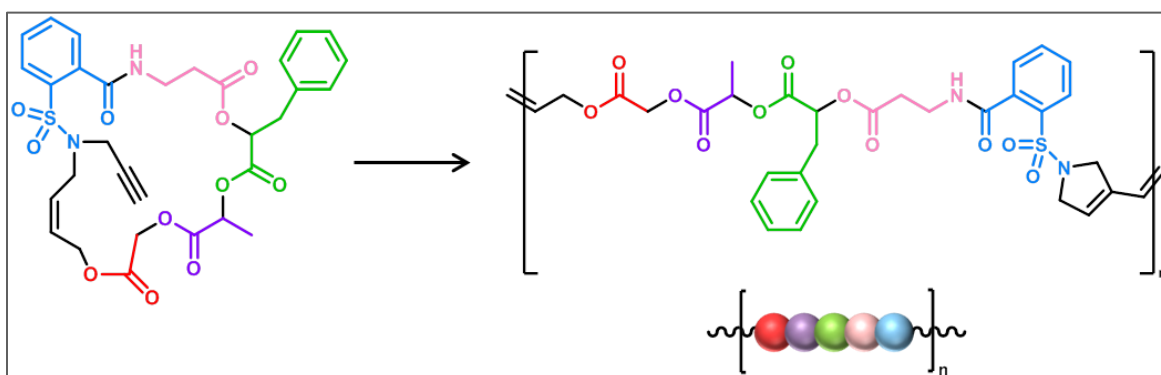


Figure 11 : ROMP permettant l'obtention de copolymères à séquences contrôlées. Conditions expérimentales : 3,5-dichloropyridine (20mM), catalyseur de Grubbs 3<sup>ème</sup> génération, DCM/MeOH (9/1), 0°C.<sup>[65]</sup>

### 3.3 Synthèses multi-étapes

#### 3.3.1 Introduction

Il a été montré précédemment que les nouvelles techniques de polymérisations par étapes ou en chaîne permettent aujourd'hui un certain contrôle des séquences le long des chaînes polymères. Cependant, il est impossible d'obtenir une parfaite isomolécularité ainsi qu'un contrôle absolu de la séquence, prérequis par exemple pour l'encodage de l'information numérique le long d'une chaîne polymère. En revanche, la synthèse multi-étape, qui repose sur l'addition des monomères un à un sur la chaîne en croissance, permet de synthétiser des polymères isomoléculaires à séquences contrôlées.

Du Vigneaud a obtenu le prix Nobel en 1955 pour ses travaux pionniers sur la synthèse itérative, dont le principe est expliqué Figure 12.<sup>[67]</sup> Il a synthétisé une hormone, l'ocytocine, et ainsi ouvert la voie à la synthèse itérative de polypeptides.<sup>[68]</sup> Dans cette approche, du Vigneaud synthétise ce nonapeptide à l'aide de 3 blocs : un tétrapeptide, un tripeptide ainsi qu'un dipeptide. La stratégie itérative se rencontre lors de la synthèse du tétrapeptide, qu'il obtient par ajouts successifs d'acides aminés. Après chaque couplage d'acide aminé, le milieu réactionnel est traité – par des réactions de réduction par exemple – afin que l'acide aminé suivant puisse être ajouté au peptide en croissance. C'est ainsi qu'est apparu le premier exemple de synthèse itérative en solution. Le concept général est donc le suivant : chaque monomère porte 2 fonctions réactives **A** et **B**, dont la première est protégée dans un premier temps. Pour chaque ajout, **B** réagit avec la fonction **A** de la chaîne en croissance, puis dans un second temps, la nouvelle fonction **A** en bout de chaîne est déprotégée pour permettre l'ajout du monomère suivant.

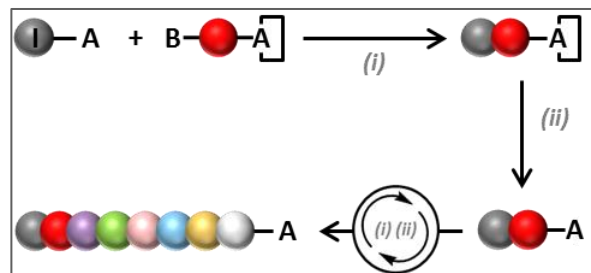
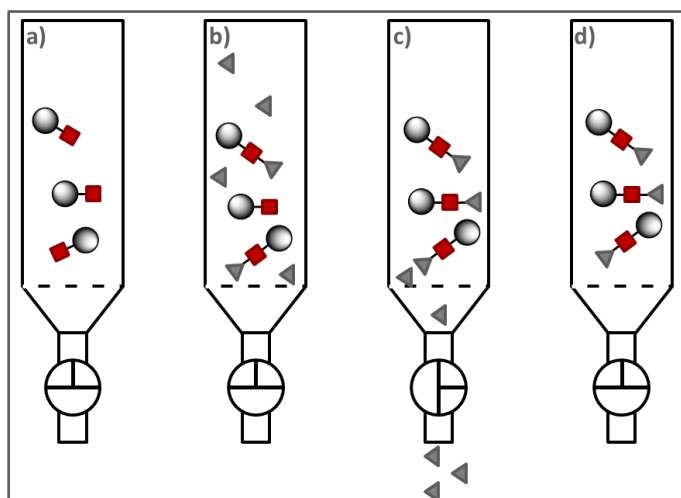


Figure 12 : Principe de la synthèse itérative. (i) Ajout du monomère par réaction de B sur A. (ii) Etape de déprotection.

Dans cette approche, chaque étape se tient en solution. Il est donc nécessaire d'effectuer des étapes de purification, telles que des séparations sur colonne ou des recristallisations, chromatographies, après chaque ajout de monomère.

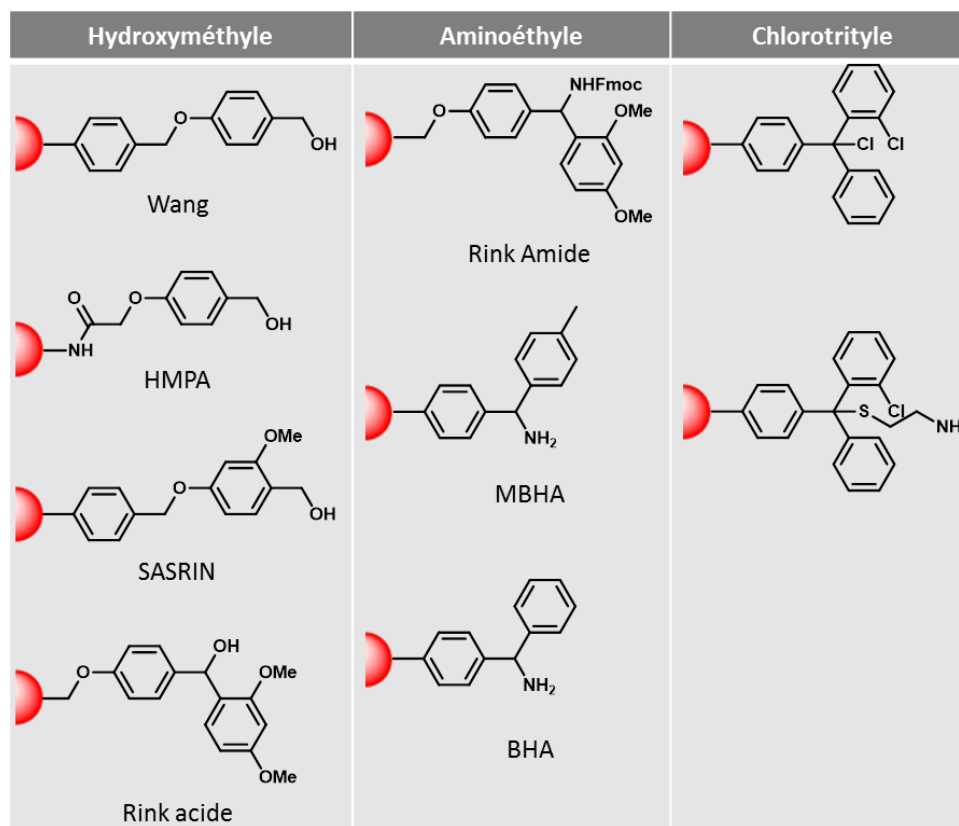
### 3.3.2 Principe de la synthèse itérative sur support solide

En 1963, Merrifield développe le concept de synthèse itérative sur support solide, pour lequel il obtient la prix Nobel de chimie en 1984.<sup>[20, 69]</sup> Cette approche, détaillée Figure 13, a considérablement facilité la synthèse itérative et a permis dans un premier temps le développement de la synthèse peptidique. En effet, cette technique est basée sur l'utilisation d'une résine fonctionnalisée – des microbilles de polymère réticulé, insolubles dans les conditions de réaction mais gonflées par le solvant réactionnel – sur laquelle les monomères sont ajoutés un à un. Après chaque étape, un simple lavage par filtration dans des tubes SPE (Solid Phase Exclusion) permet d'éliminer les réactifs en excès, tandis que les chaînes en croissance restent attachées à la résine. Puis, lorsque la structure désirée de polymère est obtenue, la chaîne est clivée de son support. Cette approche permet donc de s'affranchir des étapes de purification par colonne après chaque ajout de monomère.



**Figure 13 : Principe de la synthèse itérative sur support solide. a) Billes de résine fonctionnalisées b) Ajout du monomère en excès qui se fixe sur la chaîne en croissance. c) Lavage par filtration pour éliminer les excès de réactifs. d) Chaîne en croissance prête à subir de nouveau les étapes b) et c).**

Il existe de nombreuses résines, qui diffèrent d'une part par leur point d'ancrage – la fonction réactive portée – et d'autre part par leur taux de fonctionnalisation. Le point d'ancrage est un critère important pour la sélection de la résine lors d'une synthèse itérative. Il faut à la fois qu'il puisse réagir avec le premier monomère, mais aussi permettre le clivage de la liaison entre la chaîne polymère et la résine en fin de synthèse, dans des conditions qui n'altèrent pas la structure du polymère synthétisé. Il existe différents type de points d'ancrages, qui peuvent être classés en 3 grandes catégories – voir Tableau 2 – les hydroxyméthyles, les aminoéthyles, et les chlorotriyles. Dans la première catégorie, le premier ajout d'unité s'effectue par estérification, puis en fin de synthèse, un clivage en présence de TFA induit un acide carboxylique en début de chaîne. Dans la deuxième catégorie, la première unité s'ajoute sur l'amine, et un clivage en présence de TFA induit un amide en début de chaîne. Enfin, la troisième catégorie permet un clivage en présence d'hexafluoroisopropanol, permettant ainsi d'éviter l'emploi de TFA si certaines fonctions du polymère synthétisé y sont sensibles.



**Tableau 2 : Principales catégories de résines communément utilisées pour la synthèse supportée.**

Par ailleurs, le taux de fonctionnalisation correspond au taux de points d'ancrages présents sur la résine, et s'exprime usuellement en millimoles par gramme de résine. Plus il est élevé, plus le nombre de chaînes en croissance sera élevé pour une même quantité de résine, permettant d'accéder à une plus grande quantité de polymère en fin de synthèse. En revanche, un fort taux de fonctionnalisation induit également de plus grandes difficultés d'accès aux sites réactifs, dues à l'encombrement provoqué par le nombre accru de chaînes en croissance, ainsi que la formation de ponts intermoléculaires. Or, pour l'obtention de polymères isomoléculaires, le rendement de chaque étape doit être quantitatif afin d'éviter l'apparition de chaînes plus courtes n'ayant pas subi tous les ajouts de monomère. C'est pourquoi le choix de taux de fonctionnalisation est également un facteur important pour l'optimisation de la synthèse supportée.

De par sa facilité d'utilisation, la synthèse itérative supportée est rapidement devenue une méthode de choix pour la synthèse de polymères linéaires à séquences contrôlées, bio-inspirés dans un premier temps, puis aux structures non-naturelles par la suite. Cette approche a d'ailleurs été automatisée dès les années 60 par Merrifield pour la synthèse de la bradykinine, composée de 9 acides aminés.<sup>[70]</sup>

### 3.3.3 Synthèse itérative de polymères à séquences contrôlées par l'approche « AB+AB »

La synthèse itérative supportée a dans un premier temps été développée pour la synthèse peptidique. Cette stratégie peut être également décrite comme étant une approche de type « AB+AB » - voir Figure 14. Elle repose sur l'emploi de building blocks « AB », dans lesquels la fonction A doit être protégée afin d'éviter des réactions d'homopolymérisation par étapes lors de l'ajout du monomère dans le milieu réactionnel. C'est pourquoi chaque ajout de monomère doit être suivi d'une étape de déprotection de la fonction A en bout de chaîne, afin de pouvoir ensuite ajouter un second monomère mono-protégé, par réaction de B sur cette dernière.

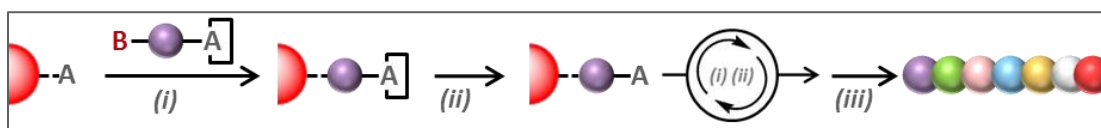


Figure 14 : Stratégie « AB+AB ». (i) Ajout du monomère mono-protégé. (ii) Déprotection de A. (iii) Clivage du support.

La première synthèse décrite par Merrifield était celle d'un térapeptide - Figure 15 -, dans laquelle les amines de la chaîne principale sont protégées par le groupement carboxybenzyle (Cbz), tandis que les groupements latéraux sont protégés par le groupement *tert*-butoxycarbonyle (Boc).<sup>[20]</sup> Or, la déprotection du groupement Cbz s'effectue en présence d'un acide fort, qui pourrait induire des réactions indésirables, telles que le clivage d'une partie des chaînes de leur support.<sup>[71]</sup> C'est pourquoi, par la suite, ces groupements protecteurs ont majoritairement été remplacés par le fluorenylméthoxyxycarbonyle (Fmoc) et le *tert*-butyle (*t*-Bu). En effet, ce couple est plus adapté à la synthèse peptidique supportée, puisque le retrait du Fmoc s'effectue en conditions basiques douces, tandis que le *t*-Bu est éliminé en milieu acide, permettant ainsi une déprotection sélective.<sup>[72]</sup>

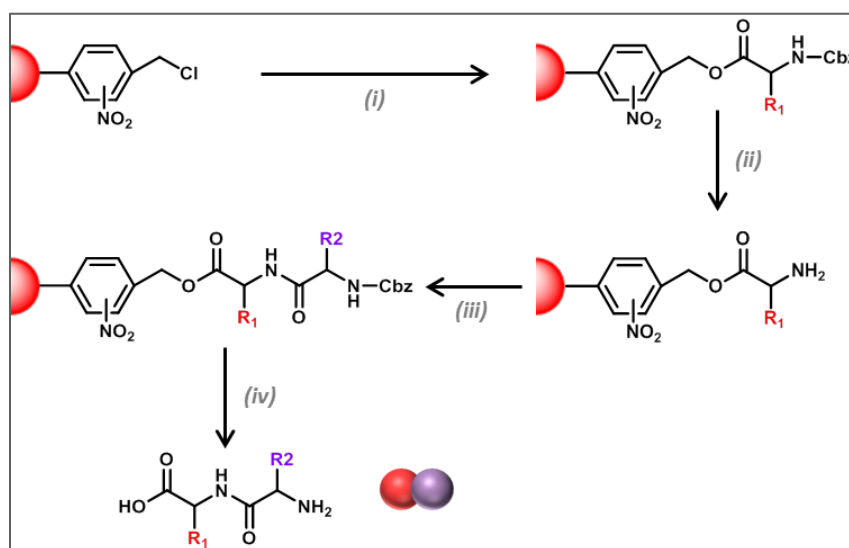


Figure 15 : Synthèse supportée d'un térapeptide.<sup>[20]</sup> (i) Ajout du premier acide aminé. (ii) Déprotection de l'amine : HBr/AcOH. (iii) Ajout du second acide aminé. (iv) Clivage : NaOH.

L'emploi d'un support solide dans le cadre d'une synthèse itérative s'est par la suite étendu à des structures autres que les peptides, notamment les oligonucléotides à séquences contrôlées.<sup>[73]</sup> La première synthèse concluante a été décrite par Letsinger et Mahadevan en 1965.<sup>[74]</sup> Par la suite, de nombreux travaux sur la chimie des phosphoramidites ont été effectués et leurs applications pour la synthèse d'ADN sont détaillées dans une revue de Beaucage et Iyer.<sup>[75]</sup> Les progrès effectués permettent aujourd'hui de synthétiser des oligonucléotides présentant des séquences jusqu'à 200 nucléotides.<sup>[76]</sup> Ces évolutions dans le domaine de la synthèse de polymères naturels a inspiré différents travaux pour la synthèse de polymères bio-hybrides.<sup>[77, 78]</sup> Par exemple, Sleiman décrit la synthèse de polymères conjugués à séquences définies, comportant une partie ADN et une partie polymère synthétique – voir Figure 16.<sup>[79]</sup> Pour ce faire, elle a synthétisé un brin d'ADN sur une surface de verre poreuse à l'aide d'un synthétiseur d'ADN automatisé. Puis, toujours avec le synthétiseur, les monomères protégés au diméthoxytrityle (DMT) ont été ajoutés un à un, en alternant avec des étapes de déprotection. Les ajouts contrôlés des unités phosphoramidite dodécanediol et phosphoramidite hexaéthylène glycol ont permis l'obtention de polymères conjugués, dont les propriétés d'hydrophobie, d'auto-assemblage, ou encore d'encapsulation, peuvent être ajustées par la microstructure de la séquence synthétique. Dans le domaine des polymères bio-hybrides, on peut également noter les travaux de Börner, qui a par exemple synthétisé des bioconjugués PEO-peptides dont l'arrangement structural est guidé par celui des peptides qui s'arrangent en feuillets  $\beta$ .<sup>[80]</sup> Klok a également consacré une grande partie de ses travaux aux polymères bioconjugués, mettant en avant leurs avantages, pour des applications de propriétés mécaniques, ou de vecteurs thérapeutiques par exemple.<sup>[81]</sup>

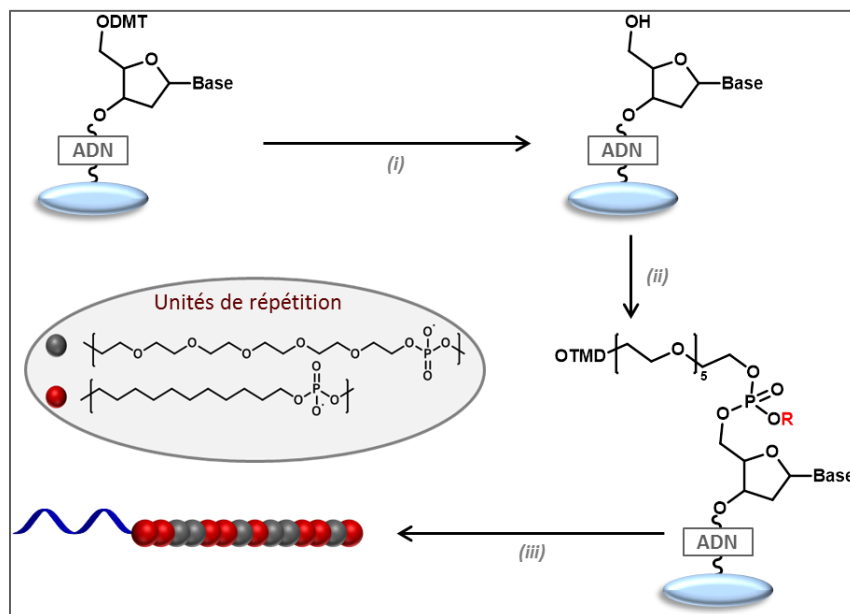


Figure 16 : Synthèse de polymères bio-hybrides par synthétiseur d'ADN sur surface de verre poreuse. Adapté de la référence <sup>[79]</sup>. (i) Etape de déprotection. (ii) Ajout du monomère. (iii) Clivage du support.



Par ailleurs, la synthèse itérative sur support solide peut parfaitement s'adapter à la synthèse de polymères non-naturels. Par exemple, Moore a décrit la synthèse d'oligomères de phénylacétylène.<sup>[82]</sup> Les ajouts successifs de phénylacétylènes fonctionnalisés protégés par le triisopropylsilyle (TIPS) ont mené à l'obtention d'oligomères à séquences définies de 12 unités maximum.<sup>[83]</sup> Plus récemment, Lutz et son équipe ont utilisé cette approche pour l'encodage de données numériques le long d'une chaîne de polyphosphates, décrite Figure 17.<sup>[84]</sup> Les phosphoramidites mises en jeu, dont l'utilisation a été développée par Beaucage et Caruthers plusieurs décennies auparavant pour la synthèse en phase solide d'oligonucléotides,<sup>[85]</sup> codent pour **0** ou pour **1** selon le groupement qu'elles portent. La stratégie de synthèse s'effectue en 3 étapes : (i) la phosphoramidite codante protégée par DMT réagit avec la fonction OH de la résine pour former un phosphite, (ii) ce dernier est oxydé en phosphate, et (iii) le groupement DMT est retiré pour permettre à la fonction alcool de subir un nouvel ajout de phosphoramidite. Grâce la structure des monomères utilisés ainsi qu'à leur grande réactivité, les polymères ont pu être synthétisés automatiquement sur synthétiseur d'ADN, permettant l'obtention de chaînes avec un degré de polymérisation supérieur à 100.<sup>[86]</sup> Le séquençage de ces chaînes par spectrométrie de masse tandem a de plus permis de recouvrer les messages « PMC », « Maurice », et « Macromolecule » encodés en code ASCII le long de chaînes, contenant respectivement 3, 7, et 13 octets d'informations.

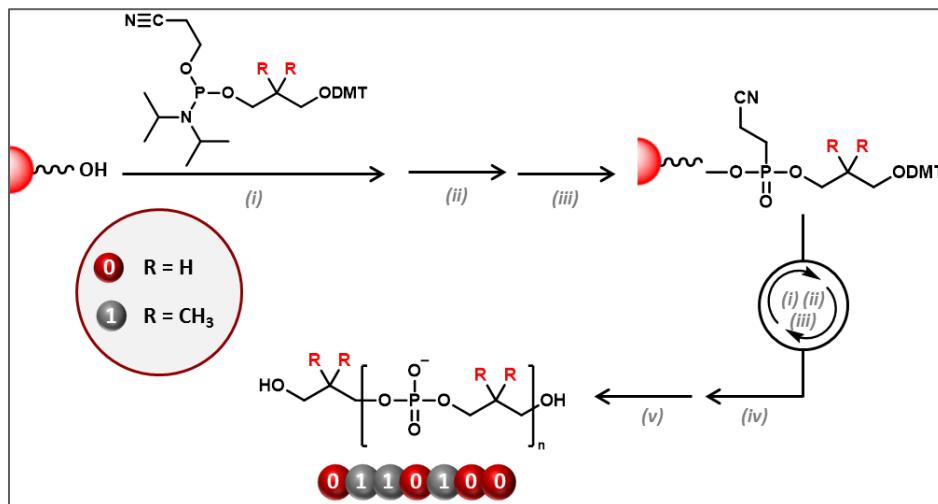
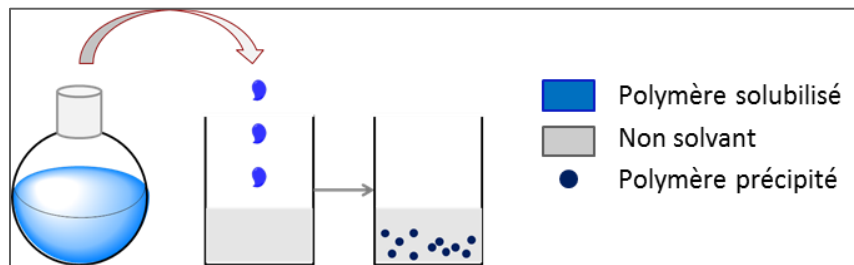


Figure 17 : Synthèse itérative de polyphosphates non-naturels. (i) Couplage : AcCN, tétrazole. (ii) Oxydation : I<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, Pyridine, THF. (iii) Déprotection du DMT : CCl<sub>3</sub>-COOH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. (iv) Déprotection du cyanoéthyle : pipéridine, AcCN. (v) Clivage : NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O, dioxane.

### 3.3.4 Synthèse itérative sur support soluble

L'apparition de la synthèse itérative supportée a permis la synthèse de polymères à séquences contrôlées aux structures variées. Cependant, cette approche hétérogène peut présenter quelques inconvénients. D'une part, la chaîne en croissance restant attachée aux microbilles de résine, il est difficile de suivre la réaction, avant le clivage en fin de synthèse – il est toujours possible de cliver une fraction de la chaîne en croissance mais les quantités obtenues sont très faibles, trop pour une analyse SEC par exemple. D'autre part, il peut être difficile d'obtenir de longues chaînes de manière isomoléculaire car des problèmes d'accessibilité aux sites réactionnels peuvent apparaître lors de la synthèse. En outre, l'utilisation de support soluble est une alternative intéressante pour la synthèse itérative. Elle permet en effet d'effectuer facilement une synthèse itérative, tout en évitant les inconvénients cités précédemment d'une synthèse en milieu hétérogène.

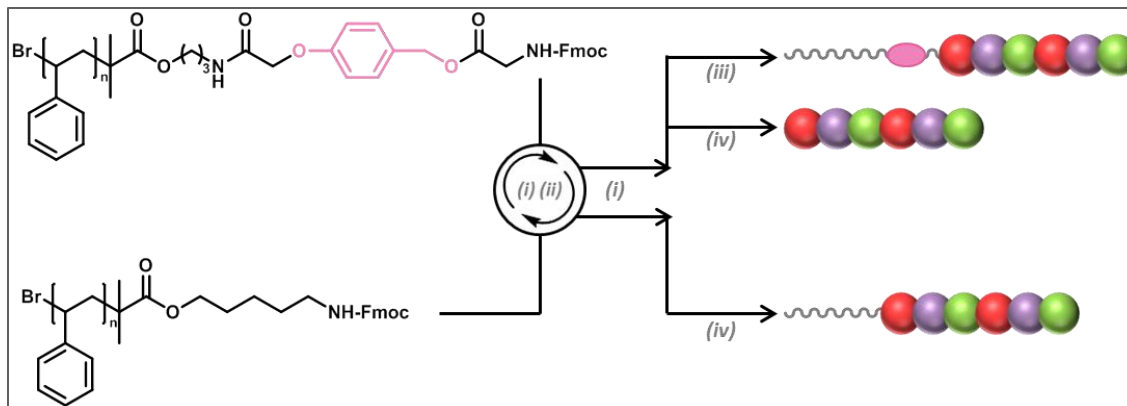


**Figure 18 : Purification par précipitation lors d'une synthèse sur support soluble. L'ajout du monomère s'effectue en solution, puis après concentration, celle-ci est ajoutée goutte à goutte dans un non solvant. Le support auquel est attachée la chaîne en croissance précipite et est ensuite récupéré par filtration.**

Le support soluble est une chaîne polymère fonctionnalisée, supportant l'ajout itératif de monomères, qui est soluble dans les solvants utilisés lors des réactions. Après chaque étape, la purification, expliquée Figure 18, s'effectue par précipitation du support dans un non-solvant. Fort de ces considérations, Pfeifer et Lutz ont développé toute une série de supports solubles à base de polystyrène synthétisés par ATRP.<sup>[87]</sup> Ces supports contiennent un groupement Wang, point d'ancrage permettant le clivage du polymère de son support en fin de synthèse.<sup>[88]</sup>

Comme dans le cas de la synthèse sur phase solide, l'approche itérative en phase liquide s'est dans un premier temps développée pour la synthèse d'ADN. En 1972, Bayer et Mutter rapportent la synthèse d'un pentapeptide sur support pegylé, adapté à la synthèse en phase aqueuse.<sup>[89]</sup> Par la suite, cette approche s'est étendue à la synthèse de structures bio-hybrides et même de polymères synthétiques. Par exemple, l'équipe de Lutz décrit en 2012 la synthèse de polymères bioconjugués sur supports solubles.<sup>[90]</sup> Dans cette approche, expliquée Figure 19, deux supports solubles polystyrène ont été étudiés, l'un contenant une unité clivable Wang, et l'autre non. Des acides aminés protégés ont été

ajoutés de manière itérative sur ces derniers, menant à l'obtention de conjugués (polymère-peptide) avec une séquence contrôlée d'acides aminés.



**Figure 19 : Synthèse de conjugués polymère-peptides sur support soluble. En rose, groupement Wang permettant le clivage en milieu acide. Conditions expérimentales : (i) Déprotection : Pipéridine/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1/1). (ii) Ajout des acides aminés protégés : PyBop, DIPEA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. (iii) TFA/ CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3/97). (iv) Clivage : TFA/ CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1/1).**

Plus récemment encore, la synthèse d'oligoarylacétylènes à séquences contrôlées par utilisation de supports solubles a été publiée.<sup>[91]</sup> Ces composés sont généralement difficiles à synthétiser à cause de leur forte tendance à s'auto-agréger. Ici, l'utilisation d'un support polystyrène synthétisé par ATRP a permis la solubilisation des composés dans de nombreux solvants organiques, et ainsi aidé à leurs caractérisations par SEC, RMN, ou bien spectroscopie. Les différents exemples cités démontrent que le support soluble est une alternative au support solide pour la synthèse itérative de polymères à séquences contrôlées, qui peut d'adapter à une grande variété de structures.

## 4. Synthèse itérative de polymères à séquences contrôlées sans groupements protecteurs

### 4.1 Introduction

Il a été démontré que la synthèse itérative supportée est une approche adaptée pour la synthèse de polymères à séquences contrôlées. Ayant été développée pour la synthèse de polypeptides, elle fait souvent intervenir des étapes de protection et de déprotection, chronophages. Ces réactions mettent généralement en jeu des building blocks de type « AB », où A réagit avec B, comme montré dans la Figure 20. La protection d'une des deux fonctions portées par le monomère est indispensable pour éviter son homopolymérisation. Cette stratégie n'est cependant pas la seule permettant d'accéder aux polymères à séquences contrôlées. Différents concepts, décrits dans le bas de la Figure 20, ont été développés pour éviter l'emploi de groupements protecteurs. Par exemple, l'utilisation de monomères bifonctionnels « AA » et « BB » en excès donne lieu à la synthèse de polymères à séquences contrôlées, sans étape de protection et de déprotection. De manière plus raffinée, l'approche « AB+CD » met en jeu deux comonomères bifonctionnels, et ainsi 4 fonctions réactives. Cette approche, basée sur la chimiosélectivité, implique uniquement des réactions orthogonales entre les monomères. Cette section décrit toutes les approches explorées à ce jour, permettant la synthèse de polymères à séquences contrôlées sans avoir recours à des groupements protecteurs.

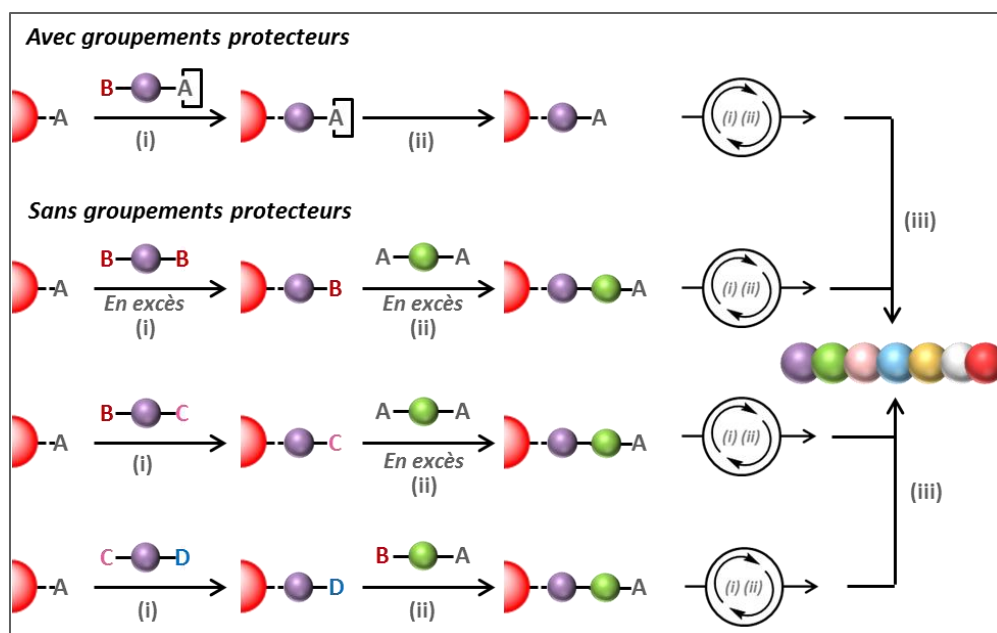


Figure 20 : Différentes stratégies observées dans le cadre de la synthèse itérative supportée de polymères à séquences contrôlées. En haut, l'approche traditionnelle avec utilisation de groupements protecteurs : (i) Couplage où A réagit avec B (ii) Etape de déprotection. En bas, différentes approches sans groupement protecteur. Stratégie « AA+BB » : A réagit uniquement avec B et les monomères sont ajoutés en large excès aux étapes (i) et (ii). Stratégie « AA+BC » : A réagit uniquement avec B en (i), et A réagit uniquement avec C en (ii). Stratégie « AB+CD » : basée sur la chimiosélectivité, A réagit uniquement avec C en (i) et B réagit uniquement avec D en (ii). Dans tous les cas, l'étape (iii) correspond à l'étape de clivage précédant l'obtention de polymères à séquences contrôlées.

## 4.2 Synthèse itérative mettant en jeu des groupements réactifs dormants

Pour remplacer l'emploi de groupements protecteurs, l'utilisation de groupements dormants est une alternative fréquemment utilisée en chimie organique. Dans ce type d'approche, l'espèce en croissance peut se présenter sous deux formes : dormante ou active. La forme dormante d'une espèce indique que cette dernière est inerte aux réactions mises en jeu. Ces fonctions dormantes peuvent cependant être activées si nécessaire, par un stimulus physique ou chimique, permettant ainsi de contrôler les réactions mises en jeu dans le milieu. Malenfant et Fréchet ont utilisé cette stratégie pour synthétiser sur support solide des oligothiophènes séquencés.<sup>[92]</sup> Le 2-(triméthylstannyl)-4-octylthiophène, qui peut porter différents types de substituants latéraux, est attaché à la chaîne en croissance par un couplage de Stille. Durant cette étape, le monomère ajouté ne porte pas de fonction bromée afin d'éviter l'homopolymérisation. Celle-ci est réactivée dans un second temps grâce à une étape de bromination utilisant le N-bromosuccinimide. Un nouveau couplage de Stille peut ensuite avoir lieu sur la fonction bromée en fin de chaîne. L'enchaînement de ces étapes, décrit Figure 21, a permis l'obtention d'oligothiophènes séquencés, le plus long étant un pentamère. On peut noter que le début de chaîne obtenu après clivage peut ensuite être sujet à des réactions post-polymérisation pour attacher ces oligomères à d'autres substrats, afin d'utiliser leurs propriétés intrinsèques.

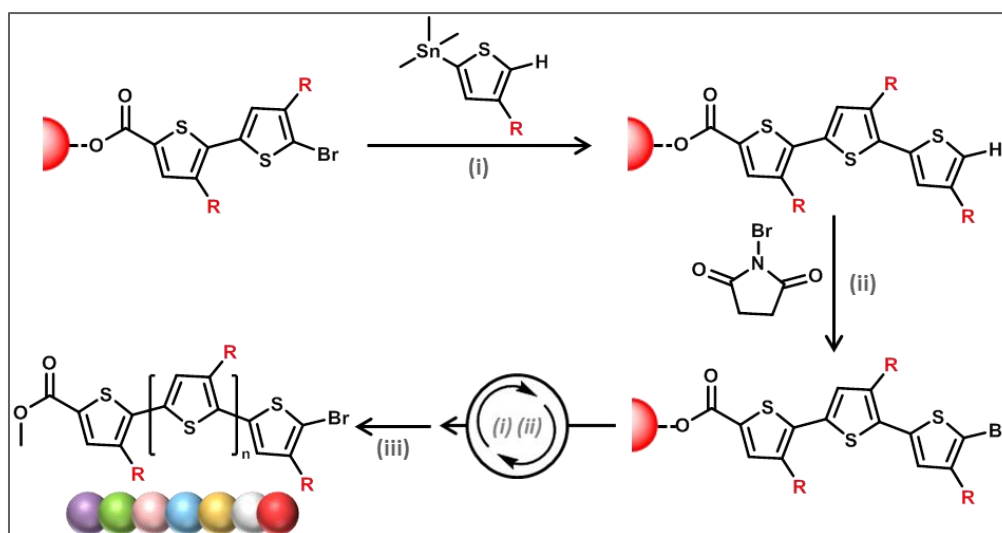


Figure 21 : Synthèse d'oligothiophènes sur support solide par utilisation de groupements dormants.<sup>[92]</sup> (i) Couplage de Stille : Pd(PPh<sub>3</sub>)Cl<sub>2</sub>, DMF, 80°C. (ii) Bromination : DMF, T<sub>a</sub>. (iii) Clivage : NaOMe, THF, reflux ; puis MeI, 18-C-6, reflux.

De la même façon, Renaudet et Reymond ont reporté la synthèse d'oligoéthers.<sup>[93]</sup> L'étape d'ajout du monomère est un couplage de Mitsunobu mettant en jeu un alcool benzylique et un aldéhyde ou une cétone hydroxyaromatique. Le groupement carbonyle porté par le monomère ne peut pas réagir dans les conditions de cette réaction, qui permet la création d'une liaison éther. Ce groupement carbonyle de fin de chaîne est dans un second temps réduit en alcool pour accepter le couplage suivant. En utilisant différents aldéhydes et cétones, l'équipe a synthétisé une large librairie d'oligoéthers à séquences contrôlées.

### 4.3 Stratégie « AA+BB » : utilisation de monomères bifonctionnels en large excès

La stratégie « AA+BB » repose sur l'utilisation de deux comonomères bifonctionnels, chacun portant 2 fois la même fonction, où A ne peut réagir qu'avec B. Pour s'assurer qu'une seule des deux fonctions portées par les monomères ne s'ajoute à la chaîne en croissance, ces derniers doivent être ajoutés en large excès. Les premiers travaux permettant la synthèse de polymères à séquences contrôlées via cette approche ont été décrit par Rose et Vizanova.<sup>[94]</sup> Les ajouts consécutifs de diacides et de diamines sur support solide ont permis l'obtention d'oligoamides. La Figure 22 décrit cette synthèse avec l'emploi d'un anhydride cyclique. Cette structure permet de s'assurer de l'ajout d'une seule des deux fonctions sur la chaîne. En outre, l'amine primaire de fin de chaîne permet de synthétiser un PEG à partir de cette dernière, obtenant ainsi des polyamides biocompatibles avec un nombre défini et choisi d'unités de répétition.

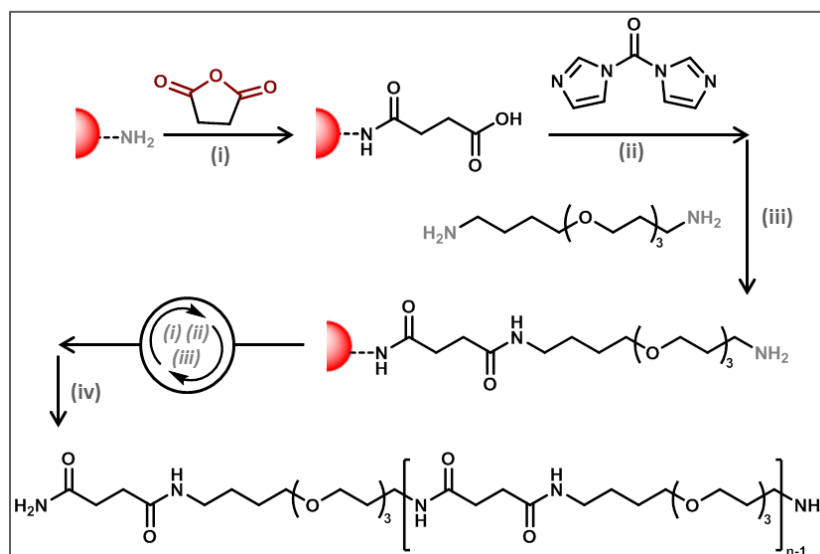


Figure 22 : Synthèse d'oligoamides sur support solide par stratégie « AA+BB ».<sup>[94]</sup> (i) Acylation : DIPEA, HOBT, DMF, T<sub>a</sub>. (ii) Activation de la fin de chaîne : DMF. (iii) Aminolyse : HOBT, DMF, T<sub>a</sub>. (iv) Clivage en conditions acides.

De même, l'équipe de Börner a synthétisé des oligo(aminoamines) à séquences contrôlées par une approche « AA+BB », mettant en jeu l'anhydride succinique d'une part, et des diamines d'autre part.<sup>[95]</sup> Ces dernières portent toutes une amine primaire ou secondaire, mais leur structure varie : la 3,3'-diamino-N-méthyl-dipropylamine, la spermine et la spermidine en sont des exemples.<sup>[96]</sup> Ces oligomères ont des structures primaires contrôlées portant des amines primaires, secondaires et tertiaires, de telles structures présentant d'intéressantes propriétés pour la livraison de gènes non viraux.<sup>[97, 98]</sup>

L'approche « AA+BB » a donc permis à différentes équipes de synthétiser des polymères isomoléculaires à séquences contrôlées, sans utiliser de groupements protecteurs. Elle présente cependant quelques inconvénients. En effet, un très large excès de monomère est requis afin d'éviter la

formation de ponts intermoléculaires, induisant ainsi le gaspillage d'une grande quantité de monomère à chaque étape.

#### 4.4 Stratégie « AB+CD » basée sur une approche chimiosélective

La stratégie « AB+CD » est une approche chimiosélective qui met en jeu des réactions orthogonales. Les deux building blocks impliqués dans la synthèse portent les groupements « AB » pour l'un, et « CD » pour l'autre. Dans les conditions de réactions, A ne peut réagir qu'avec C, et B uniquement avec D, évitant ainsi les réactions intermoléculaires et d'homopolymérisation, sans utiliser de groupements protecteurs pour autant.

Dès 1992, Zuckermann et son équipe décrivent la synthèse de glycines poly-N-substituées – aussi appelées peptoïdes - par une telle approche chimiosélective.<sup>[99]</sup> Ces peptoïdes, qui présentent aujourd'hui un fort potentiel dans les domaines de la thérapie et des biotechnologies par exemple,<sup>[100-102]</sup> étaient historiquement préparés sur résine par un protocole automatisé inspiré de la synthèse peptidique.<sup>[103]</sup> Dans la stratégie de Zuckermann, ils sont ici synthétisés par ajouts itératifs d'acide acétique bromé, et d'amines primaires pouvant porter différents groupements. Les deux étapes mises en jeu sont alors un déplacement nucléophile entre le brome et l'amine primaire à ajouter, ainsi qu'une acylation entre l'amine secondaire formée et l'acide haloacétique ajouté. Cette stratégie a permis l'obtention de polymères à séquences contrôlées variés, puisqu'une large bibliothèque d'amines primaires a été étudiée. L'équipe de Zuckermann menant des études sur les peptoïdes séquencés depuis plusieurs décennies, la synthèse de ces derniers permet aujourd'hui d'atteindre des longueurs de chaîne allant jusqu'à plus de 50 unités.<sup>[100]</sup>

Par ailleurs, notre équipe a développé la synthèse de polymères à séquences contrôlées par approche « AB+CD » dans le but de développer des structures porteuses d'informations numériques, en incrémentant un code binaire le long de la chaîne via les différents substituants portés par les monomères.<sup>[7]</sup> Ce concept a été dans un premier temps démontré avec la synthèse d'oligo(triazole amide)s.<sup>[104]</sup> Cette synthèse, détaillée Figure 23, a été étudiée sur supports solides et solubles.<sup>[105]</sup> Deux type de comonomères y sont impliqués : le comonomère codant, porteur du groupement substituante codant pour 0 ou pour 1, ainsi qu'un espaceur, requis dans le cadre d'une approche chimiosélective. Le comonomère codant « AB » est un acide pentinoïque portant une fonction alcyne (A) ainsi qu'une fonction acide carboxylique (B), tandis que l'espaceur « CD » 1-amino-11-azido-3,6,9-trioxaundécane porte une fonction azoture (C) et une amide primaire (D). Ces building blocks s'ajoutent itérativement en alternant les réactions de cycloadditions alcyne-azoture assistées au cuivre entre B et C, et les étapes d'amidification entre A et D. Cette approche a permis la synthèse d'une librairie de 8 pentamères portant chacun 3 bits d'informations. Par la suite, ces réactions ont permis la synthèse de PTzNAs (Peptid Triazole Nucleic Acids), des poly(triazole amide)s portant les 4 bases de l'ADN, et permettant ainsi un codage quaternaire.<sup>[106]</sup>

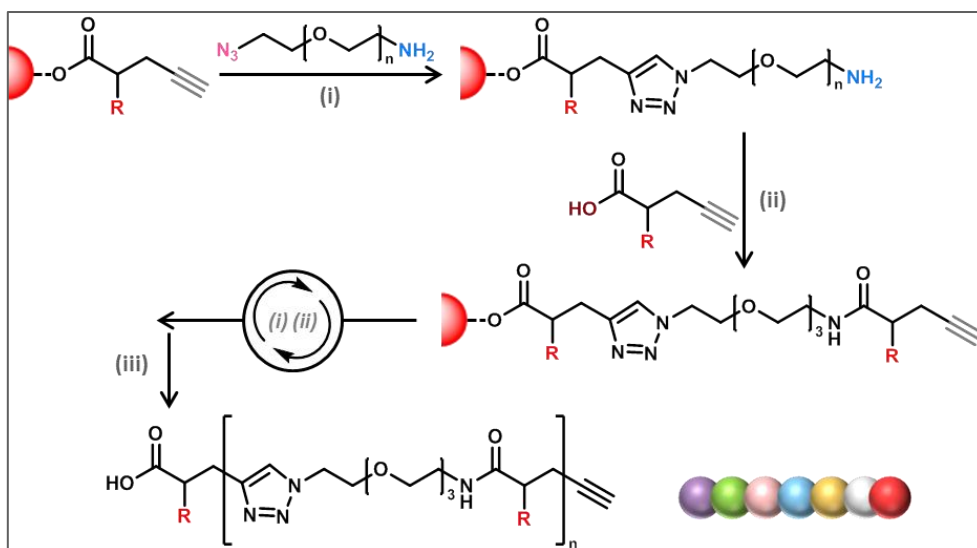


Figure 23 : Synthèse d'oligo(triazole amide)s sur support solide par stratégie « AB+CD ».<sup>[105]</sup> (i) CuAAC : CuBr, dNbipy, THF. (ii) Amidification : PyBOP, DIPEA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. (iii) Clivage : TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

Notre équipe a développé cette stratégie sur un nombre de structures variées, telles que les polyuréthanes, les poly(alcoxyamine phosphodiester)s, ou encore les poly(alcoxyamine amide)s,<sup>[107]</sup> ces derniers étant développés dans cette thèse. Les polyuréthanes à séquences contrôlées ont été synthétisés sur résine à partir du carbonate de N'-N'-disuccinimidyle (DSC), et de différents amino-alcools portant le groupement codant.<sup>[108]</sup> Le DSC réagit avec une fonction hydroxyle pour former un carbamate asymétrique actif. Ce dernier peut ainsi supporter l'ajout d'une amine primaire, sans avoir à protéger la fonction alcool, pour former un carbamate hydroxy-fonctionnalisé.<sup>[109]</sup> Ces polyuréthanes séquencés sont de bons candidats pour l'étiquetage anti-contrefaçon de matériaux par codes-barres moléculaires. D'autre part, les poly(alcoxyamine phosphodiester)s mettent en jeu des phosphoramidites (A) portant également une fonction bromure d'alkyle (B), codant selon le substituant porté, ainsi qu'un nitroxyde (D) portant une fonction hydroxyle (C).<sup>[110]</sup> En réagissant avec une fonction hydroxyle, la phosphoramidite crée une liaison phosphite oxydée dans un second temps en liaison phosphate, tandis que la deuxième étape impliquée dans cette synthèse est un couplage radicalaire entre le nitroxyde et le carbone  $\alpha$ -bromé. Les poly(alcoxyamine phosphodiester)s ont été obtenus rapidement, et ont permis un séquençage facile en spectrométrie de masse tandem, grâce à la présence de liaisons alcoxyamines.<sup>[111]</sup>

Enfin, Du Prez a récemment décrit la synthèse itérative d'oligomères séquencés faisant alternativement intervenir une aminolyse entre une thiolactone (A) et une amine primaire (C), ainsi qu'une addition de Michael impliquant un thiol (B) obtenu par ouverture de cycle de la thiolactone, et une fonction (D) - généralement une double liaison C=C - portée par le building block « AB ».<sup>[112]</sup> Cette approche a permis l'obtention d'oligomères multifonctionnels isomoléculaires, le choix de building blocks portant l'amine primaire étant assez large. De plus, il a récemment adapté cette synthèse à un synthétiseur de peptides automatique, permettant l'obtention rapide de décimères présentant une grande pureté.<sup>[113]</sup>



## 4.5 Stratégie intermédiaire « AA+BC »

La stratégie « AA +BC » est une approche intermédiaire entre l'approche « AA+BB » (I-4.3) et l'approche « AB+CD » (I-4.4). Le comonomère « BC » porte deux fonctions réactives et son addition est donc basée sur la chimiosélectivité. Quant au comonomère « AA », son ajout doit se faire en large excès afin qu'une seule des fonctions A ne réagisse avec la chaîne en croissance, pour éviter la formation de ponts intermoléculaires.

Porel et Alabi ont étudié cette approche pour la synthèse de polymères isomoléculaires à séquences contrôlées sur support fluoré. Cette synthèse repose sur deux étapes de couplage, expliquées Figure 24, que sont (i) le couplage radicalaire thiol-ène photo-amorcé, et (ii) l'addition de Michael.<sup>[114]</sup> Le building block « AA » est un dithiol, ajouté en excès et réagissant avec un alcène sous irradiation. Le second comonomère mis en jeu est un allyle acrylamide « BC », porteur d'un groupement latéral qui peut varier. Il est intéressant de noter que la double liaison portée par la fonction allyle acrylamide présente une réactivité orthogonale lors de l'étape (ii), évitant ainsi l'utilisation d'un groupement protecteur pour l'autre double liaison présente sur la molécule.

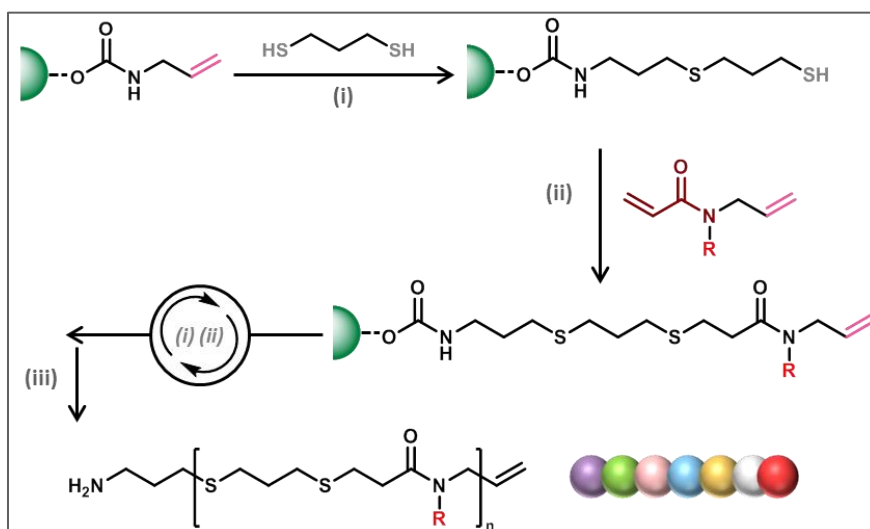


Figure 24 : Synthèse de polymères séquencés sur support fluoré par une approche « AA+BC ».<sup>[114]</sup> (i) Couplage radicalaire thiol-ène photo-amorcé : DMPA, hv, MeOH. (ii) Addition de Michael : Me<sub>2</sub>PhP, MeOH. (iii) Clivage en conditions acides.

L'équipe d'Alabi a ainsi réussi la synthèse de polymères à séquences contrôlées sur support fluoré. Ce dernier, dont le principe et l'utilisation sont détaillés chapitre II, combine les avantages d'une synthèse classique en solution, et ceux de la synthèse sur support solide. En effet, ce support soluble permet des ajouts rapides en solution et évite la gêne stérique qui peut s'installer lors d'une synthèse sur support solide. Par ailleurs, la purification après chaque ajout s'effectue par une simple filtration sur colonne per-fluorée.<sup>[115]</sup>

## 4.6 Utilisation de réactions multicomposants

La stratégie multicomposant est une approche itérative, impliquant au moins une réaction qui met en jeu plus de deux building blocks lors d'une des étapes de synthèse. Solleder et Meier ont d'ailleurs récemment décrit la synthèse de polymères à séquences contrôlées basée sur une réaction de Passerini à trois composants ainsi qu'une addition thiol-ène - voir Figure 25.<sup>[116]</sup> Une fonction acide carboxylique est impliquée dans une réaction de Passerini en présence de 2 building blocks, un isocyanure substitué et un monomère portant une fonction alcène à une extrémité et une fonction aldéhyde de l'autre. Cette réaction originale implique 3 fonctions pour former un  $\alpha$ -acyloxy carboxamide. La fonction alcène de fin de chaîne peut ainsi réagir avec un thiol. Ces deux étapes ont été répétées successivement jusqu'à l'obtention de polymères à séquences contrôlées de longueurs désirées. Cette synthèse a été étudiée en solution, la chaîne croissant sur un support soluble à base de PEG. La grande variété d'isocyanures substitués étudiés dans ce travail a permis d'obtenir des structures multiples. En outre, l'utilisation du support soluble a nécessité des étapes de purification par recristallisation et par colonne de chromatographie, moins aisée que les filtrations sur support solide.

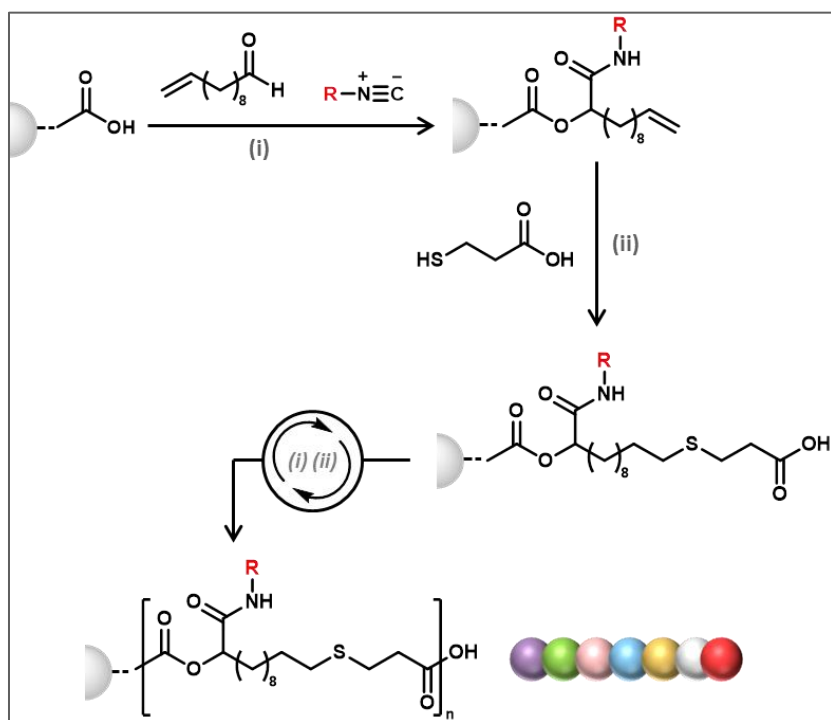


Figure 25 : Synthèse de polymères à séquences contrôlées sur support soluble via une stratégie multicomposants.<sup>[116]</sup> (i) Réaction à trois composants de Passerini : DCM,  $T_a$ . (ii) Addition thiol-ène : DMPA, UV (320nm),  $T_a$ .

Par la suite, cette équipe a étudié la réaction d'Ugi, mettant quant à elle 4 composants en jeu - un acide carboxylique, un aldéhyde ou une cétone, une amine, et un isocyanure - pour permettre la formation d' $\alpha$ -aminoacylamides.<sup>[117]</sup> En alternant cette étape avec une addition thiol-ène comme précédemment, cette synthèse a permis l'obtention de pentamères monodispersés séquencés, multisubstitués.<sup>[118]</sup>

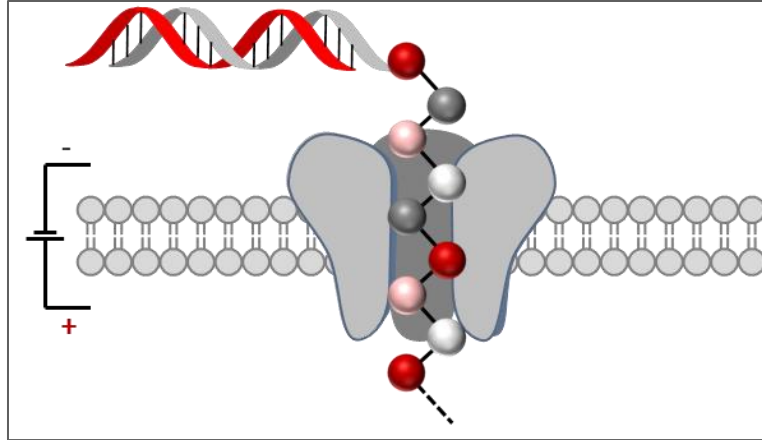
## 5. Séquençage des polymères à séquences contrôlées

Si d'énormes avancées ont été réalisées ces dernières décennies dans le domaine de la synthèse de polymères à séquences contrôlées, le même constat peut être effectué dans le séquençage de ces derniers.<sup>[119]</sup> Le projet « Humane Genome », qui a permis le séquençage complet du génome humain en 2001, a également promu un développement considérable des techniques de séquençage de l'ADN.<sup>[26]</sup> En 1951, Sanger décrit le premier séquençage d'une macromolécule, l'insuline.<sup>[120]</sup> Dès lors, les techniques de séquençage des biopolymères vont se développer. Au contraire, la synthèse de polymères non-naturels à séquences contrôlées a été développée plus tardivement, par des chimistes et non par des biologistes. Les techniques d'analyse de ces macromolécules proviennent donc historiquement de la synthèse organique, et durant ces dernières décennies, les copolymères synthétiques ont principalement été étudiés par RMN du proton et du carbone.<sup>[121, 122]</sup> Cette partie décrit brièvement différentes techniques de séquençages, utilisées pour les biopolymères ou les polymères non-naturels, montrant que la frontière entre ces deux domaines tend à se résorber avec le développement croissant de la synthèse de polymères à séquences contrôlées.

### 5.1 Techniques de séquençage développées pour les biopolymères

Les premières techniques de séquençage des biopolymères, apparues à la fin des années 40, sont des méthodes destructrices. Les protéines subissent généralement des modifications de fin de chaîne pour être par la suite soumises à un clivage, chimique ou enzymatique.<sup>[120, 123]</sup> Les fragments obtenus peuvent par la suite être analysés par différentes techniques, telles que la chromatographie ou la spectrométrie de masse.<sup>[124-126]</sup> De même, Sanger introduit l'utilisation de l'ADN polymérase, un complexe enzymatique intervenant dans la réplication de l'ADN, pour séquencer ce dernier.<sup>[127, 128]</sup> Le développement des inhibiteurs de fin chaîne,<sup>[123]</sup> puis leurs marquages par fluorescence,<sup>[129]</sup> ont par la suite grandement contribué au séquençage du génome humain.

Par la suite, de nouvelles générations de séquençage permettant de séquencer plusieurs milliards de molécules à la fois ont été développées, et les recherches se portent sur des méthodes non destructrices.<sup>[130]</sup> Parmi ces dernières, le séquençage par nanopores a été exploré dès les années 90 par l'équipe de Kasianowicz.<sup>[131]</sup> Le principe, dessiné Figure 26, repose sur le passage d'un simple brin d'ADN à travers des nanopores de protéines incorporés dans une membrane lipidique. Un courant est envoyé dans le système, et sa réponse dépend des interactions créées entre les bases nucléiques et les nanopores.<sup>[132]</sup>



**Figure 26 : Séquençage d'un brin d'ADN à travers un nanopore. L'amplitude de blocage du courant mesurée au passage de chaque base permet de remonter à la séquence portée par le brin. Adaptée de la référence <sup>[119]</sup>.**

Outre l'ADN, cette technique d'analyse peut également s'appliquer aux polymères synthétiques. Kasianowicz a ainsi analysé un PEG hydrosoluble en 1996, en passant la chaîne de cet homopolymère à travers des nanopores.<sup>[133]</sup> L'équipe de Behrends quant à elle, développe actuellement de nouvelles techniques d'analyses par nanopores, pour une analyse plus fine de polymères synthétiques, ioniques ou non.<sup>[134, 135]</sup>

## **5.2 Techniques de séquençage des polymères synthétiques**

Les techniques d'analyse de polymères synthétiques, telles que la SEC, ont été développées afin d'analyser des échantillons issus des polymérisations par étape ou en chaîne, donc polymoléculaires. En outre, les recherches actuelles sur les polymères à séquences contrôlées requièrent de nouveaux outils de caractérisation, plus précis, permettant de déterminer les séquences implémentées le long des chaînes.

La spectroscopie RMN est certainement la technique la plus utilisée pour analyser les séquences de polymères synthétiques.<sup>[121]</sup> Les travaux précurseurs de Bovey ont permis l'analyse par RMN en deux dimensions des séquences et tacticités de copolymères, en s'appuyant sur le fait que chaque unité monomère est sous influence directe de la structure moléculaire de ses voisins.<sup>[136, 137]</sup> Cette technique d'analyse ne permet en revanche pas de déterminer l'ordre des monomères si la chaîne est trop longue. L'analyse par RMN peut cependant être utilisée comme outil pour suivre l'incorporation d'unités à des temps précis au cours d'une polymérisation.<sup>[55]</sup> Par exemple, le suivi RMN a permis à notre équipe de suivre l'incorporation précise d'unités maléimides le long d'une chaîne polystyrène, permettant par la suite un traitement post-polymérisation du copolymère obtenu.<sup>[138]</sup> Par ailleurs, l'utilisation de « pincettes supramoléculaires » a permis à Colquhoun et son équipe de séquencer des polyimides. Les associations supramoléculaires entre les unités monomères et les pinces induisent en effet des

déplacements différant du pic principal de l'imide, qui peuvent ensuite être intégrés.<sup>[139]</sup> Malgré ces avancées, l'analyse par RMN ne permet généralement pas d'accéder aux microstructures sur de longues chaînes. L'effet Kerr, reposant sur le caractère biréfringent des polymères en solution, a permis quant à lui d'identifier les microstructures de plus longues chaînes. L'équipe de Tonelli a ainsi séquencé différents copolymères de styrène, en s'appuyant sur les réponses spécifiques des polymères en solution sous lumière polarisée.<sup>[140]</sup>

La spectrométrie de masse, largement développée pour l'analyse de biopolymères, s'avère également adaptée au séquençage de polymères synthétiques. Il existe différents outils pour effectuer une spectrométrie de masse, tels que l'électrospray ou la MALDI-TOF par exemple. La MALDI-TOF permet l'analyse de petits oligomères. En s'appuyant sur les travaux menés sur les biopolymères, Montaudo a couplé cette technique à une dégradation chimique, obtenant ainsi le séquençage de copolymères synthétiques.<sup>[141]</sup> De plus, L'ESI et la MALDI sont des techniques d'analyses assez douces pour permettre par la suite un séquençage par spectrométrie de masse tandem MS/MS. Cette technique devient une méthode de choix pour le séquençage de polymères synthétiques.<sup>[142]</sup> En effet, si la structure du polymère présente des liaisons faibles, le chemin de fragmentation en MS/MS est prédictible, et les pics obtenus sur le spectre sont aisément identifiables. Ainsi, l'équipe de Zuckermann a procédé au séquençage de peptoides synthétisés à l'aide de linkers clivables dans les conditions de la MS/MS.<sup>[143]</sup> Plus récemment, notre équipe en collaboration avec celle de Charles a réussi le séquençage de nombreuses structures de polymères encodés digitalement, tels que les polyphosphates,<sup>[144]</sup> polyuréthanes,<sup>[108]</sup> poly(phosphodiester)s,<sup>[145]</sup> ou encore les poly(alcoxyamine amide)s,<sup>[146]</sup> permettant de recouvrir le code binaire incrémenté le long de la chaîne polymère. Cette dernière structure présente en effet des liaisons alcoxyamines, labiles, et son séquençage est détaillé dans le **chapitre II** de cette thèse.

Pour conclure, les études menées sur l'ADN ont permis le développement de techniques de séquençage adaptées aux biopolymères depuis plusieurs décennies. Par ailleurs, l'émergence des polymères synthétiques à séquences contrôlées a engendré un développement plus récent de techniques adaptées à la grande variété de structures à analyser. La spectrométrie de masse tandem semble pour le moment la méthode d'analyse la plus adaptée pour recouvrir une séquence inscrite le long d'une chaîne polymère, monomère par monomère.





## Chapitre II

---

Synthèse orthogonale de  
poly(alcoxyamine amide)s à séquences  
contrôlées

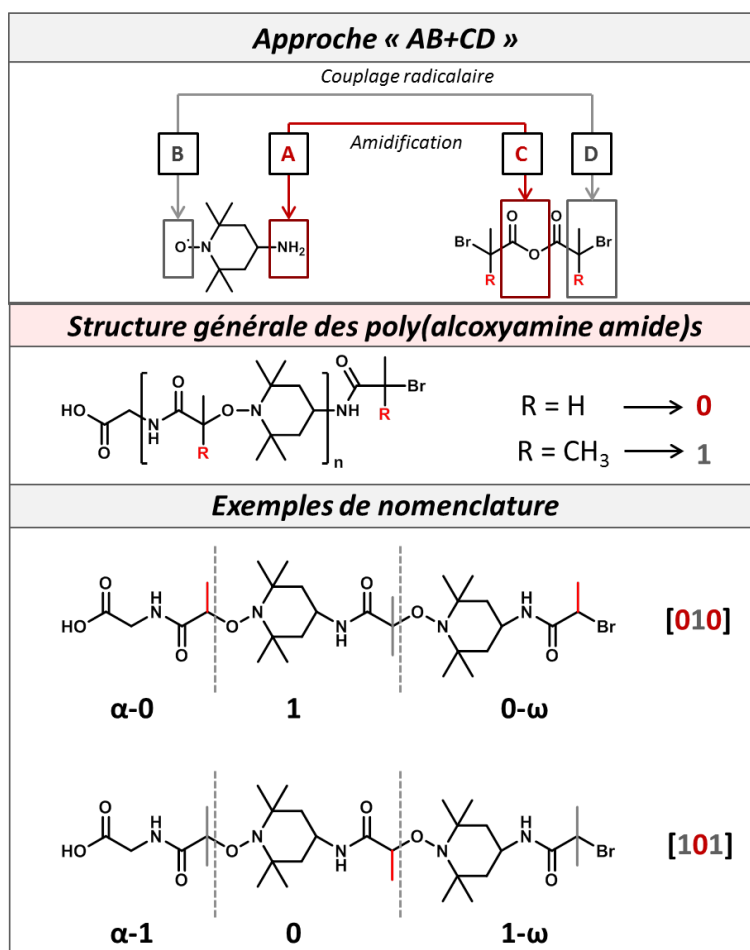
---





## 1. Introduction

Il a été expliqué dans l'**Introduction Générale** qu'il est possible d'encoder de l'information le long d'une chaîne polymère, en utilisant deux comonomères codant pour **0** et pour **1**.<sup>[2]</sup> Pour synthétiser ce type de polymères porteurs d'un code numérique, il est nécessaire d'obtenir des chaînes parfaitement isomoléculaires présentant un contrôle précis de l'enchaînement des monomères. Or, il a été démontré dans le **Chapitre I** que la synthèse itérative supportée est une stratégie de choix pour obtenir une telle précision microstructurale. C'est pourquoi cette approche a été étudiée tout au long de cette thèse. En outre, la stratégie « **AB+CD** » expliquée dans le **Chapitre I** permet d'effectuer une synthèse itérative basée sur la chimiosélectivité, affranchie d'étapes de déprotection, chronophages.<sup>[21]</sup> C'est donc en se basant sur cette approche que les travaux de cette thèse ont été effectués. Ce chapitre est dédié à la synthèse de poly(alcoxyamine amide)s à séquences contrôlées mettant en jeu deux réactions orthogonales, le couplage radicalaire et le couplage amine-acide – voir Figure 27.



**Figure 27 : Approche « AB+CD » étudiée dans ce chapitre mettant en jeu un couplage radicalaire et une amidification pour la synthèse de poly(alcoxyamine amide)s encodées numériquement, et leur nomenclature. α correspond au début de chaîne, et ω à la fin de chaîne.**

Cette synthèse met en jeu deux types de comonomères : un anhydride symétrique bromopropanoïque, codant pour **0** ou pour **1** selon ses substituants, ainsi que le 4-Amino-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl (TEMPO-NH<sub>2</sub>) utilisé en tant qu'espaceur, nécessaire à la mise en place de réactions orthogonales. Ainsi, la fonction acide **C** de l'anhydride peut réagir avec l'amine **A** de l'espaceur pour former un amide, tandis qu'un couplage radicalaire se tient entre le carbone **D** en alpha du brome et la fonction nitroxyde **B** du TEMPO-NH<sub>2</sub>. Les poly(alcoxyamine amide)s obtenus par cette approche sont alors porteurs d'une code binaire, dont la nomenclature utilisée au cours de cette thèse est détaillée Figure 27.

Une première étude sur la synthèse itérative de poly(alcoxyamine amide)s à séquences contrôlées a déjà été réalisée par la doctorante précédente Anna Meszynska.<sup>[147]</sup> Ses études préliminaires ont ainsi montré qu'une approche « **AB+CD** » permet l'obtention de polymères isomoléculaires à séquences contrôlées. Dans ce **Chapitre II**, des études plus poussées ont été effectuées sur la synthèse des poly(alcoxyamine amide)s afin de comprendre et d'améliorer le procédé. Dans un premier temps, la synthèse des monomères codants est décrite dans ce chapitre. Puis l'approche « **AB+CD** » a été étudiée sur différents types de support, décrits **Figure 28**. La synthèse sur support solide a d'une part permis l'optimisation des conditions de synthèse, tandis que d'autre part, les polymères obtenus ont pu être séquencés et ainsi décodés par spectrométrie de masse tandem grâce à la présence de liaisons alcoxyamines présentant un caractère labile. Puis la synthèse itérative a été étudiée sur différents supports solubles, permettant de mettre en évidence l'influence du taux de fonctionnalisation du support sur les résultats obtenus. Enfin, le dernier support étudié dans ce chapitre a été le support fluoré.

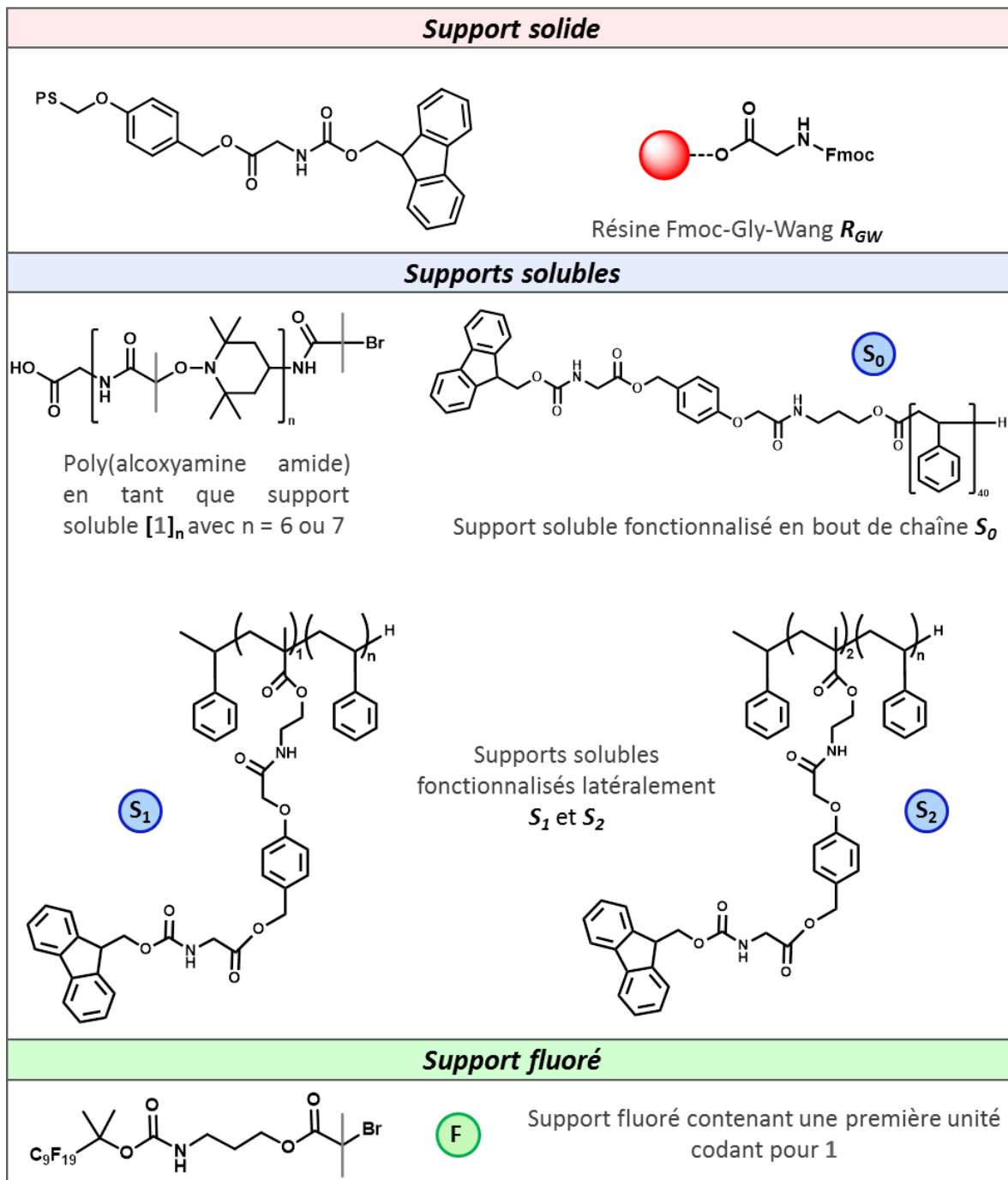


Figure 28 : Différents supports utilisés dans ce chapitre et leurs représentations.

## 2. Synthèse des monomères

### 2.1 Synthèse de l'anhydride 2-bromo-2-méthylpropanoïque codant pour 1

L'anhydride 2-bromo-2-méthylpropanoïque a été préparé en une étape suivant le protocole ci-dessous. <sup>[148]</sup>

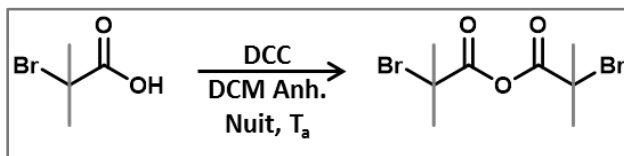


Figure 29 : Synthèse de l'anhydride 2-bromo-2-méthylpropanoïque codant pour 1.

L'acide 2-bromo-2-méthylpropanoïque a réagi pendant une nuit en présence de l'agent d'activation dicyclohexylcarbodiimide (DCC) dans le dichlorométhane anhydre. La réaction a généré de l'urée cyclohexyle, non soluble dans le dichlorométhane, qui a été filtrée après la réaction. L'anhydride a été obtenu sous forme de poudre blanche avec un rendement moyen de 50%.

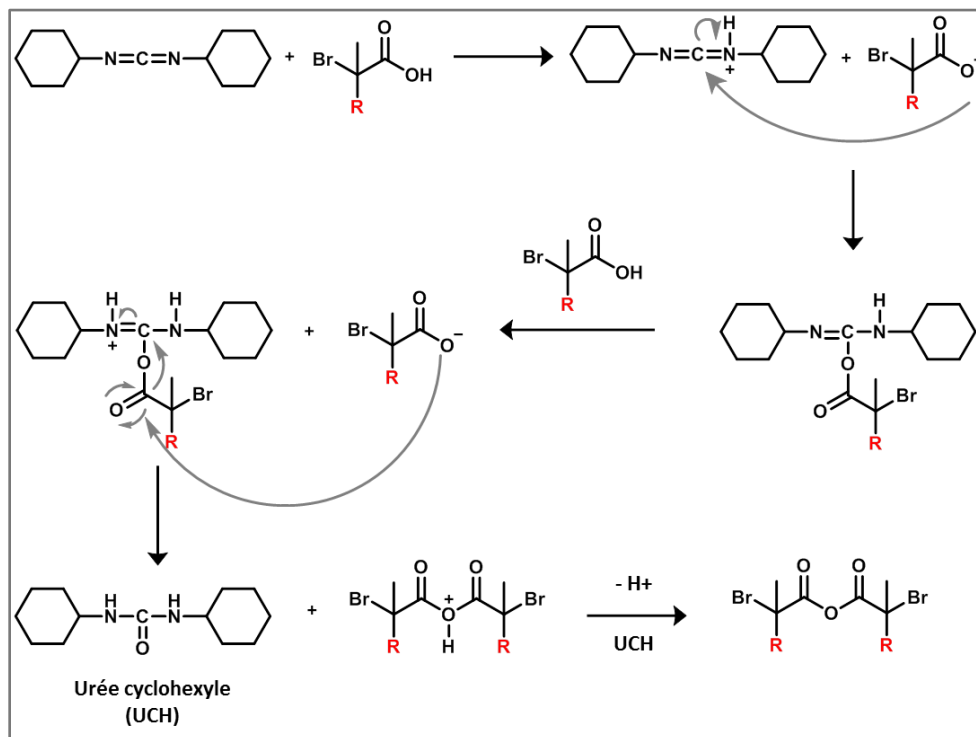


Figure 30 : Mécanisme de synthèse des anhydrides 2-bromo-2-méthylpropanoïque (pour R = CH<sub>3</sub>) et 2-bromo-propanoïque (pour R = H).

Ce produit a été analysé par RMN du proton et du carbone Figure 31 et Figure 32 .

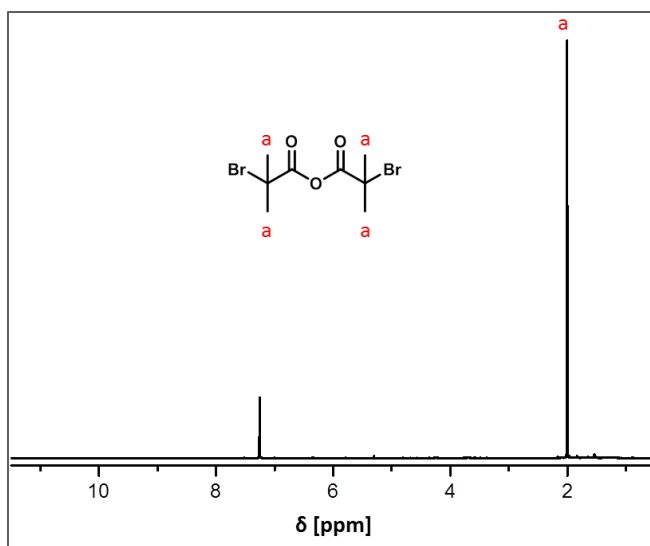


Figure 31 : RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) de l'anhydride 2-bromo-2-méthylpropanoïque.

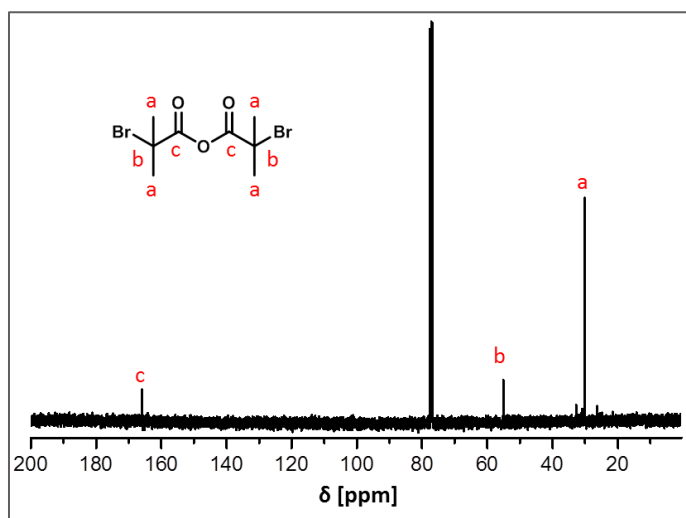


Figure 32 : RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) de l'anhydride 2-bromo-2-méthylpropanoïque.

## 2.2 Synthèse de l'anhydride 2-bromo-propanoïque codant pour 0

Cette synthèse a été réalisée dans les mêmes conditions que pour l'anhydride 2-bromo-2-méthylpropanoïque, en remplaçant l'acide 2-bromo-2-méthylpropanoïque par l'acide 2-bromo-propanoïque.

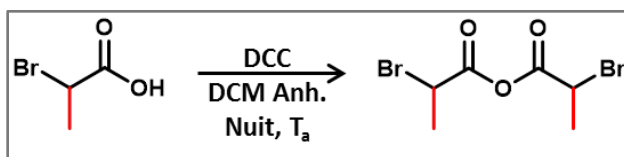


Figure 33 : Synthèse de l'anhydride 2-bromo-propanoïque codant pour 0.

Après une nuit d'agitation, le traitement de la réaction est la même que pour la synthèse de l'anhydride 2-bromo-2-méthylpropanoïque. L'anhydride 2-bromo-propanoïque a été obtenu sous forme d'huile jaune avec un rendement moyen de 50%. Il a ensuite été analysé par RMN du proton Figure 34 et du carbone Figure 35.

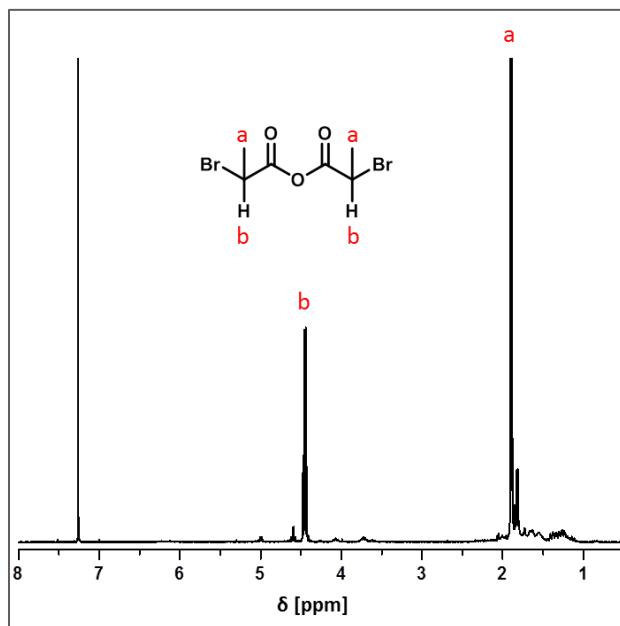


Figure 34 : RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) de l'anhydride 2-bromo-propanoïque.

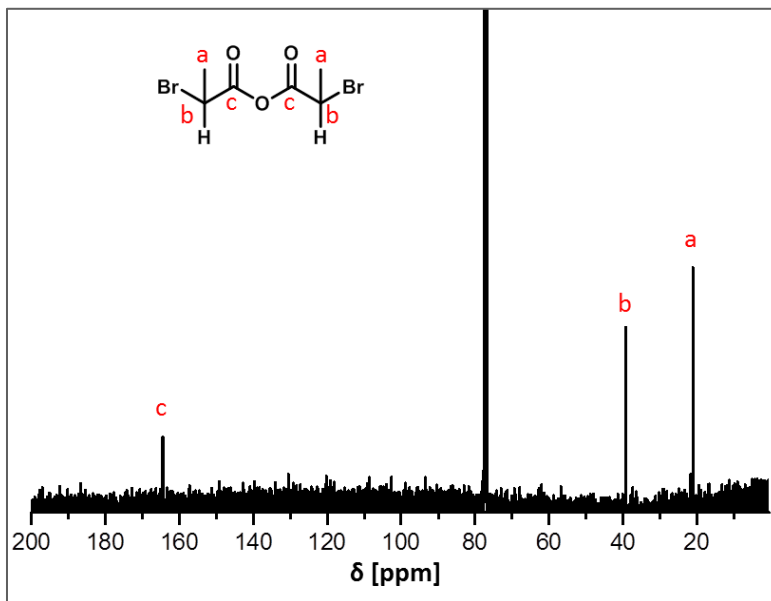


Figure 35 : RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) de l'anhydride 2-bromo-propanoïque.

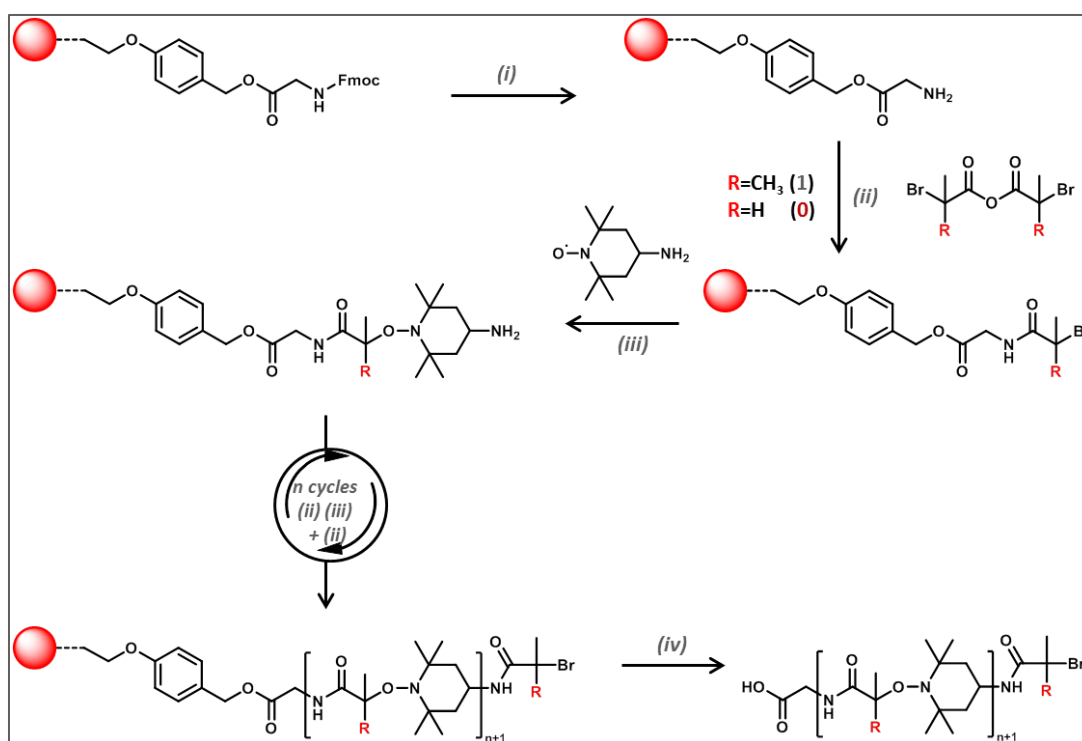
### 3. Synthèse itérative de poly(alcoxyamine amide)s sur support solide

*R<sub>GW</sub>*

#### 3.1 Stratégie générale de synthèse itérative des poly(alcoxyamine amide)s

La synthèse de poly(alcoxyamine amide)s, décrite **Figure 36**, met en jeu deux réactions différentes : une amidification entre l'amine et l'anhydride, et un couplage radicalaire. Ce dernier s'effectue entre le nitroxyde et le carbone issu de la rupture homolytique de la liaison C-Br, afin de créer une liaison alcoxyamine. Ces couplages radicalaires ont été développés lors des décennies passées, principalement pour le spin-trapping d'une part,<sup>[149]</sup> et pour la synthèse d'alcoxyamines d'autre part.<sup>[150]</sup> Ces réactions ont notamment été optimisées pour la NMP (Nitroxide Mediated Polymerization), le radical nitroxyde pouvant se lier de manière réversible avec la chaîne en croissance, formant ainsi une espèce dormante dans le milieu, l'alcoxyamine.<sup>[15]</sup> Matyjaszewski et Monteiro, par exemple, ont d'ailleurs développé la synthèse d'alcoxyamines par couplage radicalaire mettant en jeu des dérivés TEMPO, prouvant que ce type de réaction s'effectue rapidement, sans générer de produits secondaires notables.<sup>[150, 151]</sup> Ce couplage s'effectue en présence de cuivre et d'un ligand.

Par ailleurs, les conditions d'amidification entre l'anhydride et l'amine avaient quant à elle déjà été optimisées dans l'équipe par Raj Kumar Roy et Anna Meszynska. Le choix du carbonate de potassium en tant base avait été validé grâce à des réactions modèles effectuées dans des tubes RMN.<sup>[107]</sup>



**Figure 36 :** Stratégie générale pour la synthèse de poly(alcoxyamine amide)s à séquences contrôlées sur résine Fmoc-Gly-Wang. (i) Déprotection de la résine : DMC/Pipéridine (50/50) ; (ii) Amidification : Anhydride contenant l'unité codante, base, THF, 50 min ; (iii) Couplage radicalaire : TEMPO amine, Me<sub>6</sub>TREN, CuBr, DMSO anhydre, 40min ; (iv) Clivage acide : TFA/DCM (50/50) 2 heures.



Dans un premier temps, la synthèse de poly(alcoxyamine)amide décrite **Figure 36** a été étudiée sur un support solide, technique adéquate pour la synthèse itérative. La résine choisie pour cette étude est une résine Fmoc-Gly-Wang chargée à 0.7mmol/g, que l'on nommera  $R_{GW}$ . Elle possède une fonction clivable en milieu acide permettant de séparer l'oligomère du support à la fin de la synthèse, ainsi qu'une fonction amine protégée. Après une déprotection (i) en conditions basiques DCM/pipéridine (50/50), les billes de résine possèdent des fonctions amine sur lesquelles peuvent croître les chaînes. S'alternent alors deux types de réaction : (ii) en conditions basiques, l'anhydride réagit avec l'amine pour former un amide dans le THF pendant 50 minutes, (iii) en présence de Cuivre (I) et d'un ligand, un couplage radicalaire s'effectue entre le nitroxyde et le radical généré par rupture homolytique de la liaison C-Br, pendant 40 minutes, sous atmosphère inerte et dans du DMSO anhydre car le cuivre est sensible à l'oxydation. Les réactions (ii) et (iii) sont répétées le nombre de fois désiré par l'expérimentateur pour obtenir la structure – et donc le code incrémenté – voulue. Puis les chaînes sont séparées de la résine grâce à un clivage en milieu acide (iv) TFA/DCM (50/50) pendant deux heures. Après filtration des billes de résine, les polymères en solution sont précipités dans de l'éther froid, et généralement obtenus sous forme de poudre blanche avec un rendement moyen de 25%. Ils sont ensuite analysés par RMN, SEC, ESI-MS/MS.

### 3.2 Synthèse orthogonale d'une bibliothèque d'oligo(alcoxyamine amide)s codant pour 3 bits

Dans un premier temps, une bibliothèque modèle des 8 oligomères codant pour 3 bits a été synthétisée sur la résine  $R_{GW}$  dans les conditions énoncées précédemment. Cette bibliothèque a été développée dans le but de prouver que cette approche est appropriée à la synthèse de polymères à séquences contrôlées porteurs d'une information numérique d'une part, ainsi que pour comprendre les bases d'un séquençage par spectrométrie de masse tandem sur ce type de structure d'autre part. Les oligomères suivants ont donc été synthétisés : [111], [110], [100], [101], [001], [011], [010], [000].

Les analyses SEC **Figure 37** des composés codant [000] et [010] ont dénoté du caractère incomplet de chaque étape, qui s'observe sur les oligomères contenant des unités 0. Deux explications peuvent être proposées à ces observations. D'une part, l'étape de couplage radicalaire est moins favorable après l'ajout d'une unité 0 qu'après l'ajout d'une unité 1. En effet, le radical créé par rupture homolytique de la liaison C-Br est moins réactif s'il est secondaire – ce qui est le cas après l'ajout de l'anhydride 2-bromo-propanoïque codant pour 0 -, que s'il est tertiaire – après l'ajout de l'anhydride 2-bromo-2-méthylpropanoïque codant pour 1.<sup>[150]</sup> D'autre part, l'étape d'amidification se tient dans le THF en présence de  $K_2CO_3$ . Or, ce dernier n'est que partiellement soluble dans le solvant utilisé, ce qui pourrait diminuer l'activation de l'anhydride. C'est pourquoi, afin de pallier aux problèmes d'étapes incomplètes, la N,N-diisopropyléthylamine (DIPEA), soluble dans les solvants organiques, a été choisie comme base à la place du carbonate de potassium pour l'ajout de l'anhydride 0.

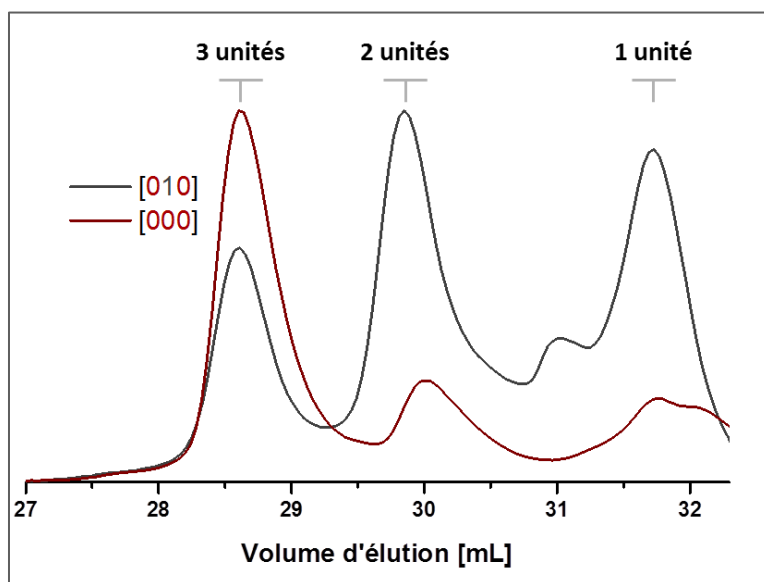


Figure 37 : Analyse SEC des oligomères codant pour [010] et [000] synthétisés avec l'emploi de  $K_2CO_3$  en tant que base pour les étapes d'amidification.

Les 8 oligomères ont alors été synthétisés dans ces nouvelles conditions. La Figure 38 montre les chromatogrammes obtenus par SEC pour chacun des oligomères encodés. Dans tous les cas, ces analyses SEC ont permis de mesurer l'indice de polymolécularité  $\mathfrak{D}$  de chaque composé, Tableau 3.

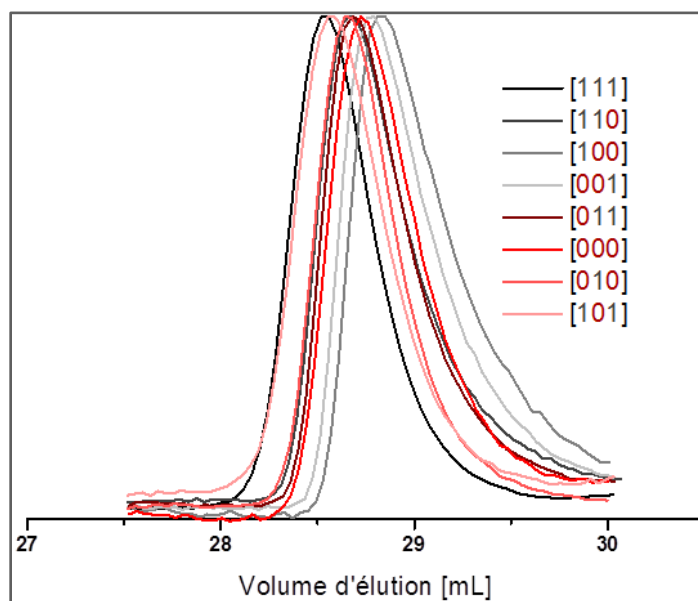


Figure 38 : Analyses SEC des 8 oligomères encodés à 3 bits.

Séquence	[111]	[110]	[100]	[001]	[011]	[000]	[010]	[101]
$\mathfrak{D}$	1.006	1.012	1.010	1.007	1.009	1.002	1.007	1.007

Tableau 3 : Polymolécularité des oligomères encodés à 3 bits.

L'indice de polymolécularité  $D$  correspond au ratio entre la masse molaire moyenne en masse, et celle en nombre. Chacun des oligomères présente ici un indice de polymolécularité inférieur ou égal à 1.012, indiquant une isomolécularité apparente presque parfaite. En outre, il est impossible d'avoir un indice égal à 1.00 par analyse SEC, à cause de phénomènes de dispersion axiale et d'élargissement du pic intrinsèque à ce type d'analyse.<sup>[152, 153]</sup> D'une part, les effets de frottements avec les bords de la colonne peuvent retarder le trajet de certaines chaînes. D'autre part, même si la séparation est parfaite le long de la colonne, le détecteur analyse des fractions obtenues les unes à la suite des autres dans des microcuvettes. Chaque point correspond donc à une moyenne faite sur quelques microlitres et le résultat obtenu ne correspond qu'à des moyennes obtenues sur de très petites quantités, et non à des points réels.

Chaque oligomère a également été caractérisé par spectrométrie de masse. Le spectre ESI-HRMS de l'oligomère **[010]** est donné en exemple ci-dessous.

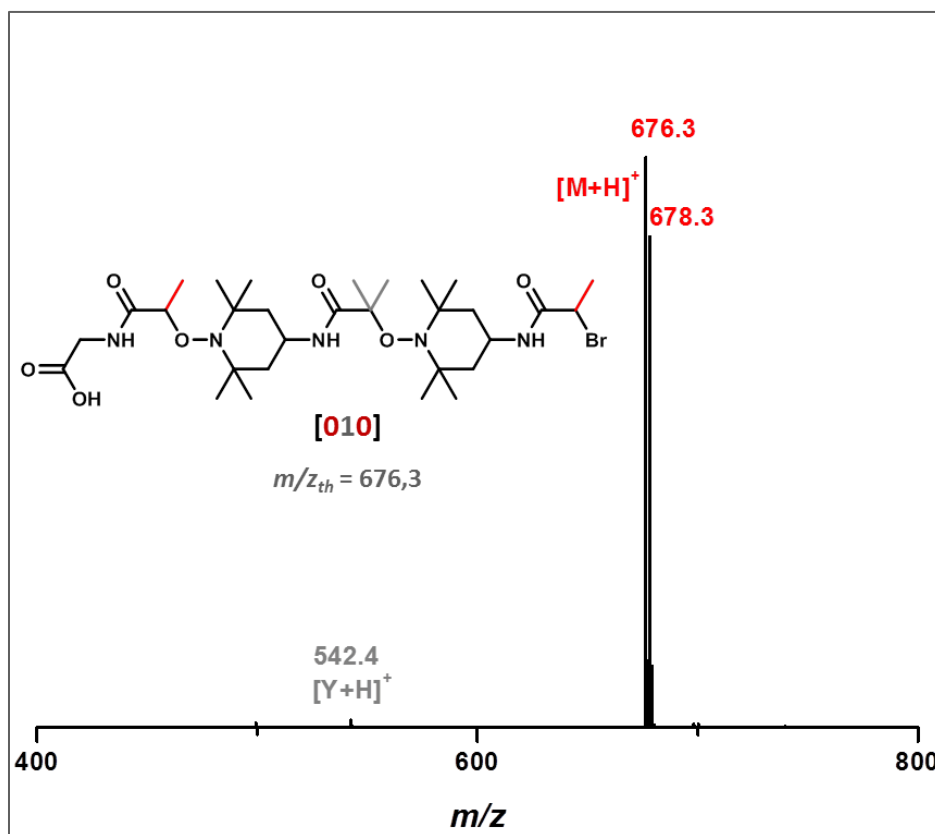


Figure 39 : Spectre ESI-HRMS de l'oligomère **[010]**.

Malgré la présence d'une impureté de faible abondance, le pic principal correspond bien à la structure visée, ce qui indique une bonne uniformité moléculaire. Les résultats obtenus pour l'analyse par ESI-HRMS de chacun des oligomères sont répertoriés Tableau 4.

Séquence	Masse [M+H] <sup>+</sup>	Séquence	Masse [M+H] <sup>+</sup>
<b>[000]</b>	m/z <sub>exp</sub> 662.3124 m/z <sub>th</sub> 662.3123	<b>[011]</b>	m/z <sub>exp</sub> 690.3448 m/z <sub>th</sub> 690.3436
<b>[001]</b>	m/z <sub>exp</sub> 676.3296 m/z <sub>th</sub> 676.3279	<b>[101]</b>	m/z <sub>exp</sub> 690.3444 m/z <sub>th</sub> 690.3436
<b>[010]</b>	m/z <sub>exp</sub> 676.3293 m/z <sub>th</sub> 676.3279	<b>[110]</b>	m/z <sub>exp</sub> 690.3451 m/z <sub>th</sub> 690.3436
<b>[100]</b>	m/z <sub>exp</sub> 676.3293 m/z <sub>th</sub> 676.3276	<b>[111]</b>	m/z <sub>exp</sub> 704.3583 m/z <sub>th</sub> 704.3592

**Tableau 4 : Comparaison entre les masses théoriques et les masses expérimentales grâce à la caractérisation des 8 oligomères par ESI-HRMS**

Pour chacun des oligomères analysés par ESI-HRMS, les masses expérimentales obtenues avec une précision de quatre décimales sont conformes aux masses attendues théoriquement avec une différence n'intervenant qu'à la troisième décimale, témoignant ainsi que les structures visées ont bien été obtenues. L'isomolécularité des oligomères synthétisés démontrée par SEC, ainsi que la précision des masses obtenues par ESI-HRMS, confirment que cette approche itérative et les réactions mises en jeu sont appropriées pour synthétiser des oligomères digitalement encodés.

### **3.3 Lecture des oligo(alcoxyamine)amides par spectrométrie de masse tandem**

Les oligomères synthétisés ont ensuite été étudiés par spectrométrie de masse tandem. Pour tous les travaux de cette thèse, les analyses de masses ont été effectuées par le laboratoire du Pr. Laurence Charles à l'Université Aix-Marseille. Pour chacun des oligomères, l'ion précurseur obtenu lors de l'analyse ESI-HRMS a été fragmenté dans une cellule de collision, puis les fragments obtenus ont été analysés sur les spectrogrammes de masse. A titre d'exemple, la Figure 40 correspond au séquençage par MS/MS de l'oligomère codant pour **[010]**. La fragmentation a été effectuée sur l'ion précurseur à m/z = 673.3 obtenu lors de l'analyse ESI-HRMS Figure 39.

Dans chaque cas, il est apparu que sous faible énergie – de 20 à 50 eV – les liaisons alcoxyamines rompaient en priorité. En effet, le caractère labile de cette liaison permet à cette dernière de se casser sous l'effet d'un clivage homolytique de faire énergie. Ainsi, chaque chaîne présente dans l'échantillon se fragmente à l'endroit d'une liaison C-O, chacun des fragments obtenus apparaissant sur le spectre MS/MS.

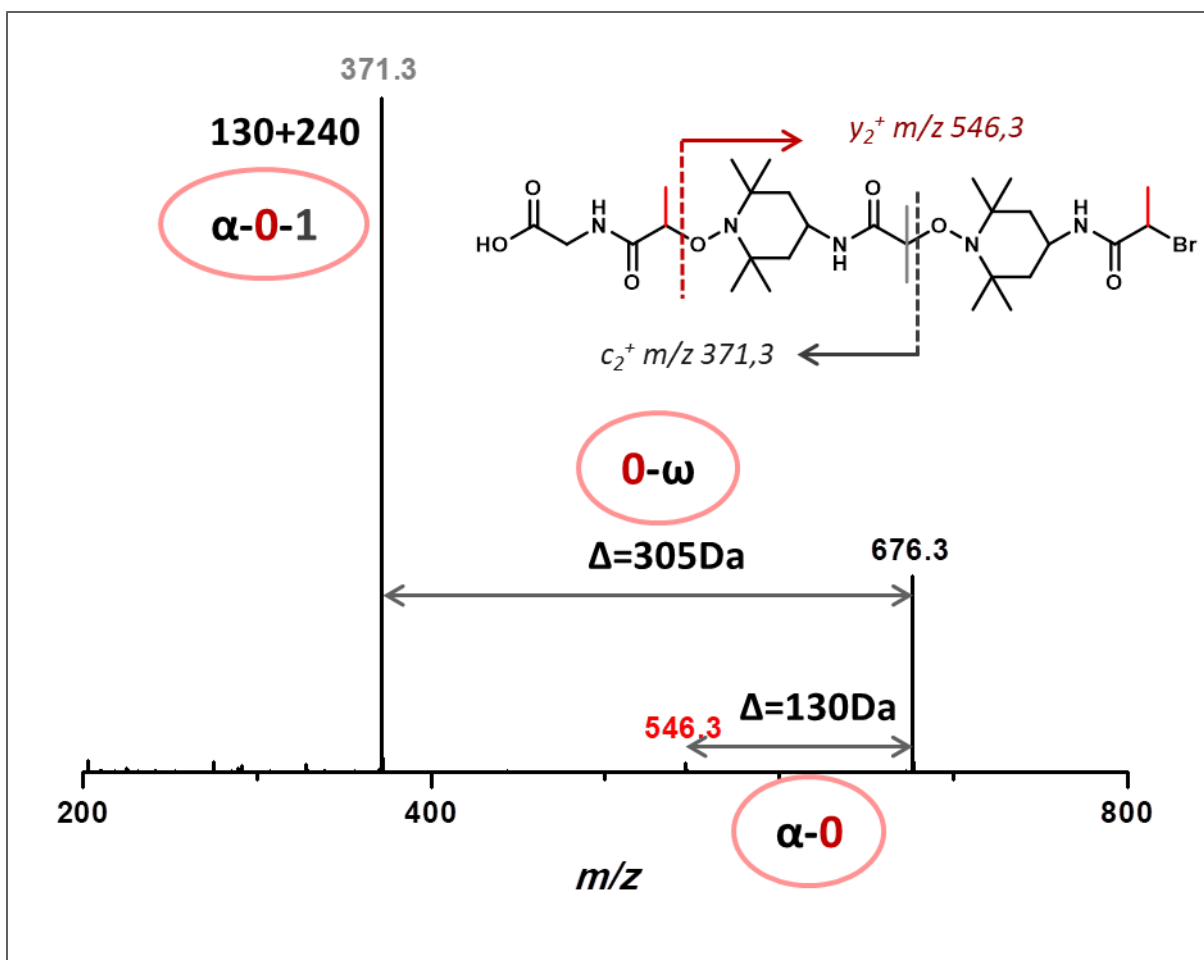


Figure 40 Spectre MS/MS effectué sur l'ion précurseur à  $m/z$  676.3 Da. Ici, seuls 2 fragments sur 4 sont visibles en plus de l'ion précurseur. Il est cependant possible de déchiffrer le code. La différence de 130Da entre le pic principal et le pic à 546.3 indique que le début de chaîne est lié à une unité 0. Le pic à 371.3Da ne peut correspondre qu'à un fragment  $\alpha\text{-0-1}$  (130+240). Enfin, l'écart de 305Da entre les pics à 371.3Da et 676.3Da indique obligatoirement une fin de chaîne contenant l'unité codante 0. Ainsi, le code est bien [010].

Grâce à la présence de ces liaisons alcoxyamines labiles, qui induisent un chemin de fragmentation prévisible – voir Figure 41 pour un exemple détaillé sur l'oligomère [010] -, il a ensuite été possible de remonter au code incrémenté le long de chaque oligomère synthétisé. En effet, les début et fin de chaîne  $\alpha$  et  $\omega$  sont bien distincts et sont donc faciles à identifier. Ensuite, l'écart entre chaque pic, défini Tableau 5, correspond à un motif contenant une unité 1 ou bien une unité 0 selon sa taille. En connaissant les tailles de chaque fragment, il a alors été possible de retrouver toutes les unités contenues dans la chaîne, et ce dans l'ordre d'incrémentation grâce aux début et fin de chaîne identifiables.

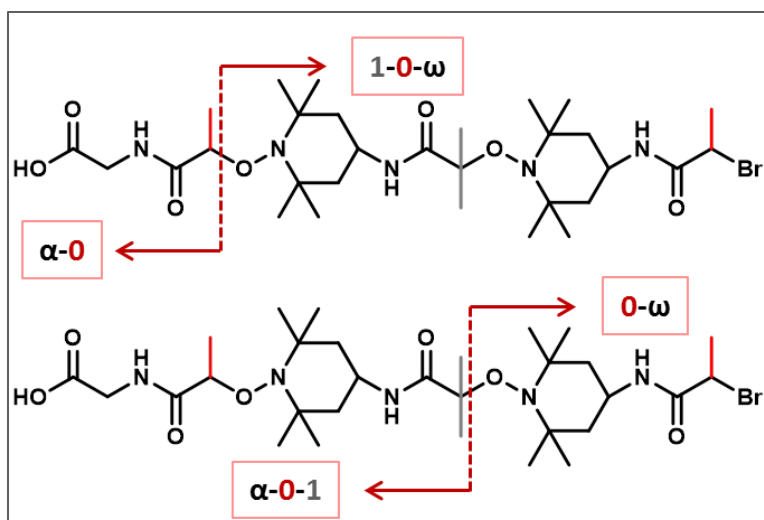


Figure 41 : Schéma de fragmentation en MS/MS pour l'oligomère [010]. Ce pentamère contient 2 liaisons alcoxyamines et peut donc produire 4 fragments différents.

Fragment	$\alpha-0$	$\alpha-1$	0	1	0- $\omega$	1- $\omega$
Masse (Da)	130	144	226	240	305	319

Tableau 5 : Taille de chaque fragment en fonction des unités qu'il contient.

Une preuve de concept ayant été obtenue à travers la synthèse de la bibliothèque des 8 pentamères qui a permis l'encodage de données binaires, et au travers du séquençage par spectrométrie de masse tandem qui a permis le décodage de ces dernières, il a ensuite été décidé d'explorer la synthèse de poly(alcoxyamine amide)s plus longs.

## 4. Optimisation des conditions de couplage radicalaire

Lors de la synthèse itérative de longues chaînes sur support solide, il est possible de rencontrer des difficultés d'accès aux sites réactifs, et donc des rendements incomplets à chaque étape. C'est pourquoi certaines optimisations de conditions, notamment lors de l'étape de couplage radicalaire, ont dû être effectuées avant de procéder à la synthèse de longues chaînes.

### 4.1 Influence du chauffage par micro-onde sur l'étape de couplage radicalaire

Tout d'abord, différentes conditions de chauffe ont été testées sur une séquence modèle [1111]. Les conditions utilisées pour la synthèse des différents oligomères sont résumées Tableau 6, tandis que la Figure 42 montre les analyses SEC des composés II-4-1, II-4-2, et II-4-3.

Composé	II-4-1	II-4-2	II-4-3	II-4-4
Séquence	[1111]	[1111]	[1111]	[1111]
1 <sup>er</sup> couplage radicalaire	T <sub>a</sub> – 40 min	T <sub>a</sub> – 40 min	40°C-BT – 40 min	T <sub>a</sub> – 40 min
2 <sup>ème</sup> couplage radicalaire	T <sub>a</sub> – 40 min	40°C-BT – 40 min	40°C-BT – 90 min	T <sub>a</sub> – 40 min
3 <sup>ème</sup> couplage radicalaire	T <sub>a</sub> – 40 min	40°C-BT – 40 min	40°C-BT – 90 min	40°C-MO – 90 min

Tableau 6 : Conditions de chauffe pour les étapes de couplage radicalaire. BT correspond à une chauffe dans un bain thermostaté, et MO à une chauffe par micro-ondes.

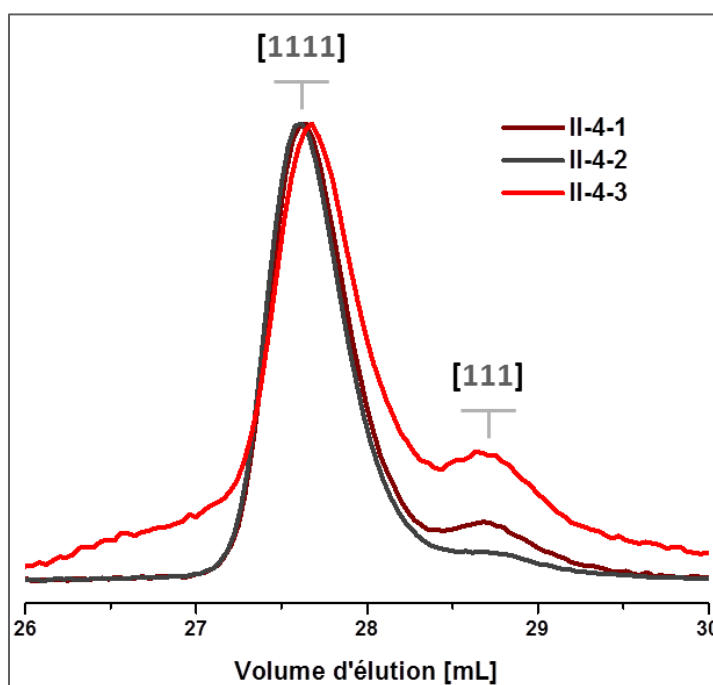
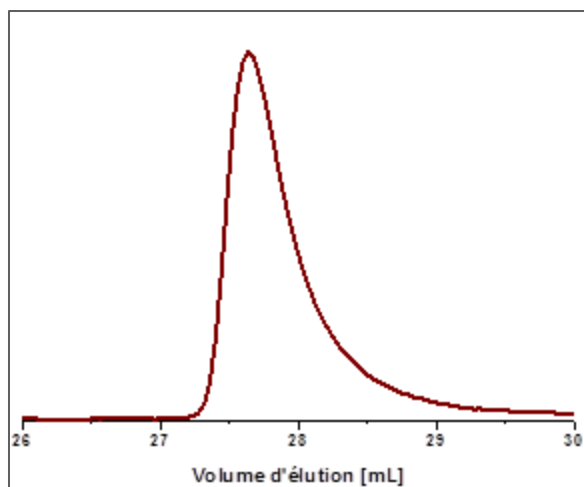


Figure 42 : Analyses SEC des composés II-4-1, II-4-2, et II-4-3.

Pour chacun des chromatogrammes obtenus, un épaulement est visible. Ce dernier correspond à la présence de chaînes codant pour [111]. Il indique qu'avec une chauffe dans un bain thermostaté à 40°C, ou bien à température ambiante, les conditions de couplage radicalaire ne permettent pas un rendement complet de la réaction. En outre, la présence d'un unique épaulement correspondant à une étape incomplète, et l'absence d'autres pics traduisant la présence de chaîne encore plus courtes, permettent de supposer que dans de telles conditions, seul le dernier couplage radicalaire est incomplet. Cette observation vient corréliser l'hypothèse avancée dans l'introduction : la synthèse étant réalisée sur support solide, il est probable que des problèmes d'accessibilité aux sites réactifs soient rencontrés à partir du troisième couplage radicalaire, dus à l'encombrement provoqué par les chaînes en croissance.

C'est pourquoi le composé **II-2-4** a été synthétisé avec un changement pour le troisième couplage radicalaire, tandis que les deux premiers se sont effectués à température ambiante. La chauffe par bain thermostaté n'ayant pas permis l'obtention de structure isomoléculaires, elle a dans ce cas été effectuée par micro-ondes, et ce pendant 90 minutes – contrairement aux 40 minutes usuelles pour les deux premiers couplages. L'oligomère obtenu a été analysé par SEC, et son chromatogramme Figure 43 présente une allure isomoléculaire, indiquant ainsi l'absence de chaînes plus courtes dans l'échantillon.



**Figure 43 : Analyse SEC de l'oligomère II-4-4 codant pour [111] synthétisé avec utilisation du micro-onde pour le dernier couplage radicalaire.**

Ce résultat prouve que l'utilisation du micro-onde lors du troisième couplage radicalaire a permis l'ajout de l'unité TEMPO-NH<sub>2</sub> sur toutes les chaînes en croissance. On peut noter que la chauffe n'excède cependant pas 40°C, afin d'éviter les réactions secondaires induites par une dégradation de l'anhydride et une désactivation du radical, et parce que les poly(alcoxyamine amide)s se dégradent à 60°C d'autre part, comme cela a été préalablement démontré par notre équipe.<sup>[107]</sup> Par ailleurs, l'augmentation des rendements par utilisation du micro-onde a longtemps été discuté par la communauté scientifique, et peut s'expliquer par une chauffe plus rapide, une plus grande agitation des



molécules, et donc dans notre cas, une meilleure mobilité pour faciliter l'accès aux sites réactifs encombrés.<sup>[154]</sup>

Dans le but d'attester que ces nouvelles conditions de réactions permettent l'obtention de chaînes isomoléculaires, des composés plus longs et aux structures variées, répertoriés Tableau 7, ont été synthétisés avec l'emploi du micro-onde à partir du troisième couplage radicalaire.

Composé	II-4-5	II-4-6	II-4-7
Séquence	[1] <sub>7</sub>	[1] <sub>8</sub>	[11010]
1 <sup>er</sup> et 2 <sup>ème</sup> couplage radicalaire	T <sub>a</sub> - 40min	T <sub>a</sub> - 40min	T <sub>a</sub> - 40min
3 <sup>ème</sup> couplage radicalaire et suivants	40°C-MO- 90min	40°C-MO- 90min	40°C-MO- 90min

Tableau 7 : Conditions de synthèse des composés II-2-5, II-2-6, et II-2-7.

La Figure 44 montre l'analyse SEC des composés II-4-5 et II-4-6. L'allure monomodale des courbes obtenues indique que les rendements de chaque étape étaient quantitatifs et ont permis l'obtention de longues chaînes isomoléculaires, validant ainsi les conditions de synthèse. On peut noter qu'il est cependant difficile d'obtenir de plus longues chaîne par cette approche sur un support solide, dû aux problèmes d'accessibilité évoqués précédemment.

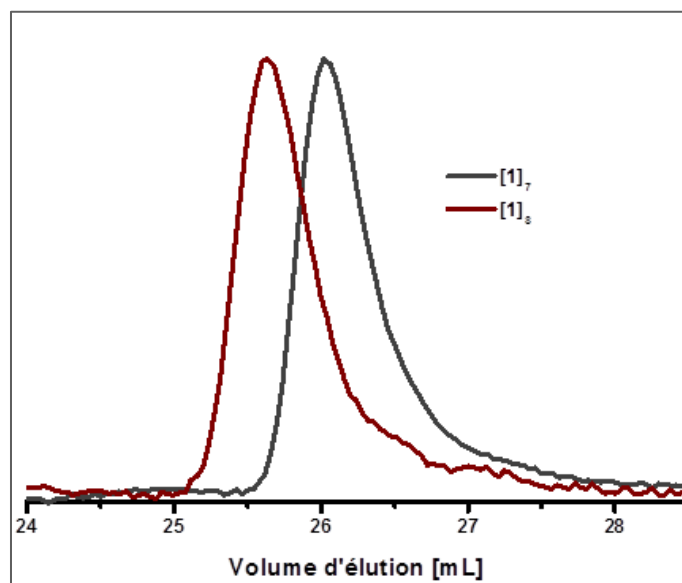


Figure 44 : Analyse SEC des composés II-4-5 et II-4-6.

Les composés II-4-5, II-4-6 et II-4-7 ont par ailleurs été analysés par ESI-HRMS Figure 45. Les spectres obtenus attestent de la structure des composés ainsi que de leur pureté. En outre, le séquençage par MS/MS du composé II-4-7 codant pour [11010] est également représenté Figure 45 –d). Ce nouvel exemple prouve une fois de plus qu'il est possible de remonter au code incrémenté le long de

la chaîne grâce à un séquençage par spectrométrie de masse tandem, même sur de plus longues chaînes. On peut noter que ce composé a été analysé alors que le code qu'il contenait était maintenu secret. Il a cependant pu être recouvré sans erreur.

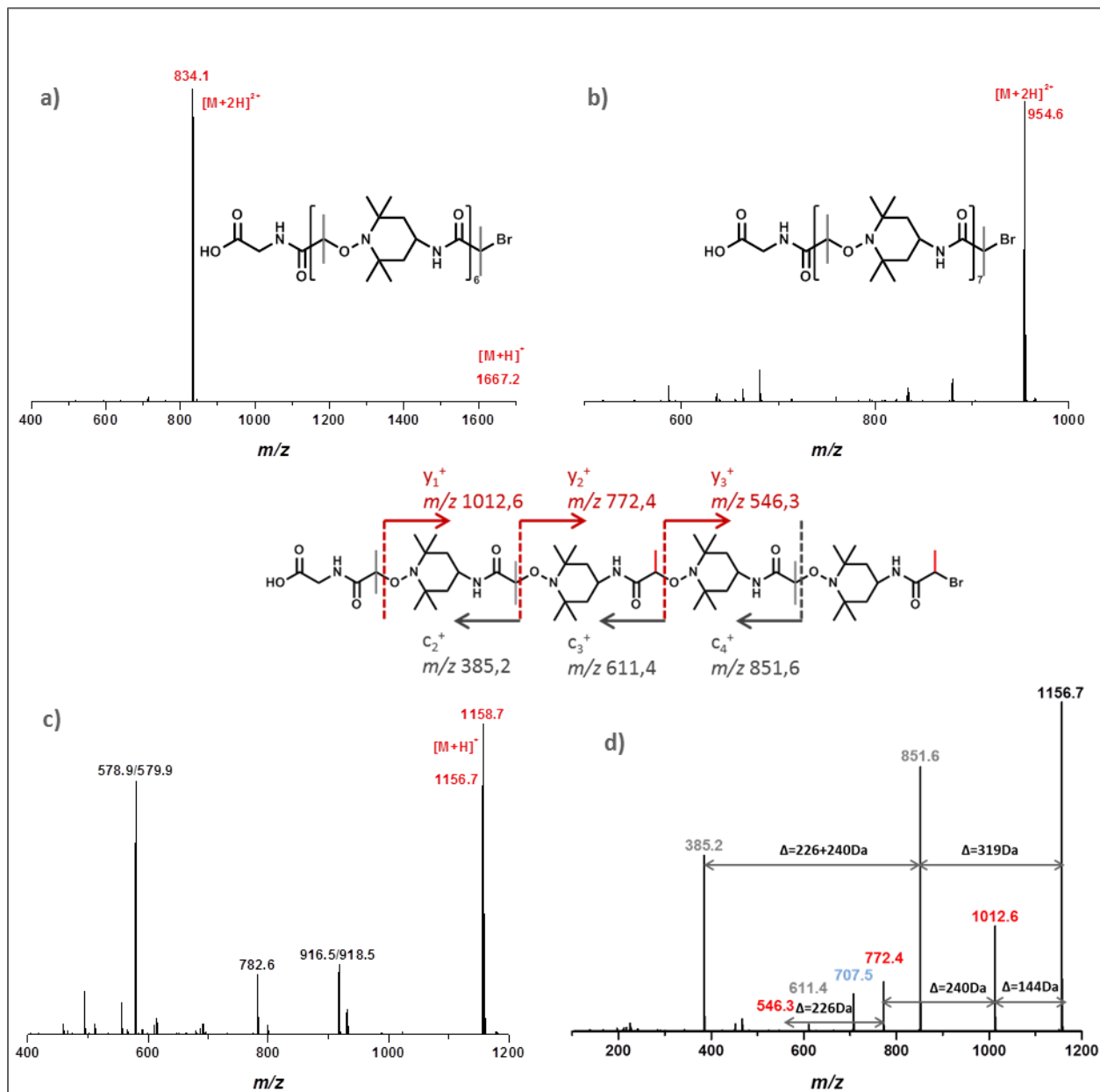


Figure 45 : a) Spectre ESI-HRMS du composé II-4-5. b) Spectre ESI-HRMS du composé II-4-6. c) Spectre ESI-HRMS du composé II-4-7. d) Séquençage par MS/MS de l'ion précurseur à 1156.7 Da du composé II-4-7.

L'optimisation des conditions de chauffe puis la synthèse de séquences contenant jusqu'à un octet d'informations ont donc permis de valider l'emploi du micro-onde à 40°C, à partir de la troisième étape de couplage radicalaire, pour la synthèse de poly(alcoxyamine amide)s à séquences contrôlées.

## 4.2 Recherche de nouvelles conditions pour un couplage radicalaire en présence d'air

La synthèse itérative est chronophage pour l'expérimentateur. Il existe en outre des synthétiseurs capables d'effectuer les ajouts et lavages de manière automatisée. Cependant, se placer sous atmosphère inerte peut rapidement s'avérer délicat lors de manipulations avec un synthétiseur automatique. C'est pourquoi de nouvelles conditions de couplage radicalaire ont été explorées, dans le but de trouver un système qui ne requiert pas un milieu réactionnel sous argon.

### 4.2.1 Système acide ascorbique/ $\text{CuSO}_4$

L'acide ascorbique – vitamine C - est un agent réducteur capable de réduire le cuivre (II) .<sup>[155, 156]</sup> C'est pourquoi le couple acide ascorbique/ $\text{Cu}_2\text{SO}_4$  a été considéré pour l'ajout de TEMPO-NH<sub>2</sub> en milieu non inerte. En effet, grâce à l'emploi de ce couple, le cuivre (II) ne se dismutera qu'une fois en solution pour donner du cuivre (I) et du cuivre (0). De plus, si le cuivre (I) formé s'oxyde avec l'air, l'acide ascorbique le réduira de nouveau.

Des études ont donc été menées sur la synthèse d'oligo(alcoxyamine amide)s sur support solide en remplaçant le bromure de cuivre par le couple acide ascorbique/ $\text{Cu}_2\text{SO}_4$ . Dans un premier temps, le composé **II-4-8** codant pour **[11]** a été synthétisé puis analysé par SEC Figure 46. L'étape de couplage radicalaire a été effectuée sous argon, en présence d'acide ascorbique et de  $\text{Cu}_2\text{SO}_4$ , pendant 40 minutes. L'allure multimodale du chromatogramme obtenu indique que ces conditions ne permettent pas un rendement total lors du couplage radicalaire.

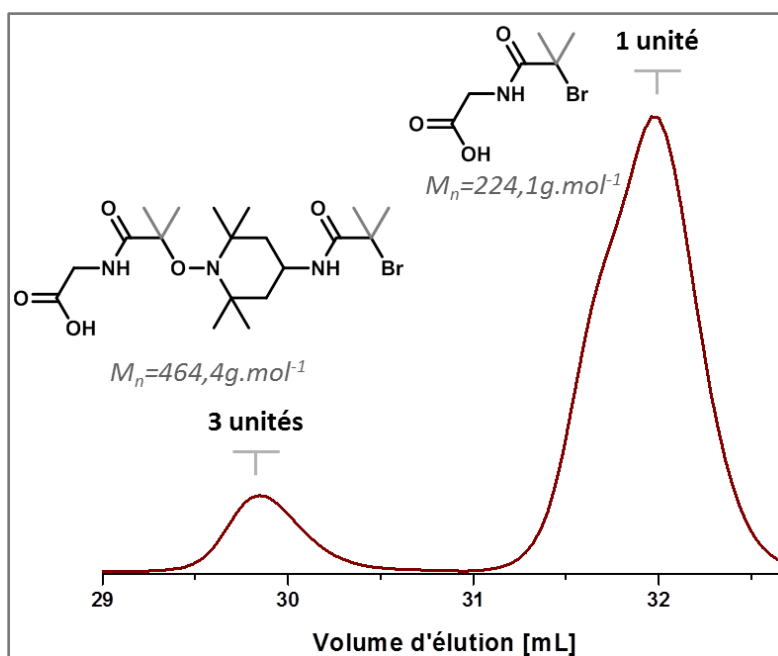


Figure 46 : Analyse SEC du composé **II-4-8**.

De plus, la petite taille de l'oligomère synthétisé ne permet pas sa précipitation dans l'éther après clivage du support, et donc rend plus difficile la purification. C'est pourquoi la suite des études a été réalisée sur une séquence modèle [111], en comparant différents temps de réactions pour l'étape de couplage radicalaire, répertoriés Tableau 8.

Composé	II-4-9	II-4-10	II-4-11	II-4-12
Séquence	[111]	[111]	[111]	[111]
$t_{\text{couplage}}$	40 min	70 min	5h30	Nuit

Tableau 8 : Temps de réaction mis en jeu pour les étapes de couplage radicalaire.

Les composés synthétisés ont été analysés par SEC Figure 47. Chacun des chromatogrammes présente une allure multimodale, montrant le caractère incomplet de chaque étape de couplage radicalaire. De plus, dans le cas des composés II-4-9 et II-4-10, la structure visée [111] n'est même pas atteinte, tandis que des temps d'agitation plus longs permettent l'apparition du pic correspondant à la séquence [111]. Cependant, malgré les longs temps d'agitation, les réactions ne sont pas totales. Le couple acide ascorbique/ $\text{Cu}_2\text{SO}_4$  n'est donc pas un bon candidat pour ce type de couplage.

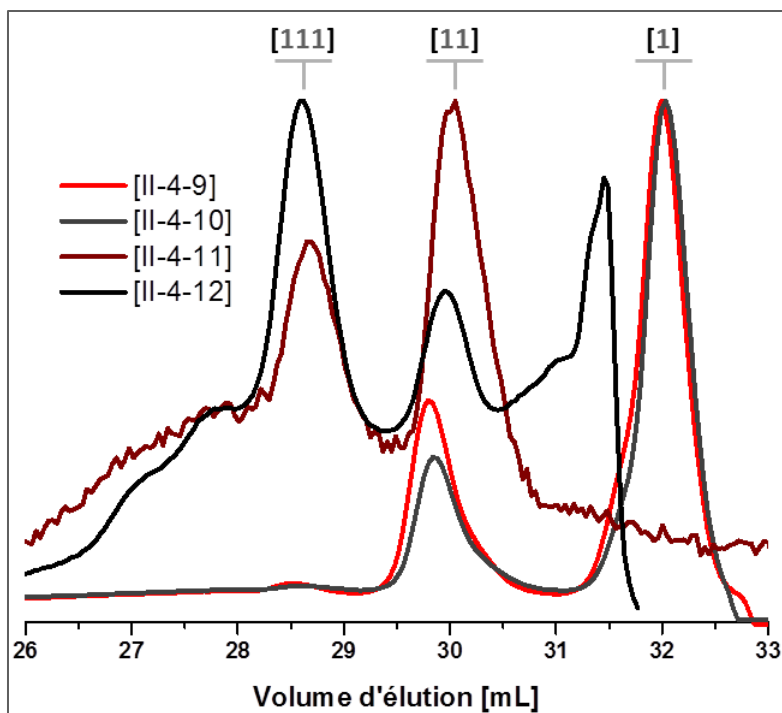
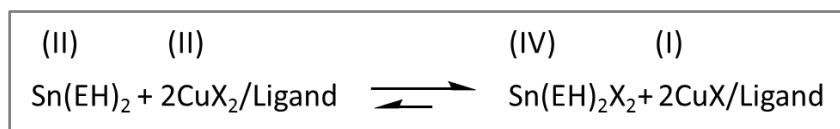


Figure 47 : Analyse SEC des composés II-4-9, II-4-10, II-4-11, et II-4-12.

#### 4.2.2 Système CuX<sub>2</sub>/Sn(II)

Dans les années 2000, Matyjaszewski développe une technique de polymérisation contrôlée, l'AGET ATRP (Activator Generated by Electron Transfer for Atom Transfer Radical Polymerization). Cette technique de polymérisation vivante contrôlée impliquant un transfert d'électrons s'avère appropriée pour la synthèse de copolymères à blocs incluant notamment des acrylates.<sup>[157]</sup> Cette synthèse s'effectue en présence de CuBr<sub>2</sub>, d'un ligand –Me<sub>6</sub>TREN- et d'un agent réducteur, le 2-éthylhexanoate d'étain. En 2006, Matyjaszewski montre que l'AGET ATRP, qui s'opère normalement en conditions parfaitement inertes, peut se tenir en présence d'air à condition d'utiliser le 2-éthylhexanoate d'étain en assez grandes quantités avec du Cuivre (II). L'excès d'agent réducteur consomme l'air présent dans le système, et permet de laisser un environnement désoxygéné pour que l'ATRP ait lieu dans de bonnes conditions.<sup>[158, 159]</sup>



**Schéma 1 : Réduction du Cuivre (II) en Cuivre (I) par le 2-Ethylhexanoate d'étain.**

Ce nouveau couple oxydant/réducteur CuX<sub>2</sub>/Sn(II) semble alors être un bon candidat pour le couplage radicalaire sous atmosphère non inerte. Comme précédemment, l'étude s'est portée sur une séquence modèle [111]. Différentes expériences dans lesquelles varient la source de cuivre (II), le temps de réaction, ainsi que la température lors des couplages radicalaires ont été effectuées. Les conditions utilisées pour la synthèse de chacun des composés sont résumées Tableau 9.

Composé	Séquence	Cuivre	T(°C)	t	Résultats
<b>II-4-13</b>	[111]	CuBr <sub>2</sub>	T <sub>a</sub>	2h	Aucun couplage radicalaire
<b>II-4-14</b>	[111]	CuBr <sub>2</sub>	T <sub>a</sub>	Nuit	Pas de produit final
<b>II-4-15</b>	[111]	CuCl <sub>2</sub>	T <sub>a</sub>	5h	Aucun couplage radicalaire
<b>II-4-16</b>	[111]	CuCl <sub>2</sub>	70	5h	Couplages incomplets

**Tableau 9 : Conditions expérimentales utilisées lors des étapes de couplage radicalaire en présence de Cu(II)/Sn(II).**

En se basant sur les conditions expérimentales explorées par Matyjaszewski, la synthèse du composé **II-4-13** codant pour [111] a été réalisée. Les ajouts de TEMPO-NH<sub>2</sub> se sont effectués dans l'anisole, en présence de CuBr<sub>2</sub>, de 2-éthylhexanoate d'étain, et de Me<sub>6</sub>TREN, pendant 2 heures. Après clivage, l'oligomère a été analysé par SEC Figure 48.

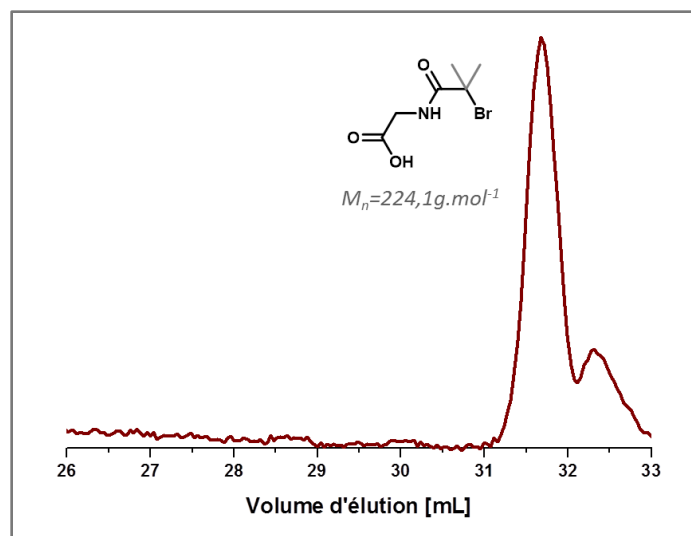


Figure 48 : Analyse SEC du composé II-4-13.

L'analyse SEC du composé **II-4-13** indique que seule l'espèce codant pour **[1]** est présente, et donc qu'aucun ajout de TEMPO-NH<sub>2</sub> n'a été effectué dans ces conditions. Afin d'optimiser les conditions de couplage radicalaire en présence du couple CuX<sub>2</sub>/Sn(II), d'autres essais ont été réalisés en augmentant les temps de réaction, ainsi que les températures afin d'aider à la solubilisation de tous les réactifs mis en jeu. La synthèse du composé **II-4-14**, dont les couplages radicalaires ont été effectués en présence de CuBr<sub>2</sub> pendant une nuit, n'a pas permis l'obtention d'un oligomère final après clivage. En conséquence, il a été décidé de synthétiser par la suite les composés **II-4-15** et **II-4-16** avec l'emploi du CuCl<sub>2</sub> en remplacement du CuBr<sub>2</sub>, lors des ajouts de TEMPO-NH<sub>2</sub>. Après le clivage, les composés **II-4-15** et **II-4-16** ont été analysés par SEC Figure 49.

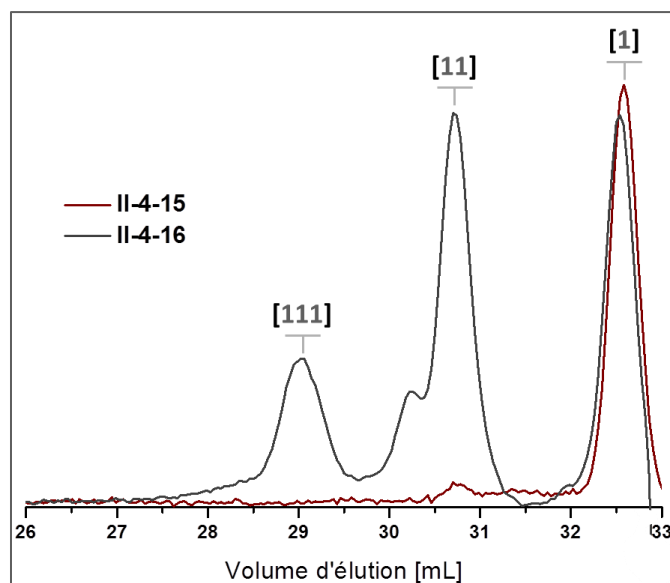


Figure 49 : Analyses SEC des composés II-4-15 et II-4-16.

Le couplage radicalaire à température ambiante n'a pas plus lieu en présence de  $\text{CuCl}_2$  qu'en présence de  $\text{CuBr}_2$ . En chauffant à  $70^\circ\text{C}$  pendant 5h, on note l'apparition de couplages partiels. Les temps de réaction sont cependant beaucoup trop longs tandis qu'il est impossible de chauffer plus fort dû à la labilité des liaisons alcoxyamines. Il est donc conclu que ce nouveau couple  $\text{CuX}_2/\text{Sn(II)}$  n'est pas non plus approprié pour la synthèse de poly(alcoxyamine)amides sur support solide sans argon. Il est maintenant admis que l'étape de couplage radicalaire s'effectue sous argon.

Les conditions de réaction pour chaque étape de la synthèse des poly(alcoxyamine amide)s ont été optimisées sur le support solide  $\text{R}_{\text{GW}}$ . Fort de ces connaissances, la synthèse de ce type de structure a ensuite été étudiée sur différents autres supports, à commencer par les supports solubles.

## 5. Synthèse de poly(alcoxyamine)amides sur différents supports solubles

Alors que la synthèse sur support solide s'est avérée pertinente pour une synthèse itérative facile d'oligomères à séquences contrôlées, certaines limites ont été rencontrées. En effet, les problèmes d'accessibilité aux sites réactifs attachés aux microbilles de résine induisent des réactions incomplètes lorsque la taille des chaînes devient trop longue. Or, différents types de supports peuvent être utilisés, comme cela a été décrit dans le **Chapitre I**. Cette partie est dédiée aux supports solubles. Dans le cas d'un support soluble, l'ajout des monomères s'effectue en solution et permet de s'affranchir des problèmes d'encombrement. Dans cette partie, différents types de supports solubles, présentés **Figure 28**, ont été étudiés. Dans un premier temps, l'utilisation d'une chaîne d'une poly(alcoxyamine)amide déjà clivée a été utilisée en tant que support à l'ajout de nouvelles unités. Dans un second temps, l'influence du taux de fonctions réactives sur des supports solubles à bases de polystyrène a été étudiée. Des polystyrènes synthétisés par ATRP fonctionnalisés en bout de chaîne  $S_0$ , mono- ou bi-fonctionnalisés latéralement  $S_1$  et  $S_2$ , ont supporté la synthèse d'oligo(alcoxyamine)amides.

Pour réaliser une synthèse sur support soluble, différentes conditions doivent être vérifiées. Il faut d'une part que le support soit soluble dans le solvant utilisé lors de l'ajout de monomères. D'autre part, le choix d'un bon non-solvant au support est nécessaire pour la purification, expliquée Figure 50. En effet, après chaque réaction, le milieu est concentré, puis le support est précipité par ajout goutte à goutte de celui-ci dans un non-solvant. Ainsi, le support portant la chaîne en croissance précipite et peut facilement être récupéré par filtration ou centrifugation, tandis que les excès de réactifs introduits dans le milieu restent en solution.

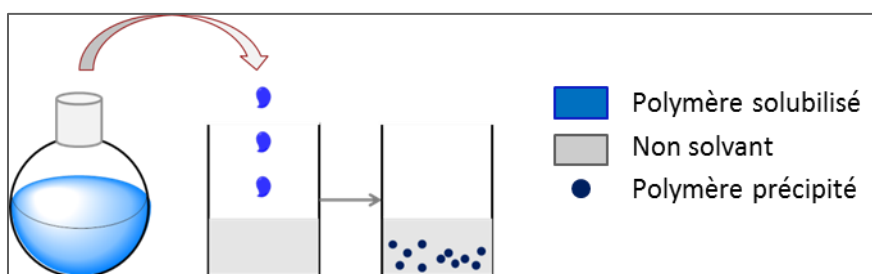


Figure 50 : Principe de purification par précipitation lors d'une synthèse sur support soluble.



## 5.1 Choix d'une longue chaîne de poly(alcoxyamine)amides en tant que support soluble

L'optimisation des conditions de synthèse des poly(alcoxyamine)amides sur résine a permis l'obtention de polymères contenant jusqu'à 8 unités codantes. Après clivage, ces longues chaînes ont facilement été précipitées dans du diéthyléther. En se basant sur ces observations, il est envisageable que l'oligomère puisse être son propre support à l'ajout de nouvelles unités. Dans un premier temps, des essais sur résine ont été effectués afin de trouver des conditions de synthèses appropriées pour le support soluble. Puis des essais d'ajout de monomères ont été effectués sur des poly(alcoxyamine amide)s de 7 et 8 unités codantes. Les conditions utilisées pour la synthèse de ces composés sont résumées Tableau 10.

Composé	Support	Solvant Couplage	Base Amidification	Chauffe Couplage	Séquence Visée
II-5-1	$R_{GW}$	THF	$K_2CO_3$	/	[111]
II-5-2	$R_{GW}$	DMSO	DIPEA	/	[111]
II-5-3	[1] <sub>7</sub>	THF	DIPEA	40°C – BT	[1] <sub>8</sub>
II-5-4	[1] <sub>7</sub>	THF	DIPEA	40°C – MO	[1] <sub>8</sub>
II-5-5	[1] <sub>8</sub>	THF	DIPEA	40°C – MO	[1] <sub>9</sub>

Tableau 10 : Conditions de synthèse des composés de cette partie.

Tout d'abord, des essais d'ajout de monomères sur la chaîne ont donc été réalisés en solution, avec les mêmes concentrations, réactifs, et quantités de produits engagés que lors de la synthèse sur support solide. Deux problèmes se sont alors manifestés : l'étape de couplage radicalaire s'effectue dans le DMSO anhydre, difficile à reconcentrer pour la précipitation, et l'ajout d'anhydride codant pour **1** s'effectue en présence de  $K_2CO_3$ , partiellement soluble dans le THF, et donc toujours solide lors de la précipitation. Afin d'y pallier, des tests ont été effectués sur résine. Le composé **II-5-1** codant pour [111] a été synthétisé en remplaçant le DMSO anhydre par du THF distillé, tandis que le composé **II-5-2** codant pour [111] a été synthétisé en remplaçant le  $K_2CO_3$  par de la DIPEA lors de l'ajout d'anhydride **1**. Ces deux composés ont été analysés par SEC Figure 51.

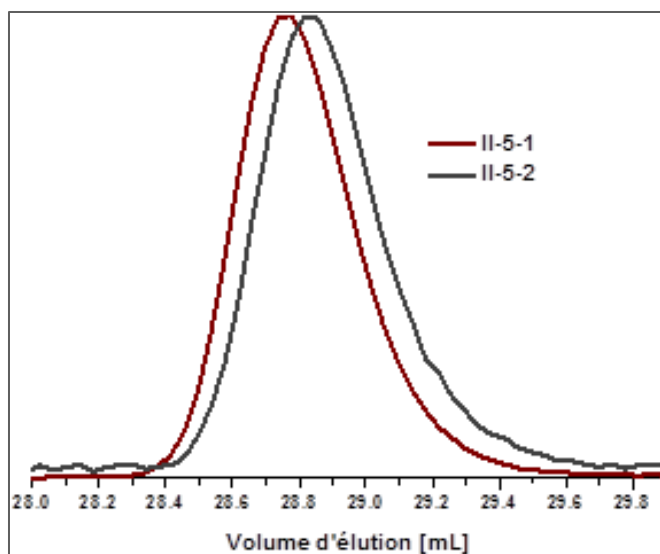


Figure 51 : Analyses SEC des composés II-5-1 et II-5-2 synthétisés sur support solide  $R_{GW}$ .

L'isomolécularité présentée par ces deux oligomères indiquent que les nouvelles conditions expérimentales sont adaptées à la synthèse itérative de poly(alcoxyamine amide)s. Elles ont donc été utilisées pour les synthèses sur support soluble. Les composés **II-5-3** et **II-5-4** ont été synthétisés à partir du polymère **[1]<sub>7</sub>**, en ajoutant un espaceur TEMPO-NH<sub>2</sub>, puis une unité codante **1**. Le couplage radicalaire s'effectue toujours en milieu inerte, dans un ballon à température ambiante pour le premier, au micro-onde à 40°C pour le second. Il est important de noter que le support présente une glycine en début de chaîne, et un brome en fin de chaîne. Grâce à ces différentes extrémités, le couplage radicalaire ne peut s'effectuer que sur le brome de fin de chaîne, afin d'allonger le code contenu par le polymère. Ces composés ont ensuite été analysés par SEC. Cependant, aucun pic correspondant à la présence d'un polymère **[1]<sub>8</sub>** n'était présent sur les chromatogrammes, et l'allure hautement polymodale des courbes témoignaient de la présence de nombreuses impuretés au sein de l'échantillon.

Un dernier essai a été effectué sur le support **[1]<sub>8</sub>** pour la synthèse d'un poly(alcoxyamine)amide codant pour **[1]<sub>9</sub>**. Le composé **II-5-5** formé a été analysé par SEC Figure 52. Bien que le support **[1]<sub>8</sub>** soit majoritairement présent, la formation de l'oligomère à 9 unités codantes est observée sur le chromatogramme du composé **II-5-5**. Il semble donc possible d'allonger une chaîne poly(alcoxyamine amide) par ajout des monomères directement en solution, mais avec des rendements très faibles.

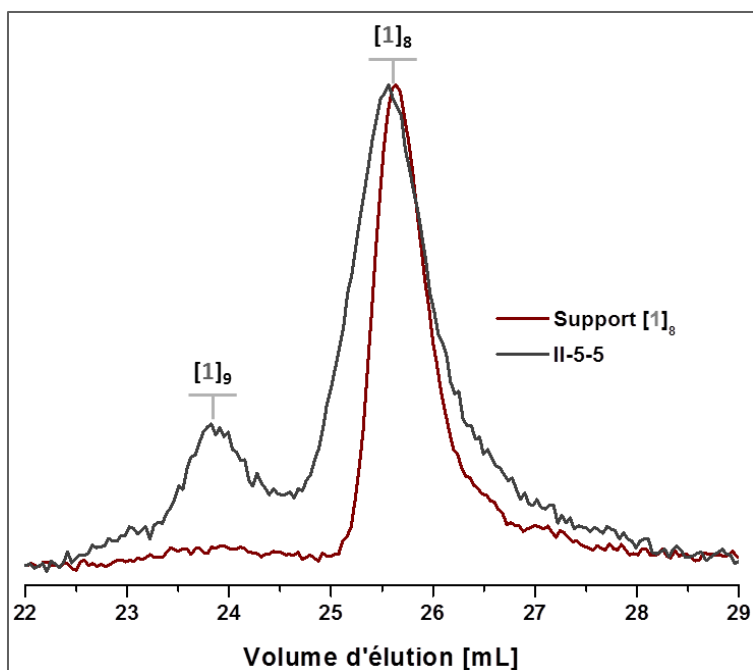


Figure 52 : Analyse SEC du support [1]<sub>8</sub> et du composé II-5-5 synthétisé à partir de ce dernier.

Lors de cette étude, les principaux problèmes ont été rencontrés lors de la purification après l'ajout de TEMPO-NH<sub>2</sub>. La stratégie envisagée était la précipitation du polymère dans le diéthyléther froid à la fin de chaque réaction. Mais les rendements de récupération du produit étaient faibles - inférieurs à 50% -, alors que la synthèse s'effectuait déjà sur de petites quantités - 15mg environ de support. De plus, la précipitation n'a pas permis une purification parfaite du produit. En effet, les couleurs bleutées observées sur le précipité après le couplage radicalaire indiquaient la présence de cuivre dans le milieu. Différentes techniques de purification ont été étudiées, telles que des jeux de solvant/non solvant, la filtration sur alumine, ou encore l'utilisation de Cuprisorb<sup>®</sup> pour éliminer le cuivre. Ce composé, qui se présente sous forme de billes de résine, est généralement vendu dans les animaleries, car il est destiné à éliminer le cuivre de l'eau des aquariums. Ce produit chélatant s'est avéré approprié à l'élimination du cuivre pour le traitement de réactions qui mettent en jeu ce dernier, telles que la CuAAC.<sup>[160, 161]</sup>

Les résultats montrent cependant des difficultés d'addition des comonomères et de pureté des produits finaux. En outre, le nombre d'essais menés a été limité par la quantité d'oligomères longs disponibles en tant que support. Les études sur ce type de support ont donc été abandonnées et des supports solubles plus classiques – et donc disponibles en plus grandes quantités - ont été étudiés par la suite.

## 5.2 Etude de la synthèse sur des supports solubles à différents taux de fonctionnalisation

Ces dernières années, notre équipe a démontré que la synthèse de supports solubles par ATRP (Atom Transfer Radical Polymerization) était appropriée pour la synthèse de polymères à séquences contrôlées<sup>[87, 104]</sup>. Les supports synthétisés sont des polystyrènes contenant une fonction réactive en fin de chaîne. Ce type de support s'est déjà révélé être un bon candidat pour la synthèse de diverses structures de polymères, naturels tels que les polypeptides,<sup>[90]</sup> ou non-naturels comme les oligo(triazole amide)s,<sup>[162]</sup> les oligo(phosphodiester)s,<sup>[163]</sup> ainsi que les oligo(alcoxyamine amide)s.<sup>[22]</sup>

Ces supports ne peuvent cependant contenir qu'un seul site réactif par chaîne, et le taux de fonctions réactives du support ne peut être ajusté qu'en modifiant la longueur de chaînes de ce dernier. C'est pourquoi un nouveau type de support est étudié dans ce projet, permettant un contrôle précis du taux de fonctions réactives du support. Ces nouveaux supports ont été préparés via une copolymérisation par ATRP de styrènes fonctionnalisés par des fonctions méthacrylates qui, après plusieurs étapes de modification post-polymérisation, ont permis l'apparition de sites réactifs sur les chaînes latérales du squelette. Dans cette partie, tous les supports solubles –  $S_0$ ,  $S_1$ , et  $S_2$  - ont été synthétisés par Laurence Oswald.

### 5.2.1 Essai de référence sur support soluble fonctionnalisé en bout de chaîne $S_0$

Une première synthèse de poly(alcoxyamine amide) sur un support soluble  $S_0$  contenant une fonction réactive en bout de chaîne a été effectuée. Elle a permis de servir de référence et d'entraînement à la synthèse sur support soluble. La synthèse de, et sur ce support représenté Figure 53 a déjà été reportée par l'équipe.<sup>[22]</sup>

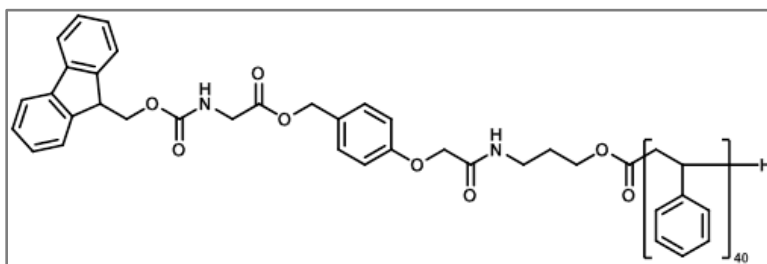


Figure 53 : Structure du support soluble  $S_0$  utilisé pour la synthèse du composé II-5-6.

Dans un premier temps, la fonction amine du support a été déprotégée en présence de pipéridine. Puis le composé II-5-6 codant pour [110] a été synthétisé comme suit. Les étapes d'ajout d'anhydride et de couplage radicalaire ont été réalisées avec les mêmes réactifs et dans les mêmes proportions que dans la section précédente (II-5-1). Chaque étape s'est déroulée dans 6mL de solution. Après chaque étape, le support a été précipité dans 60mL de méthanol froid, puis centrifugé et séché. A la fin de la synthèse, l'oligomère a été clivé de son support dans les conditions acides usuelles. Les

rendements de récupération du support ont été calculés après chaque réaction et répertoriés dans le Tableau 11.

Etape	0	1	2	3	4	5
$m_0$ (mg)	500	454	359	324	255	222
$m_{fth}$ (mg)	480	467	365	333	259	227
$m_{fexp}$ (mg)	454	359	324	260	222	183
r (%)	94,51	76,83	88,77	78,07	85,69	80,50

Tableau 11 : Rendement de précipitation après chaque étape. L'étape 0 correspond à la déprotection du groupement Fmoc. Le rendement global est de 36.6%.

Les rendements de précipitation après chaque étape sont en moyenne de 86.6% sur ce support. Ce bon rendement indique que le méthanol froid est un bon choix de non-solvant pour reprécipiter le support. Un suivi SEC a été effectué après les ajouts d'unités codantes Figure 54.

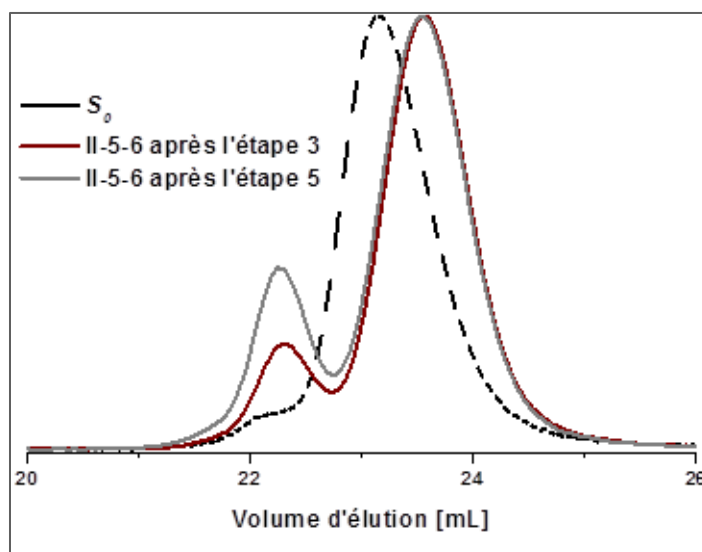


Figure 54 : Analyses SEC de la synthèse de l'oligomère II-5-6 codant pour [110] sur le support soluble  $S_1$ .

L'apparition d'épaulements à gauche du pic principal –donc vers les plus grandes masses- est un phénomène déjà rencontré par l'équipe lors de l'utilisation de tels supports, et peut s'expliquer par la présence de fonctions amines qui traineraient le long de la colonne et engendreraient des effets bimodaux sur le chromatogramme.<sup>[107]</sup> En aucun cas ils ne correspondent aux chaînes attendues qui auraient subi des additions incomplètes car ils correspondent à des masses trop élevées. Le pic principal indique quant à lui une isomolécularité des chaînes pendant la synthèse, et l'absence de pics aux plus petites masses traduit le caractère complet de chaque étape. Après clivage, le composé II-5-6 a été analysé par spectrométrie de masse Figure 55.

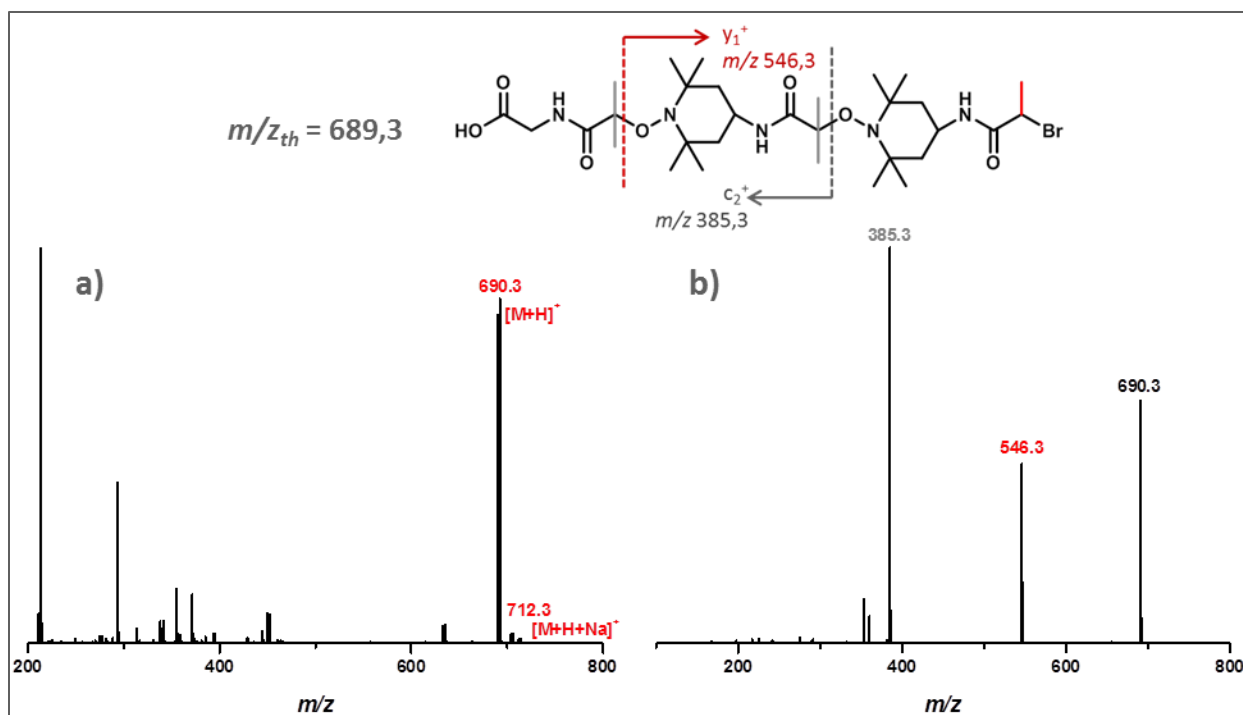


Figure 55 : a) Spectre ESI-HRMS du composé II-5-6. b) Spectre MS/MS de l'ion précurseur à 690.3 Da.

Le pic de l'oligomère est facilement identifiable sur le spectre ESI-HRMS, et permet une fois de plus un séquençage par MS/MS pour recouvrir le code incrémenté le long de la chaîne. Cette étude a permis de montrer que le synthèse et la lecture d'oligo(alcoxyamine)amides s'avère pertinente sur ce type de support. En outre, il serait intéressant d'étudier l'influence du taux de fonctionnalisation du support sur la synthèse. Or, il est impossible de le faire varier sur un support fonctionnalisé en bout de chaîne. C'est pourquoi de nouveaux essais ont été réalisés sur les supports fonctionnalisés latéralement  $S_1$  et  $S_2$ .

### 5.2.2 Etude sur les supports solubles fonctionnalisés latéralement $S_1$ et $S_2$

Les supports  $S_1$  et  $S_2$ , représentés Figure 56, ont été synthétisés par ATRP. Le contrôle de la quantité d'unités méthacrylates insérées dans le squelette polystyrène a permis de contrôler la quantité de chaînes latérales, et donc, après post-modifications, la quantité de fonctions réactives le long de la chaîne. Les supports solubles synthétisés comportent alors des « bouts » de chaînes latérales similaires à la résine Fmoc-Gly-Wang utilisée lors de la synthèse sur support solide. Dans cette étude, le nombre d'unités méthacrylates moyen par chaîne est de 1 pour le support  $S_1$ , ou 2 pour le support  $S_2$ . Il correspond au taux de fonctionnalisation du support pour une masse moyenne d'environ  $6500 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ .

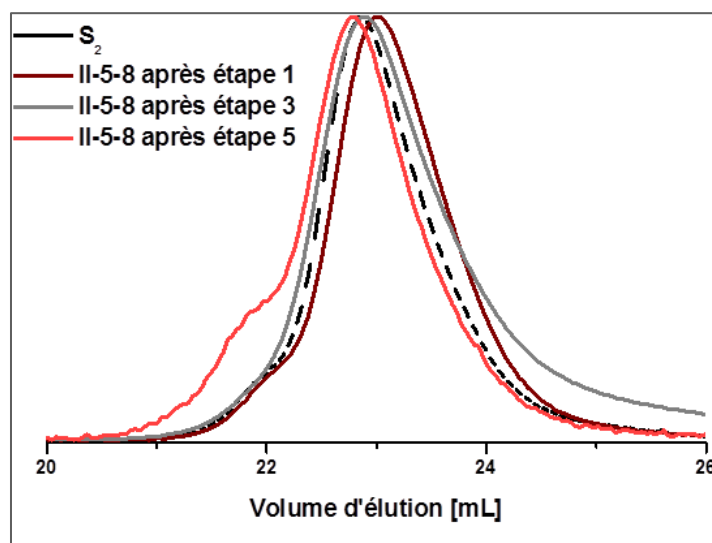


filtration sur Büchner. Après l'étape 4, la quantité de support récupéré par précipitation était trop faible pour pouvoir poursuivre la synthèse.

Un nouvel essai a donc été réalisé et le composé **II-5-8** a été synthétisé à partir de 279 mg de support. Après chaque précipitation, le support a cette fois été récupéré par centrifugation. Les rendements de précipitation sont consignés Tableau 13. Un suivi a également été effectué par SEC après chaque étape d'amidification Figure 57.

Etape	0	1	2	3	4	5
$m_0$ (mg)	279	240	239	200	58	34
$m_{fth}$ (mg)	260	251	246	209	59,5	35
$m_{fexp}$ (mg)	249	246	220	58	34	21
$r$ (%)	<b>95,7</b>	<b>97,8</b>	<b>89,5</b>	<b>27,8</b>	<b>57,1</b>	<b>60,0</b>

**Tableau 13 : Rendement de précipitation après chaque étape de synthèse du composé II-5-8. Le rendement global est de 7,9%.**



**Figure 57 : Suivi SEC de la synthèse du composé II-5-8 sur le support soluble S<sub>2</sub> après chaque ajout d'anhydride.**

Il est constaté qu'à partir de l'étape 3, les rendements de précipitation diminuent fortement, pour un rendement global de seulement 7.9% au final. En outre, le suivi SEC de la réaction montre des chaînes peu polymoléculaires, le support ayant déjà un indice de polydispersité de 1.15 lui-même. Une fois de plus, l'allure relativement monomodale des courbes obtenues indique le caractère complet de chaque étape. Le clivage a ensuite été effectué sur seulement 60mg de support, et la faible quantité de composé **II-5-8** récupéré a rendu difficile la purification d'une part, et n'a pas permis d'analyse SEC d'autre part. Le composé **II-5-8** a cependant été analysé par spectrométrie de masse **Figure 58**. Le composé analysé n'est pas pur. Cependant, le pic correspondant au composé protoné est facilement identifiable et l'oligomère a pu être séquencé par spectrométrie de masse tandem.



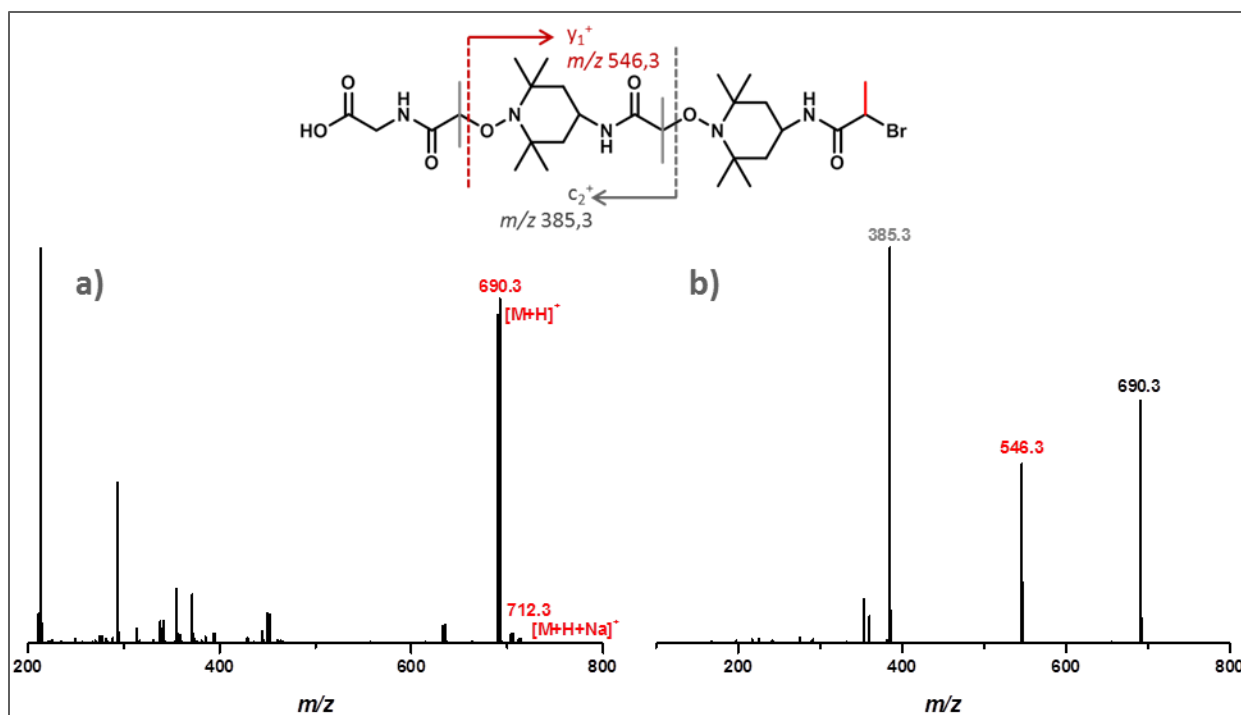


Figure 58 : a) Spectre ESI-HRMS du composé II-5-8. Les pics correspondant au composé protoné et avec un adduit de sodium sont identifiés. b) Spectre MS/MS de l'ion précurseur à 690.3 Da.

Afin de pouvoir effectuer les analyses désirées et dans le but d'optimiser les conditions de précipitation, la synthèse de composé II-5-9 a été effectuée sur 500 mg de support. Chaque étape s'est déroulée dans 6mL de solvant comme précédemment, et la concentration des réactifs a donc été doublée. Par ailleurs, le méthanol a été remplacé par du pentane froid, dans le but de pallier aux faibles rendements de précipitation observés au préalable à partir de l'étape 3. En effet, bien que le support  $S_2$  soit insoluble dans le méthanol, il est envisagé qu'après plusieurs étapes, la longueur des chaînes oligo(alcoxyamine amide)s augmentant, ces dernières influencent la solubilité du support.

Les rendements de précipitation après chaque étape ont été rapportés Tableau 14, et un suivi SEC a été réalisé après chaque ajout d'anhydride Figure 59.

Etape	0	1	2	3	4	5
$m_0$ (mg)	500	455	371,5	369	129	140
$m_{fth}$ (mg)	466	477	382	386	132	144
$m_{fexp}$ (mg)	455	380	369	133	140	71
r (%)	97,6	79,7	96,6	34,5	105,7	49,4

Tableau 14 : Rendement de précipitation après chaque étape de synthèse du composé II-5-9. Le rendement global est de 13%.

Bien qu'une diminution drastique du taux de précipitation soit toujours observée après l'étape 3, les rendements de précipitation sont en moyenne plus élevés dans le pentane que dans le méthanol – 13% contre 7%. On remarque par ailleurs que le rendement de précipitation après l'étape 4 est supérieur à 100%, indiquant que le support n'est pas le seul à précipiter, et mettant alors en lumière des problèmes de purification.

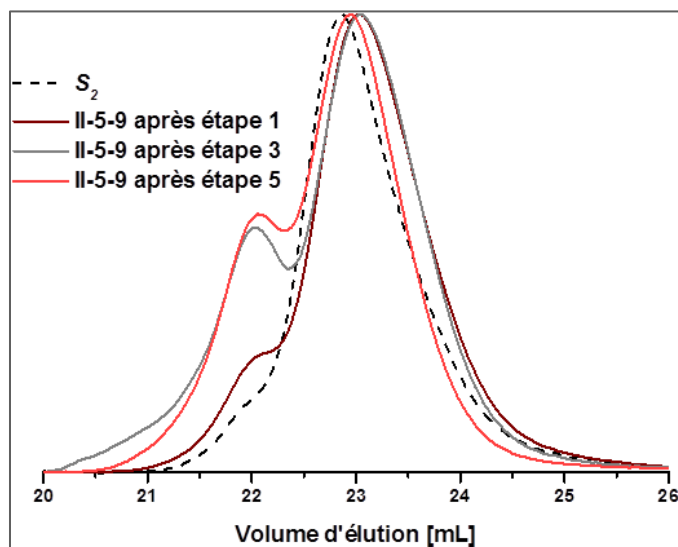


Figure 59 : Suivi SEC de la synthèse du composé II-5-9 sur le support soluble  $S_2$  après chaque ajout d'anhydride.

Des épaulements marqués apparaissent au cours de la synthèse. Cette polymolécularité s'observe alors que la synthèse a été effectuée dans un milieu deux fois plus concentré que pour les essais précédents. L'hypothèse avancée est donc que la concentration a une influence sur ce type de synthèse. Il est en effet possible que si la concentration est trop élevée, des réactions interchaînes aient lieu, créant des ponts inter ou intramoléculaires, et donc changeant la dispersité de l'échantillon. C'est pourquoi une nouvelle synthèse a été réalisée sur le support monofonctionnelisé  $S_1$ . En effet, diviser de moitié le taux de fonctions réactives sur le support devrait permettre de diminuer les possibilités de réaction interchaînes si l'hypothèse est vérifiée.

#### 5.2.4 Ajustement du taux de fonctions réactives du support : synthèse sur support soluble monofonctionnelisé latéralement $S_1$

Le composé II-5-10 a été synthétisé sur 250 mg de support soluble monofonctionnelisé  $S_1$  de masse moléculaire moyenne de  $6000 \text{ g/mol}^{-1}$ . La synthèse a été suivie par analyses SEC après chaque étape d'amidification Figure 60, et les rendements de précipitation sont détaillés Tableau 15.

Etape	0	1	2	3	4	5
$m_0$ (mg)	250	226	233	192	71	43
$m_{fth}$ (mg)	233	237	219	201	73	44
$m_{fexp}$ (mg)	230	219	201	78	50	34
r (%)	98,64	92,43	91,76	38,88	68,61	77,09

Tableau 15 : Rendement de précipitation après chaque étape de synthèse du composé II-5-10. Le rendement global est de 9.3%.

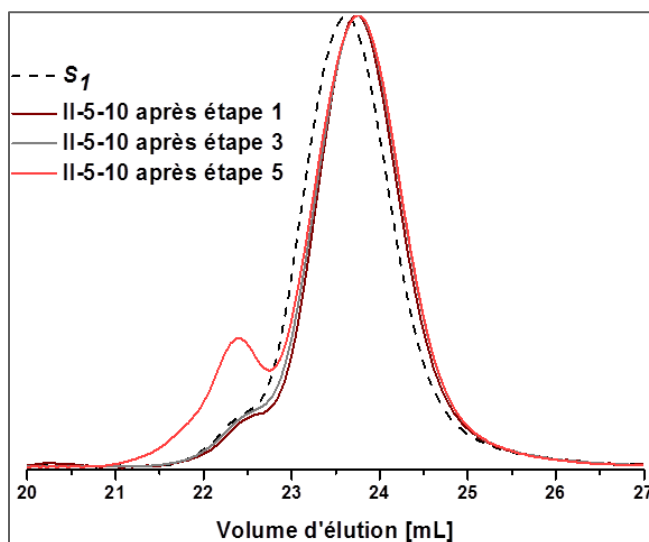


Figure 60 : Suivi SEC de la synthèse du composé II-5-10 sur le support soluble monofonctionnalisé  $S_1$  après chaque ajout d'anhydride.

Le rendement global des précipitations de ce support est cette fois-ci de 9.3%, en cohérence avec ceux observés pour le support  $S_2$ . On remarque une fois de plus un rendement de seulement 38,9% après l'étape 3. Par ailleurs, le suivi SEC permet de révéler des courbes relativement monomodales témoignant du caractère complet de chaque étape. Un léger épaulement apparaît seulement après la dernière étape. On peut donc supposer que diminuer le taux de fonctionnalisation du support a bien permis d'éviter un trop grande nombres de réactions inter-chaînes lors de la synthèse des oligo(alcoxyamine amide)s.

Par ailleurs, bien qu'insuffisante pour effectuer une analyse SEC, la quantité de II-5-10 obtenue après clivage de son support a permis une analyse par spectrométrie de masse Figure 61. Le spectre indique que la structure attendue a bien été obtenue et témoigne de la pureté du composé.

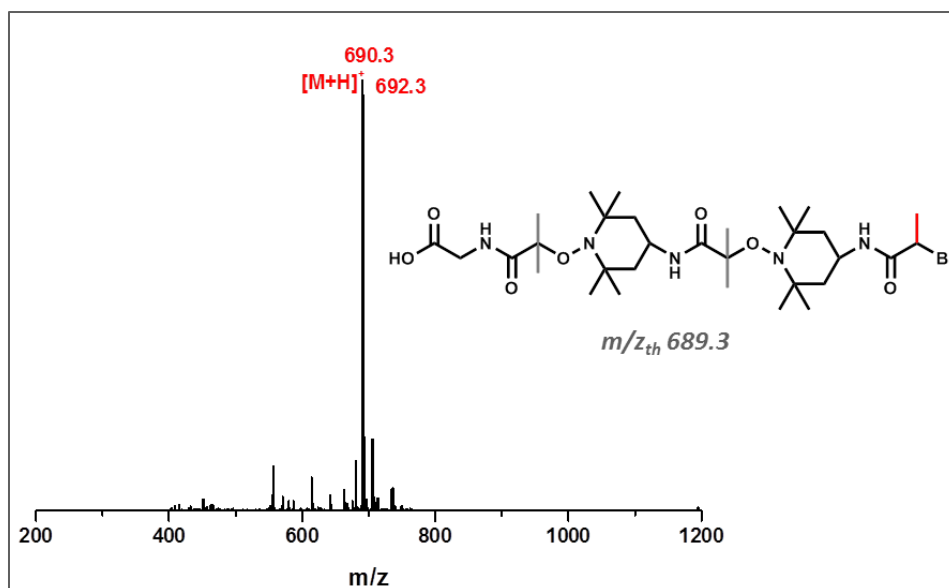


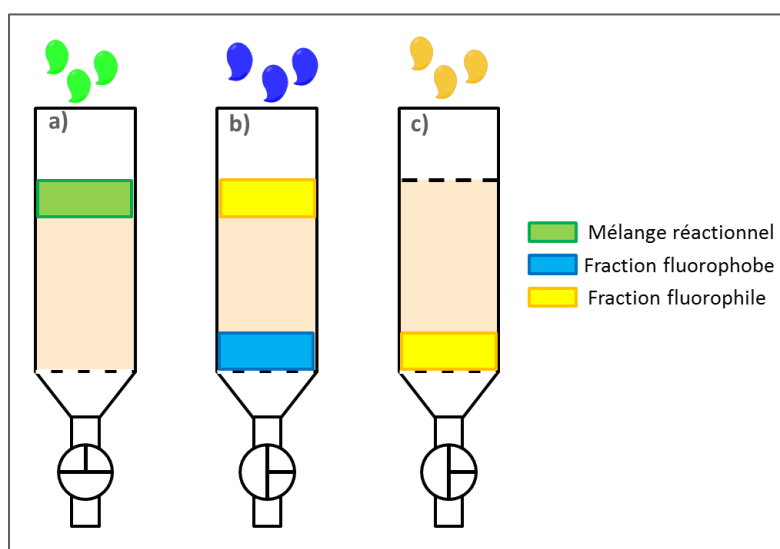
Figure 61 : Spectre ESI-HRMS du composé II-5-10.

Il a été donc démontré que la synthèse d'oligo(alcoxyamine amide)s est possible sur un support soluble synthétisé par ATRP. Un tel type de support, dont le taux de fonctionnalisation peut être contrôlé par la quantité de chaînes latérales insérées sur le squelette, s'est avéré intéressant pour la synthèse de ce type de polymère, sensible à la concentration de fonctions réactives. Il a en outre été observé des problèmes de précipitation après une certaine longueur de chaîne, certainement inhérents à la structure même des oligo(alcoxyamine amide)s. Ce support est en effet approprié à la synthèse d'autres structures telles que les phosphoramidites.

## 6. Synthèse de poly(alcoxyamine)amides sur support fluoré

Comme décrit dans le **Chapitre I**, un autre type de support peut être utilisé pour la synthèse itérative de polymères à séquences contrôlées : le support fluoré. Alabi a décrit cette approche pour des ajouts itératifs d'acrylamides d'allie N-substitués et de dithiols.<sup>[114]</sup> Elle a également été envisagée pour la synthèse de poly(alcoxyamine amide)s dans cette partie. En effet, la synthèse itérative sur support solide a déjà démontré ses avantages et inconvénients. En outre, les synthèses sur supports solubles développées dans la partie précédente présentent elles-mêmes des désavantages, notamment lors de la précipitation du support après chaque ajout.

La synthèse sur support fluoré, quant à elle, combine à la fois les avantages de la synthèse en solution et de celle sur support solide. Le support utilisé est une chaîne perfluorée, contenant une unité clivable pour la fin de la synthèse, et possédant un site réactif en fin de chaîne. Ce support est soluble dans les solvants organiques usuels.<sup>[164]</sup> Dans un premier temps, la réaction d'ajout du monomère s'effectue en solution et cette étape présente donc tous les avantages d'un ajout en solution – facilité d'approche des sites, temps de réaction courts. Avoir un support soluble dans les solvants organiques permet également un suivi des réactions à la fin de chaque étape, par RMN notamment. A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est purifié sur colonne de silice perfluorée – voir Figure 62. Il est introduit sur la colonne, puis un premier lavage avec un éluant fluorophobe – méthanol/eau généralement- est effectué. Tous les réactifs en excès sont alors entraînés sur la colonne et éliminés. Un second lavage avec un éluant fluorophile – le THF par exemple - permet ensuite de recouvrer la chaîne fluorée ayant supporté l'ajout de monomère. Ces étapes de synthèse et de lavage sont répétées autant de fois que désiré avant de cliver l'oligomère du support fluoré.



**Figure 62 : Principe de la filtration sur silice fluorée a) Mélange des composés fluorés et non fluorés sur la silice. b) Elution de la fraction organique par un solvant fluorophobe. c) Elution de la fraction fluorée par un solvant fluorophile.**

Dans cette partie, les expériences ont été réalisées avec l'aide de la stagiaire que j'ai encadrée Héloïse Kientz. Dans un premier temps, une étude a été menée sur la synthèse du support fluoré. Puis 2 oligomères codant pour [1010] et [10001] ont été synthétisés et analysés sur le support optimisé.

## 6.1 Synthèse du support fluoré

La chaîne qui servira de support pour la synthèse de poly(alcoxyamine)amides en solution doit remplir les critères suivant : débuter par une chaîne perfluorée, posséder une unité clivable en conditions acides ou basiques, et posséder une fonction en fin de chaîne capable de réagir afin d'initier la croissance des chaînes d'oligomères. Des supports solubles à base de polystyrène et possédant une unité clivable ont déjà été développés dans l'équipe, comme cela a été vu en II-5-2.<sup>[90]</sup> Le choix de synthèse du support fluoré s'est donc porté vers une approche similaire adaptée à une chaîne perfluorée. Deux voies de synthèse, expliquées Figure 63, ont été explorées dans cette partie.

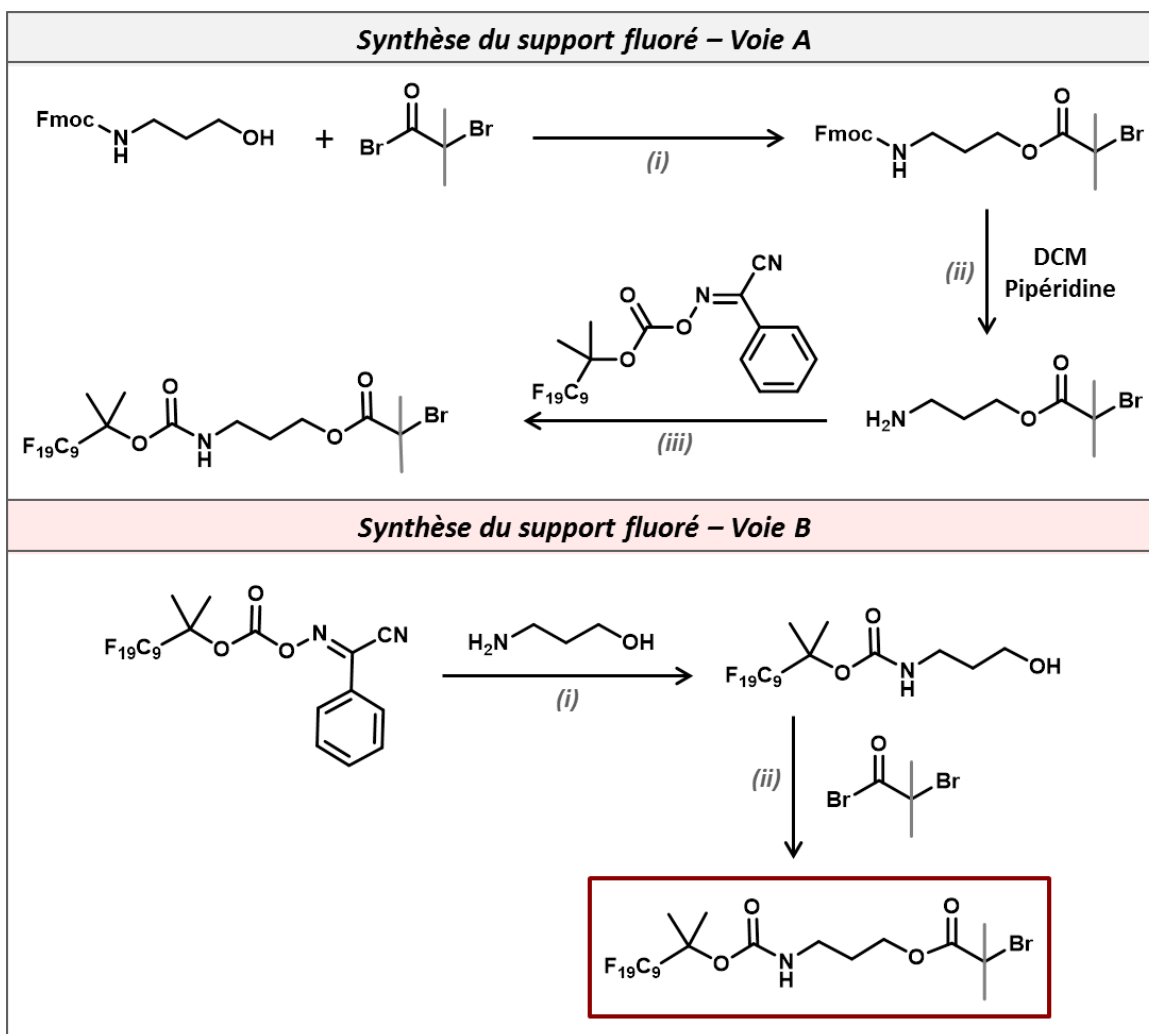


Figure 63 : 2 voies explorées pour la synthèse du support fluoré. Voie A : (i) DMAP, Et<sub>3</sub>N, THF anhydre, 22 h. (ii) DCM, pipéridin, 2 h. (iii) Et<sub>3</sub>N, THF anhydre, 2h. Voie B : (i) Et<sub>3</sub>N, THF, 2h. (ii) DMAP, Et<sub>3</sub>N, THF anhydre, 22 h.

### 6.1.1 Synthèse du support fluoré voie A

La synthèse du support s'effectue en 3 étapes : (i) une estérification se tient entre le bromure de bromoisobutyryle et le 3-(Fmoc-amino-1-propanol) dans le THF, en présence de DMAP et de triéthylamine, (ii) l'amine est déprotégée dans un mélange DCM/pipérine (50/50), puis (iii) la structure portant la première unité codante est attachée au support fluoré par addition d'un alcool sur un bromure d'acyle.

La première étape (i) s'est tenue pendant 22 heures pour former le composé **II-6-1** : un Fmoc-3-aminopropyle 2-bromo-2-méthylpropanoate. Il a ensuite été purifié sur silice et analysé par RMN  $^1\text{H}$  **Figure 64**. L'amine a ensuite été déprotégée de son groupement Fmoc avec de la pipéridine dans le dichlorométhane (ii), pour former le composé **II-6-2** : 3-aminopropyle 2-bromo-2-méthylpropanoate. Ce dernier a été analysé par RMN  $^1\text{H}$  **Figure 65**.

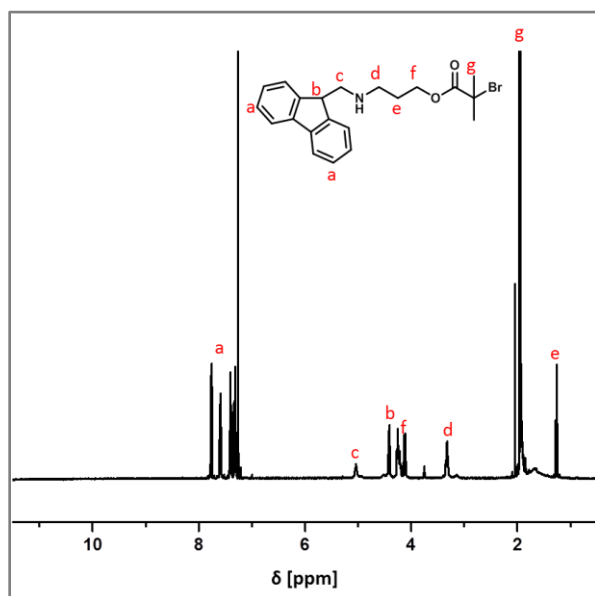


Figure 64 : RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) du composé **II-6-1**.

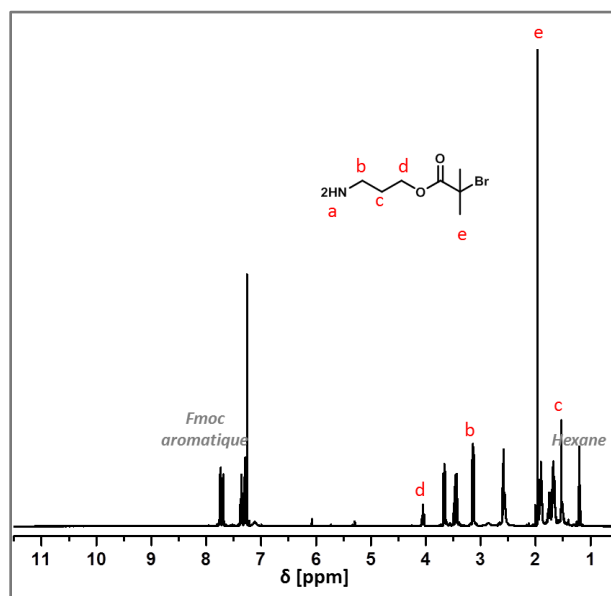


Figure 65 : RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) du composé **II-6-2**.

Il est difficile d'identifier tous les pics du spectre **Figure 65**. La présence de pics correspondant au groupement protecteur Fmoc indique que la déprotection n'a pas été complète. En outre, le produit attendu n'est pas le seul à s'être formé. Il est possible qu'une polymérisation se soit amorcée entre les fonctions amine et brome des bouts de chaîne du produit formé, formant tout au moins des dimères. C'est pourquoi une autre stratégie a été envisagée pour synthétiser ce support. Puisque la technique à utiliser pour synthétiser les oligo(alcoxyamine)amides est la filtration des chaînes perfluorées sur silice perfluorée, cette purification rapide et facile peut être utilisée dès la première étape de synthèse du support. La nouvelle stratégie est donc de partir de la chaîne fluorée, et d'y attacher en premier lieu le 3-amino-1-propanol.

### 6.1.2 Synthèse du support fluoré voie B

La synthèse du support par cette nouvelle voie s'est effectuée en 2 étapes, décrites Figure 63. L'étape (i) a permis l'ajout du 3-amino-propanol sur la chaîne perfluorée, en présence de triéthylamine pendant 2 heures dans le THF, pour former le composé **II-6-3**. L'amine primaire étant plus réactive que l'alcool, on s'attend à ce qu'elle réagisse en priorité avec la chaîne fluorée. Le milieu réactionnel a ensuite été reconcentré, dissout dans un minimum de THF, puis le composé **II-6-3** a été purifié sur colonne fluorée. Afin de vérifier la qualité de la séparation en sortie de colonne fluorée, les deux fractions fluorophile et fluorophobe ont été analysées par RMN du fluor  $^{19}\text{F}$  Figure 66.

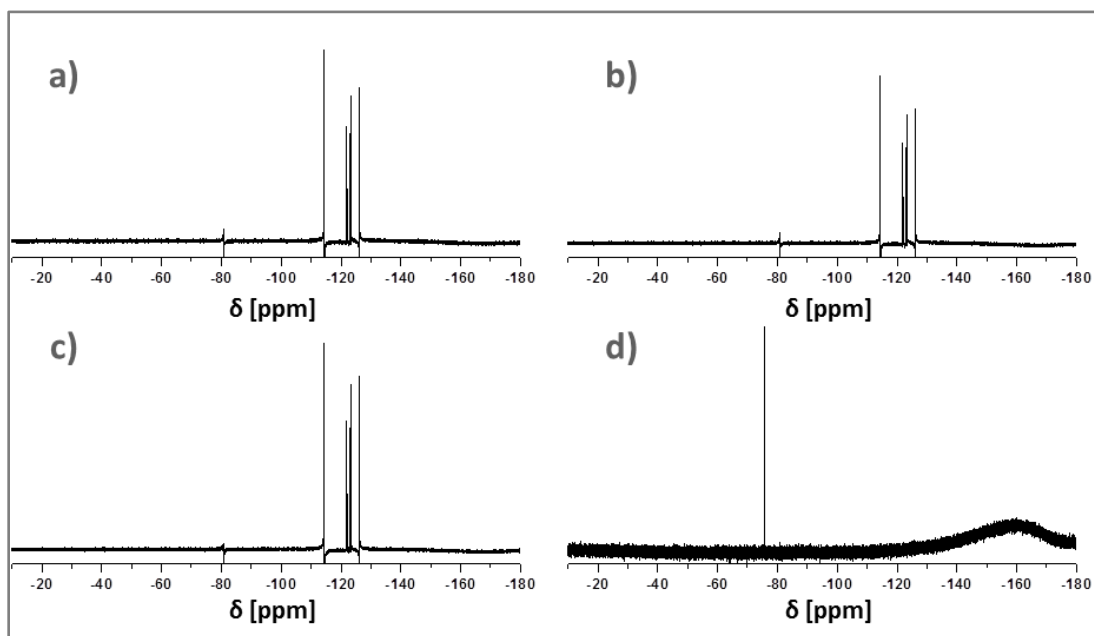


Figure 66 :  $^{19}\text{F}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ ) a) Chaîne fluorée avant réaction b) Fraction fluorée après élution fluorophile c) Fraction non fluorée après première élution fluorophobe d) Fraction non fluorée après troisième élution fluorophobe.

On peut observer qu'après optimisation des conditions de séparation, les deux fractions ont bien été séparées. Les conditions d'élution optimisées sont les suivantes : mélange MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$  (30/70) pour la première élution fluorophobe, puis élution au THF pour récupérer la fraction fluorophile. Le composé **II-6-3** a ensuite été séché puis analysé par RMN  $^1\text{H}$  Figure 67. Le spectre confirme bien la structure attendu. Le composé a été obtenu avec un rendement de 54%.



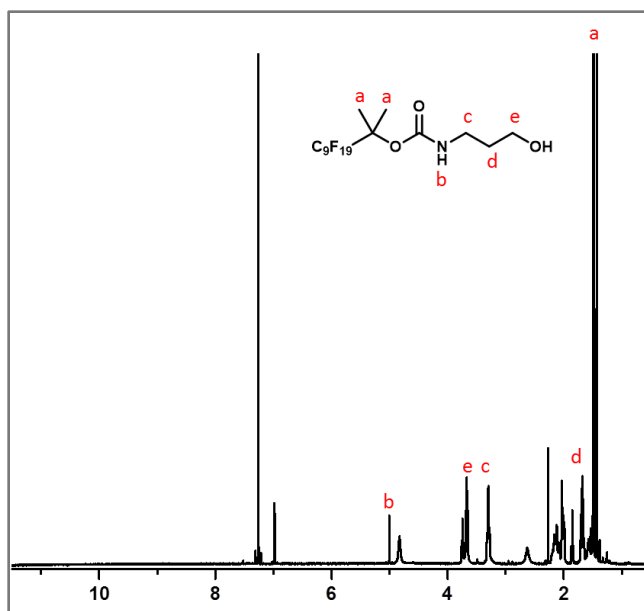


Figure 67 : RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) du composé II-6-3.

Lors de l'étape (ii), une première unité codante **1** a été attachée sur la chaîne perfluorée **II-6-3** grâce à l'estérification du bromure de 2-bromoisobutyryl sur l'alcool en bout de chaîne. Cette réaction a été effectuée dans le THF anhydre, en présence de DMAP et de triéthylamine, pour obtenir le composé **II-6-4**, support fluoré désiré. Après réaction, le mélange a été filtré – le bromure de triéthylammonium formé lors de la réaction précipite dans le THF - puis le filtrat a été reconcentré. Le composé **II-6-4** a alors été purifié sur colonne perfluorée. Comme précédemment, les fractions éluées ont été analysées par RMN  $^{19}\text{F}$  pour vérifier la bonne séparation. Le composé **II-6-4** obtenu avec un rendement de 66% a ensuite été analysé par RMN  $^1\text{H}$  **Figure 68**, attestant de la structure recherchée.

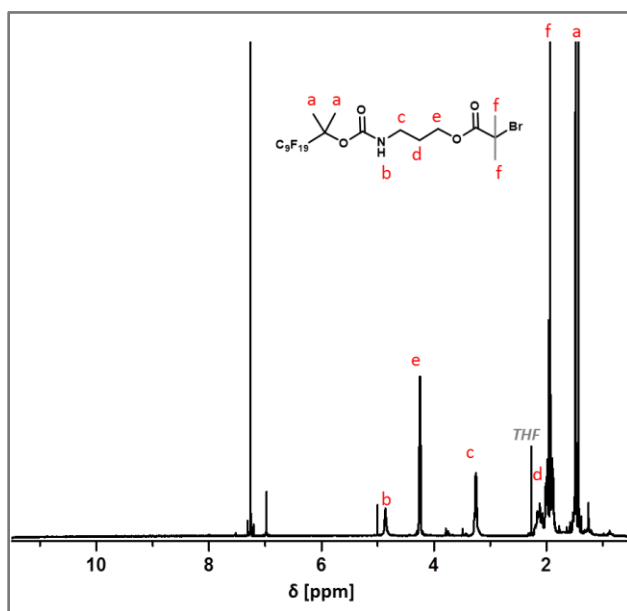


Figure 68: RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) du composé II-6-4.

## 6.2 Synthèse des oligo(alcoxyamine amide)s sur support fluoré

La chaîne fluorée contenant une première unité codante bromée en bout de chaîne, elle peut alors être le support des deux étapes classiques de synthèse de poly(alcoxyamine amide)s, que sont le couplage radicalaire permettant l'ajout de l'espaceur TEMPO-NH<sub>2</sub>, et l'ajout d'anhydride permettant l'encodage. Dans cette partie, deux types de clivage, acide et basique, ont été étudiés. Les structures obtenues selon les conditions de clivage sont décrites Figure 69.

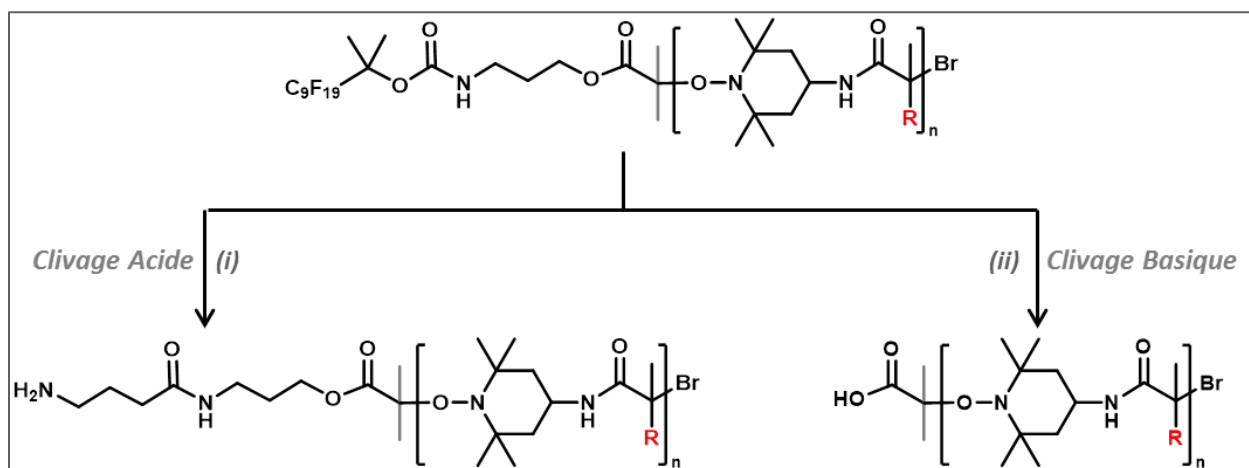


Figure 69 : Schéma réactionnel pour la synthèse de poly(alcoxyamine)amides sur support fluoré. (i) Couplage radicalaire en présence de CuBr/Me<sub>6</sub>TREN dans le DMSO (ii) Amidification dans le THF en présence de base (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> pour l'anhydride 1 et DIPEA pour le 0) (iii) Clivage en conditions acides DCM/TFA (50/50) (iv) Clivage en conditions basiques CH<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>/NH<sub>3</sub> dans le THF.

Lors d'une synthèse sur support fluoré, le produit est purifié sur colonne perfluorée après chaque étape. Pour ce faire, il est important d'avoir au préalable concentré le milieu pour ensuite le dissoudre dans un éluant adapté. C'est pourquoi les étapes de couplage radicalaire ont été réalisées dans le THF anhydre plutôt que dans le DMSO, moins volatile. Après chaque réaction, il faut bien évaporer le THF car c'est un solvant fluorophile. Or l'éluion fluorophobe s'effectue avant la fluorophile. Après concentration, chaque milieu réactionnel est donc redissout dans un mélange méthanol/eau avant d'être introduit sur la colonne de séparation.

Deux séquences ont été synthétisées sur ce support : le composé II-6-5 codant pour [1010] ainsi que le composé II-6-6 codant pour [10001]. Après chaque ajout, la séparation sur colonne a été vérifiée par RMN <sup>19</sup>F puis le composé a été analysé par RMN <sup>1</sup>H. L'ajout de l'unité codante ou bien celui de l'espaceur sont identifiables, comme montré en exemple Figure 70 pour le composé II-6-5.

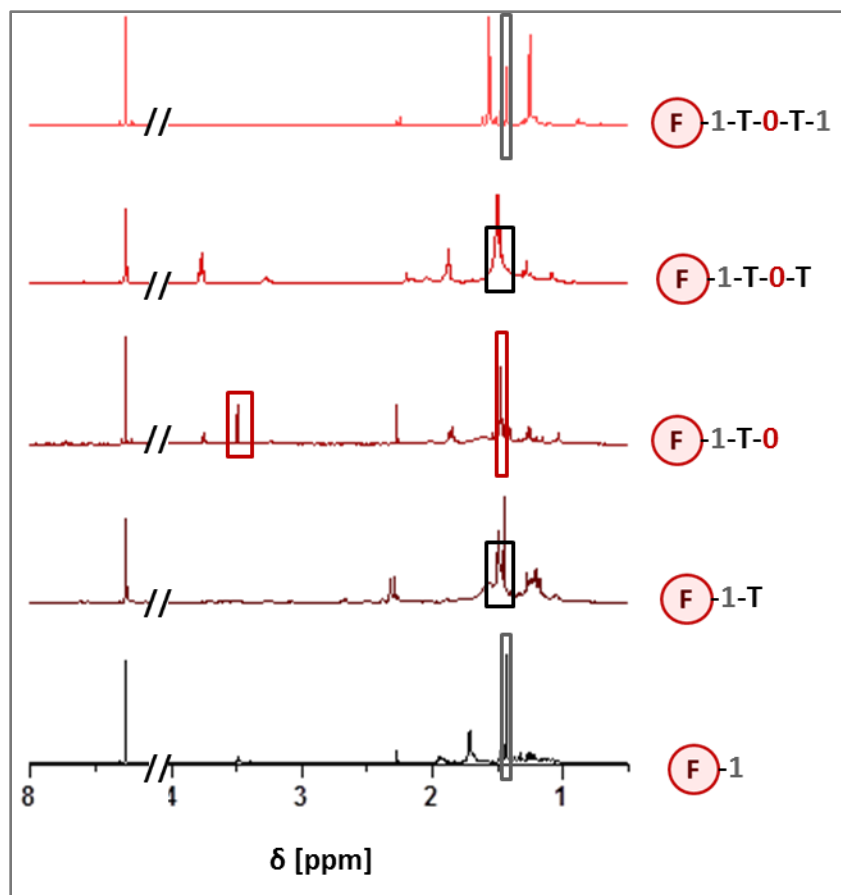


Figure 70 : RMN  $^1\text{H}$  après l'ajout des différentes unités. Entouré en gris, le pic caractéristique de l'unité codant pour 1 à 1.88 ppm. Entouré en rouge, les pics caractéristiques de l'unité codant pour 0 à 3.94 et 1.43 ppm. En noir, le pic caractéristique de l'ajout du TEMPO-amine. Ce pic est moins bien défini car au milieu d'autres, un épaulement est néanmoins visible après l'ajout de l'espaceur.

A la fin de la synthèse, le composé **II-6-5** codant pour **[1010]** a été clivé en milieu acide, dans les conditions habituellement utilisées lors de la synthèse sur support solide. Cette attaque acide déprotège l'amine de son groupement BOC en forme un oligomère comportant une amine primaire en bout de chaîne. La structure attendue du composé **II-6-5** est dessinée Figure 71.

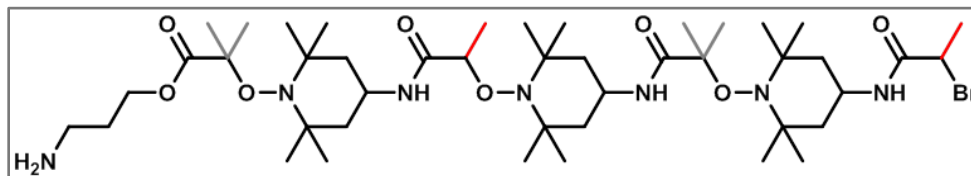


Figure 71 : Composé **II-6-5** codant pour **[1010]** obtenu après clivage en conditions acides.

Après le clivage, des problèmes de purification par précipitation dans le diéthyléther ont été rencontrés. Ce comportement peut être dû à un début de chaîne  $\alpha$  différant des synthèses sur résine  $\text{R}_{\text{GW}}$ , ainsi qu'à une taille trop petite de chaîne. En outre, cette amine primaire en fin de chaîne empêche toute analyse par SEC dont les colonnes ne supportent pas les interactions avec les amines. C'est pourquoi un second oligomère plus long, le composé **II-6-6** codant pour **[10001]**, a été synthétisé sur ce

support fluoré. Par ailleurs, à la fin de la synthèse, il a été clivé en conditions basiques afin d'obtenir un acide carboxylique en début de chaîne  $\alpha$  – voir Figure 72. Le clivage a été effectué dans le THF en présence de méthylamine et d'ammoniaque. Après une heure de réaction, le milieu a été concentré et le composé a été précipité dans de l'éther froid.

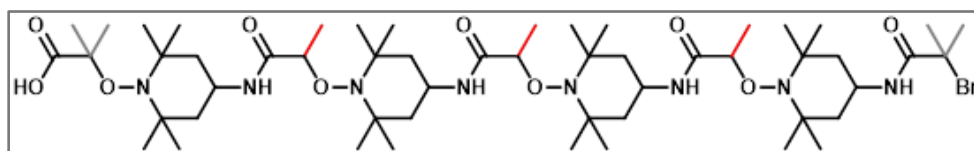


Figure 72 : Composé II-6-6 codant pour [10001] obtenu après clivage en conditions basiques.

Les rendements de récupération des produits II-6-5 et II-6-6 après filtration sur colonne perfluorée ont été calculés et synthétisés dans les tableaux ci-dessous.

Etape de synthèse	$n_0$ (mmol)	$m_f$ (g)	$n_f$ (mmol)	Rendement (%)
<b>1-T</b>	0,140	0,0802	0,0922	65,9
<b>1-T-O</b>	0,0923	0,0818	0,0803	87,0
<b>1-T-O-T</b>	0,0779	0,0510	0,0465	59,8
<b>1-T-O-T-1</b>	0,0459	0,0560	0,0450	97,9
<b>1-T-O-T-1-T</b>	0,0450	0,0399	0,0299	66,4
<b>1-T-O-T-1-T-O</b>	0,0299	0,0188	0,0128	42,8

Tableau 16 : Rendements après filtration sur silice fluorée pour la synthèse du composé II-6-5 codant pour [1000].

Etape de synthèse	$n_0$ (mmol)	m final (g)	$n_f$ (mmol)	Rendement (%)
<b>1-T</b>	0,119	0,0431	0,0496	41,8
<b>1-T-O</b>	0,0452	0,0411	0,0404	89,3
<b>1-T-O-T</b>	0,0404	0,0299	0,0273	67,6
<b>1-T-O-T-O</b>	0,0273	0,0284	0,0231	84,5
<b>1-T-O-T-O-T</b>	0,0231	0,0248	0,0188	81,3
<b>1-T-O-T-O-T-O</b>	0,0188	0,0214	0,0147	78,3
<b>1-T-O-T-O-T-O-T</b>	0,0147	0,0091	0,0059	40,0
<b>1-T-O-T-O-T-O-T-1</b>	0,00588	0,0101	0,0059	100,0

Tableau 17 : Rendements après filtration sur silice fluorée pour la synthèse du composé II-6-6 codant pour [10001]

Le rendement global après 6 ajouts de monomères sur le support fluoré pour l'oligomère [1000] est de 9,1% tandis que celui après 7 ajouts pour l'oligomère [10001] est de 5,0%. Ces rendements sont très faibles et proviennent majoritairement des étapes de couplage radicalaire. En effet, les rendements après ajout d'anhydride sont en moyenne de 83,0% alors que ceux suivant l'ajout de TEMPO-NH<sub>2</sub> sont d'en moyenne 60,4%. L'hypothèse envisagée est que l'amine présente en bout de chaîne après le

couplage radicalaire interagit trop fortement avec la colonne, et certaines chaînes y restent accrochées. Cette hypothèse tend à se valider par les observations expérimentales. En effet, lors des lavages après l'addition du TEMPO-NH<sub>2</sub>, l'élution de la partie fluorophile – facilement identifiable car jaune en solution - s'effectue avec du THF. Alors que l'élution semble terminée après avoir élué plusieurs fractions incolores, si la colonne est laissée au repos pendant plusieurs dizaines de minutes, une nouvelle élution au THF permettra de récolter une nouvelle petite fraction jaune, contenant des chaînes fluorées. Cette observation semble indiquer des effets de rétention des chaînes le long de la colonne.

Les oligomères [1000] et [10001] ont par la suite été analysés par RMN <sup>1</sup>H et spectrométrie de masse. L'interprétation des spectres RMN ne semblait pas correspondre à la structure attendue, tandis qu'aucun des pics attendus en ESI-HRMS n'était visible sur les spectres des deux oligomères. La synthèse des oligo(alcoxyamine amide)s sur support fluoré n'a donc pas été concluante. Malgré un suivi par RMN qui semblait attester de l'attachement des monomères après chaque étape, les analyses par spectrométrie de masse n'ont pas permis de conclure à la synthèse des oligo(alcoxyamine amide)s sur ce support fluoré. En outre, le principal problème rencontré lors de cette étude était le faible de taux d'oligomères récupérés lors des filtrations sur colonne après l'ajout de TEMPO-NH<sub>2</sub>. Ces rendements sont certainement expliqués par des interactions des amines de bout de chaîne avec la colonne de silice perfluorée.

Le support fluoré n'est donc pas un bon candidat pour la synthèse de poly(alcoxyamine amide)s. Il pourrait cependant être envisagé d'utiliser ce support, dans le cadre de la synthèse itérative de polymères à séquences contrôlées n'impliquant pas la formation de fonctions amines en bout de chaîne lors d'une des étapes.

## 7. Conclusion

Dans ce chapitre, il a été démontré que la synthèse itérative de poly(alcoxyamine amide)s permettait la synthèse de polymères à séquences contrôlées, isomoléculaires, capables de contenir de l'information digitale, cette dernière pouvant être décodée par spectrométrie de masse tandem.

Après optimisation des conditions, la synthèse de ces oligomères a été étudiée sur différents supports. Le support fluoré ne semble pas approprié à la synthèse de ce type de structures. Quant au support soluble, il permet d'obtenir des oligomères encodés et décodables, à condition de choisir un taux de fonctionnalisation de ce support assez faible. Cette stratégie engendre tout de même des problèmes de rendement lors des réprécipitations après chaque ajout de monomère. Enfin, la synthèse sur support solide et plus précisément ici sur la résine Fmoc-Gly-Wang est jusqu'ici la technique la plus appropriée pour obtenir des poly(alcoxyamine amide)s à séquences contrôlées.

Le choix de la structure des poly(alcoxyamine amide)s semble donc être approprié, à la fois pour la synthèse itérative dont les réactions orthogonales mises en jeu ne nécessitent ni étape de protection ni étape de déprotection, et à la fois pour la lecture par spectrométrie de masse tandem grâce aux liaisons alcoxyamines, labiles. Cependant, il a été observé qu'une fois une certaine longueur de chaînes atteinte, l'accès aux sites réactifs par les comonomères est de plus en plus difficile. Il est donc compliqué d'obtenir un échantillon contenant un grand nombre de données binaires. C'est pourquoi, dans le chapitre suivant, différentes stratégies ont été étudiées afin de contourner ce problème de taille de chaînes, tout en augmentant la capacité d'informations contenues dans un échantillon.



## Chapitre III

---

Synthèse optimisée  
de poly(alcoxyamine amide)s pour  
l'écriture, le stockage, et la lecture  
d'informations

---





## 1. Introduction

Il a été démontré dans le **Chapitre II** que les poly(alcoxyamine amide)s sont des polymères très prometteurs pour stocker l'information numérique. En effet, d'une part les couplages chimiosélectifs mis en jeu permettent une synthèse itérative sans emploi de groupements protecteurs, et d'autre part la présence de liaisons alcoxyamines induit un séquençage aisé en spectrométrie de masse tandem. Les études menées dans le chapitre précédent restent toutefois limitées, et n'ont permis la synthèse de polymères ne portant qu'un octet d'information au maximum. C'est pourquoi ce chapitre porte sur trois différents concepts étudiés pour (i) faciliter l'écriture via une approche convergente, (ii) augmenter la capacité de stockage en synthétisant des codes-barres moléculaires, et (iii) faciliter la lecture grâce à une polydispersité induite qui permet un séquençage sans fragmentation.

Dans un premier temps, une synthèse convergente a été réalisée dans le but d'accélérer la synthèse de longues chaînes. Sur une résine Wang  $R_w$ , des diades à 2 unités codantes ont été synthétisées puis clivées de leur support, menant ainsi à l'obtention de building blocks avec un début de chaîne acide. Les ligations successives de ces derniers par amidification sur résine  $R_{GW}$ , alternées par des ajouts d'espacesurs TEMPO-NH<sub>2</sub>, ont permis d'obtenir facilement de plus longues chaînes contenant jusqu'à 10 bits d'information.<sup>[24]</sup>

Cependant, la synthèse de longues chaînes de poly(alcoxyamine amide)s n'est pas la voie la plus opportune pour stocker une grande quantité de données. C'est pourquoi, dans un second temps, la synthèse de codes-barres moléculaires a été étudiée dans le but d'augmenter la quantité d'informations contenues au sein d'un même échantillon. Pour ce faire, des chaînes isomoléculaires de tailles différentes ont été synthétisées séparément. Puis un mélange physique des différents oligomères obtenus a permis l'obtention d'un spectre ESI-HRMS révélant un pic par taille de chaîne, chacun pouvant ensuite être décodé par MS/MS.<sup>[25]</sup>

Enfin, une approche permettant une lecture de l'échantillon sans avoir recours au séquençage par spectrométrie de masse tandem a été étudiée, grâce à l'introduction volontaire d'une polymolécularité au cours de la synthèse. Après chaque ajout d'unité codante, la terminaison d'une petite fraction des chaînes en croissance a été induite par l'ajout de quelques pourcents de TEMPO lors du couplage radicalaire avec le TEMPO-NH<sub>2</sub>. Ainsi, après le clivage à la fin de la synthèse, l'échantillon possédait des chaînes de tailles différentes, révélant chacune un pic en ESI-HRMS. Les écarts calculés entre ces derniers étant directement liés aux bits incrémentés lors de la synthèse, il a ainsi été possible de décoder le code binaire le long de la chaîne, sans avoir à effectuer une fragmentation par MS/MS.

## 2. Synthèse convergente pour un encodage facile par ajout de diades

### 2.1 Introduction

La synthèse itérative sur support solide de poly(alcoxyamine amide)s permet d'obtenir des polymères à séquences contrôlées encodés digitalement et décodables par spectrométrie de masse tandem. Cependant, l'ajout des monomères un par un est chronophage et ce temps de synthèse peut être réduit par une approche convergente. Des stratégies convergentes ont déjà été employées, par les équipes de Brooke ou Hercules par exemple, pour simplifier la synthèse de polymères isomoléculaires.<sup>[165-168]</sup> De plus, notre équipe a récemment démontré que cette stratégie était pertinente pour la synthèse de polymères contenant de l'information, notamment grâce à la synthèse de poly(triazole amide)s à partir de diades encodées.<sup>[169]</sup>

En se basant sur ces précédents travaux, une approche convergente a été étudiée pour la synthèse de poly(alcoxyamine amide)s. Les 4 diades codant respectivement pour [00], [01], [10], et [11], ont été synthétisées sur une résine Wang avec un loading de 0,94 mmol.g<sup>-1</sup>, que l'on nommera **R<sub>W</sub>**, comme le montre la Figure 73. Ces diades présentent ainsi une fonction acide en début de chaîne, et une fonction bromée en fin de chaîne. Elles ont ensuite été ajoutées en tant que building-block sur une résine **R<sub>GW</sub>**, comme décrit Figure 73, pour au final obtenir des chaînes isomoléculaires de poly(alcoxyamine amide)s contenant jusqu'à 10 unités codantes.

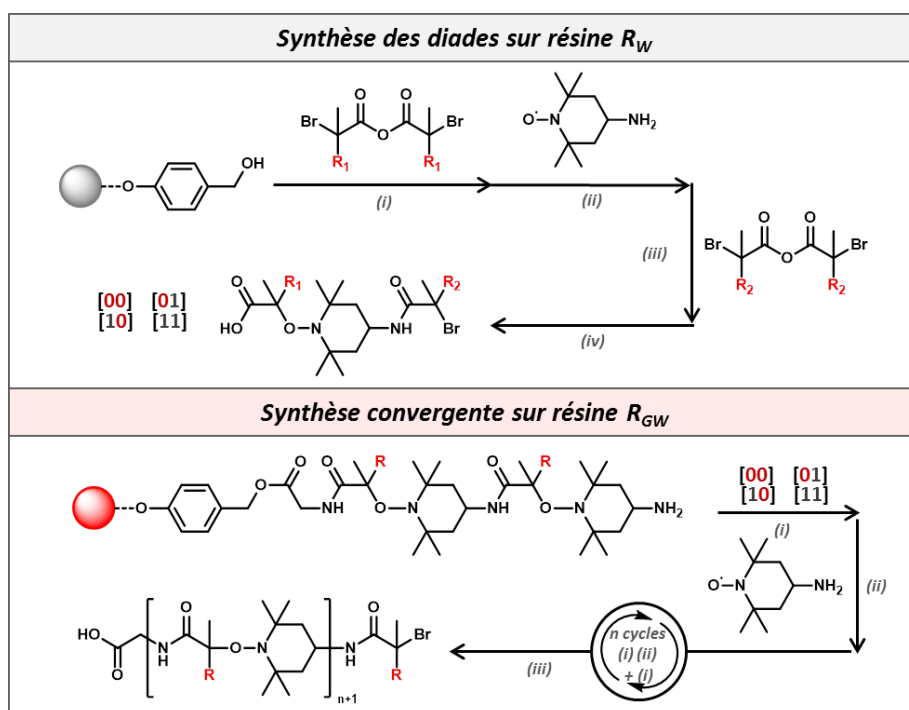


Figure 73 : Stratégie de synthèse convergente de poly(alcoxyamine amide)s. Synthèse de diades sur résine **R<sub>W</sub>**: (i) Estérification -HBTU, DMAP, THF, micro-onde (ii) Couplage radicalaire -CuBr, Me<sub>6</sub>TREN, DMSO, T<sub>a</sub> (iii) Amidification -THF, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> pour l'anhydride 1 et DIPEA pour l'anhydride 0, T<sub>a</sub> (iv) Clivage en conditions acides -TFA/DCM (50/50). Synthèse convergente à partir de diades sur résine **R<sub>GW</sub>** pré-encodée par 4 unités avec une fin de chaîne amine : (i) Ajout des diades par amidification (ii) Couplage radicalaire (iii) Clivage en milieu acide.

On peut noter que cette approche n'est qu'en partie convergente puisqu'elle implique des couplages itératifs pour l'ajout de diades. Elle permet cependant de réduire de moitié le nombre d'étapes nécessaires à l'obtention d'un polymère encodé. Ces travaux ont été réalisés en collaboration avec Dr. Raj Kumar Roy et la stagiaire Diane Fischer-Krauser.

## 2.2 Synthèse des diades sur support $R_W$

Afin de réaliser le couplage des diades sur une chaîne en croissance, il était nécessaire d'avoir des diades présentant une extrémité capable de réagir avec l'amine finale de la chaîne en croissance, et une autre a contrario inerte dans les conditions d'ajout de la diade. C'est pourquoi il a été décidé de synthétiser ces diades sur une résine Wang, pour obtenir une fonction acide en début de chaîne  $\alpha$ , capable ensuite de réagir par couplage acide-amine sur l'amine du polymère en croissance. Les structures attendues sont dessinées Figure 74.

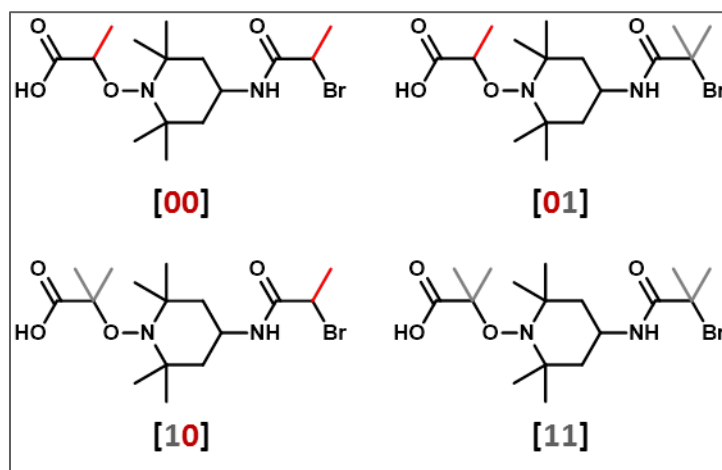


Figure 74 : Structure des quatre diades synthétisées sur support  $R_W$  contenant 2 unités codantes.

Une étude préliminaire a donc été réalisée dans le but d'optimiser les conditions d'ajout de la première unité codante sur la résine Wang. Un premier essai a été réalisé en ajoutant une unité codante pour 1 dans les mêmes conditions que sur la résine  $R_{GW}$ , comme décrit Figure 75, pour former le composé III-2-1.

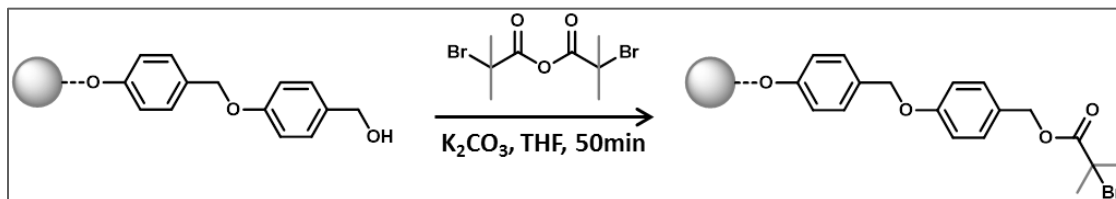


Figure 75 : Synthèse du composé III-2-1 sur résine Wang.

Après lavage, le composé **III-2-1** a été analysé par infrarouge en réflexion. En superposant son spectre avec celui de la résine avant réaction, la formation d'un pic à  $1736\text{cm}^{-1}$  est clairement identifiable Figure 76. Un pic à cette longueur d'onde est caractéristique d'une double liaison C=O lors de la formation d'un ester, et prouve donc que l'ajout de l'unité codante s'est bien effectué sur la résine. Cependant, il est difficile de conclure sur ce spectre à la réaction totale de tous les sites réactifs. C'est pourquoi d'autres essais permettant d'autres types d'analyses ont ensuite été effectués.

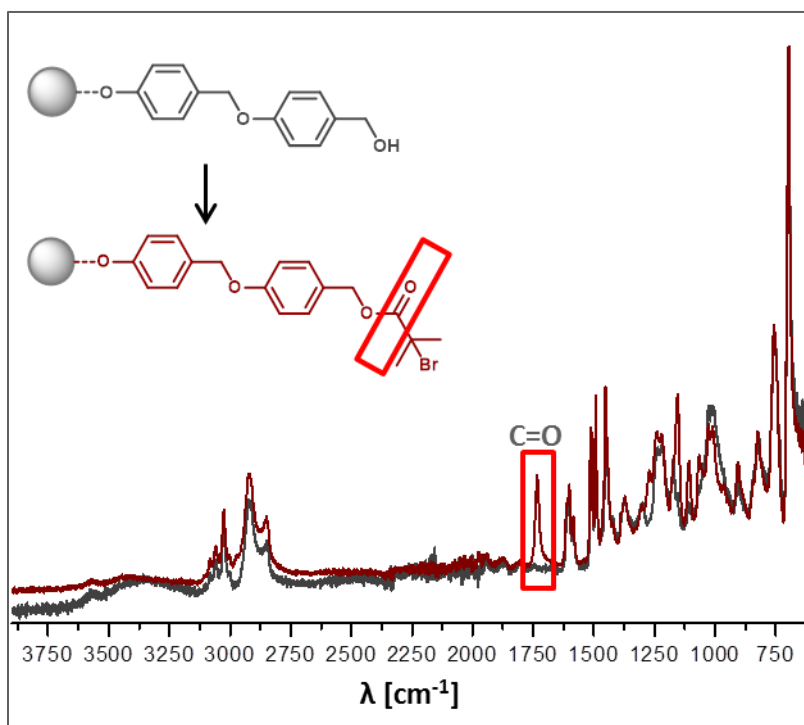
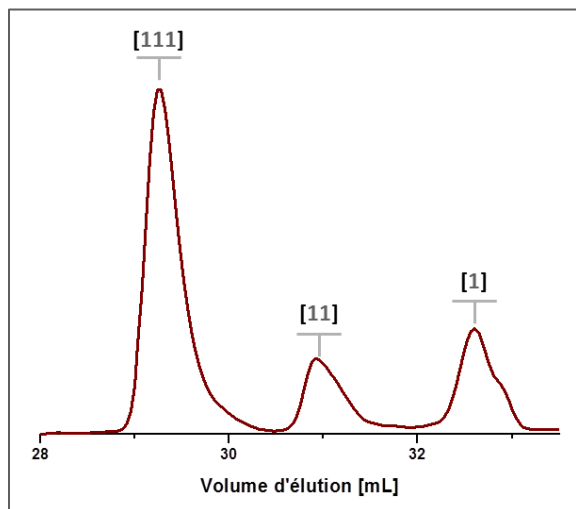


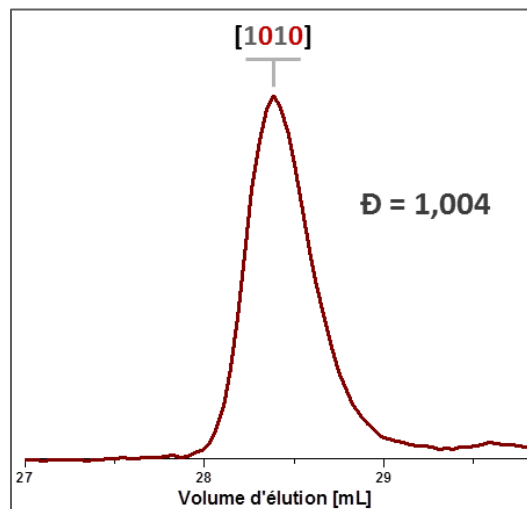
Figure 76 : Suivi IR-ATR de l'estérification sur résine Wang. En gris, la résine Wang, en rouge, le composé **III-2-1**. L'apparition d'un pic à  $1736\text{cm}^{-1}$  est caractéristique d'une double liaison C=O d'un ester.

Le composé **III-2-2** codant pour **[111]** a été synthétisé sur résine Wang  $R_W$  exactement dans les mêmes conditions que lors d'une synthèse sur support  $R_{GW}$ . Après clivage et précipitation, il a été analysé par SEC Figure 77. Les trois pics présents sur le graphe correspondent à un oligomère de 3 unités codantes **[111]**, de 2 unités **[11]** et d'une unité **[1]**. Il a donc été conclu que ces conditions de synthèse ne permettaient pas l'ajout total de la première unité codante. En effet, à chaque nouvel ajout, de nouvelles chaînes ont été initiées et le produit final est polymoléculaire. Ces observations peuvent s'expliquer par le fait que la fonction alcool en bout de chaîne de la résine  $R_W$  est moins réactive que la fonction amine de la résine  $R_{GW}$ . De nouvelles conditions pour l'étape d'estérification ont donc dû être mises au point.

Différentes conditions de réactions ont été testées au sein de l'équipe pour aboutir aux conditions suivantes : l'estérification entre les fonctions OH de la résine (1eq) et l'anhydride bromé (6eq.) s'effectue en présence de HBTU (4eq.) et de DMAP (2eq.), dans le DMF anhydre, pendant 90 minutes au micro-onde à 40°C. Le composé **III-2-3** codant pour **[1010]** a été synthétisé dans ces conditions. L'analyse SEC de ce dernier après clivage **Figure 78** montre un oligomère isomoléculaire et valide les conditions de synthèse sur ce type de résine.



**Figure 77 :** Analyse SEC du composé II-2-2. La présence de 3 pics distincts correspondant chacun à une taille de chaîne témoigne du caractère incomplet des étapes d'estérification.



**Figure 78 :** Analyse SEC du composé II-2-3. L'isomolécularité de l'échantillon témoigne du caractère complet des étapes mises en jeu lors de la synthèse.

Les 4 diades codant pour **[00]**, **[01]**, **[10]** et **[11]** ont alors été synthétisées dans les conditions énoncées précédemment, comme cela était décrit **Figure 73**. Elles ont ensuite été analysées par SEC **Figure 79**. L'allure des courbes obtenues ainsi que le calcul de leur indice de polymolécularité **Tableau 18** témoignent de l'isomolécularité de ces composés. De plus, l'analyse ESI-HRMS des diades a permis de confirmer les structures obtenues, puisque les masses expérimentales correspondent aux masses théoriques avec une précision allant jusqu'à 4 décimales. Les diades synthétisées ont donc pu être utilisées pour la synthèse convergente sur résine **R<sub>GW</sub>**.

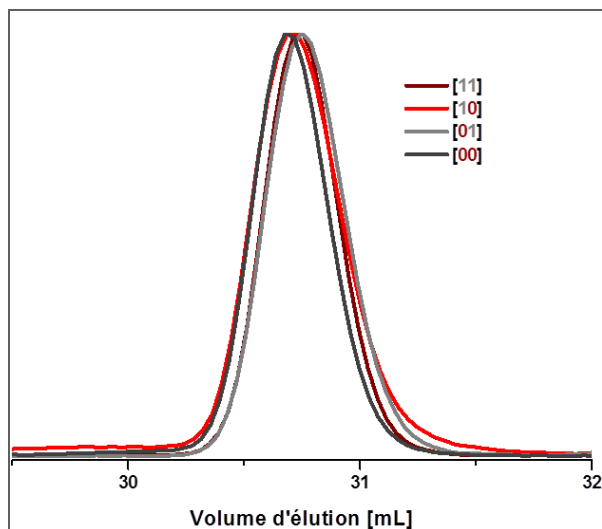


Figure 79 : Analyse SEC des quatre diades synthétisées sur résine Wang témoignant de leur isomolécularité.

Séquence	$m/z_{th}$	$m/z_{exp}$	$\bar{D}$
[00]	379,1227	379,1227	1.0024
[01]	393,1383	313,1380	1,0022
[10]	393,1383	393,1381	1,0022
[11]	407,1540	407,1539	1,0021

Tableau 18 : Analyse des diades par ESI-HRMS et calcul de leur indice de polymolécularité.

### 2.3 Synthèse convergente sur support $R_{GW}$

Les ligations successives de diades s'effectuent sur une résine  $R_{GW}$  pré-encodée, comme expliqué Figure 73. C'est pourquoi, dans un premier temps, le composé III-2-4-a, dessiné Figure 80 et codant pour [11], a été synthétisé sur support  $R_{GW}$  dans les conditions usuelles sur ce type de résine. Afin de vérifier l'isomolécularité des chaînes en croissance avant l'ajout des diades, une dernière unité codante a été ajoutée à une fraction de l'échantillon III-2-4-a, afin de pouvoir analyser par SEC après clivage le composé III-2-4-b formé dont la structure est dessinée Figure 80. La fonction amine en bout de chaîne du composé III-2-4-a induit en effet des interactions avec les colonnes SEC et empêchent ainsi son analyse. Le composé III-2-4-b codant pour [111] et terminant par une fonction bromée a donc été analysé par SEC Figure 81, et le profil isomoléculaire de la courbe permet de conclure à la qualité de ce composé en tant que support à la synthèse convergente.

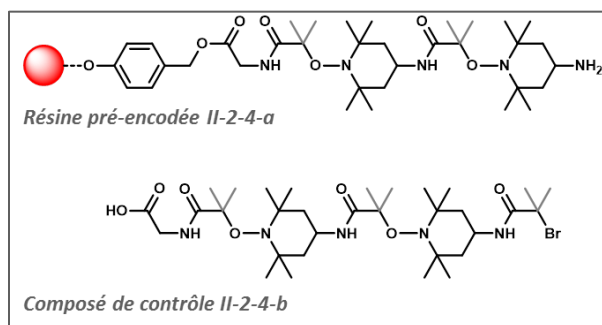


Figure 80 : Structure des composés III-2-4-a et III-2-4-b.

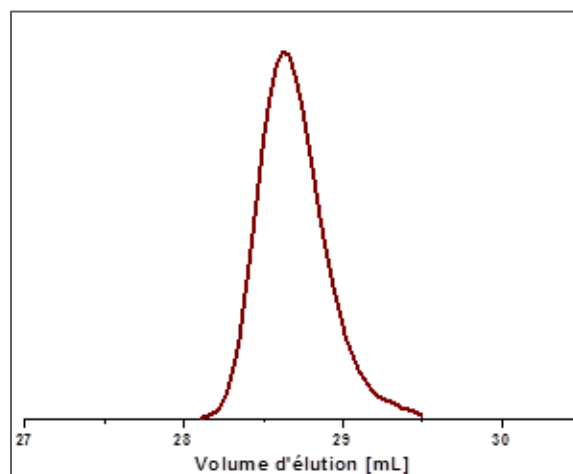
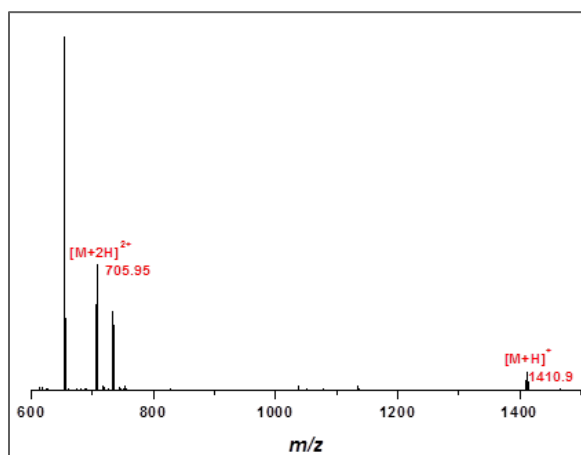
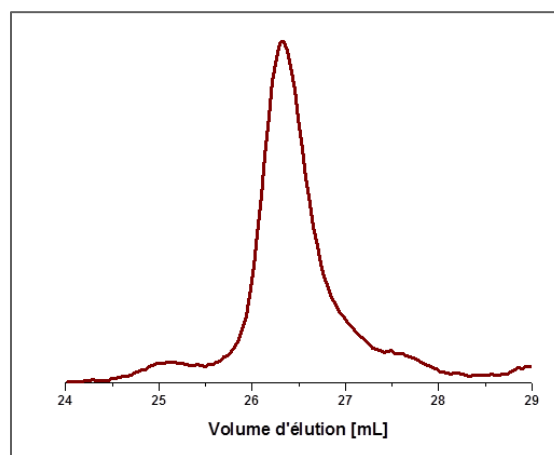


Figure 81 : Analyse SEC du composé III-2-4-b.

Ainsi, le composé **III-2-5** a ensuite été synthétisé par ajout de diades sur la résine pré-encodée **II-2-4-a** pour obtenir la séquence finale **[111110]**. Cette structure peut donc se décomposer comme tel :  $\alpha$ -[11]-[11]-[10]- $\omega$ , où le premier bloc correspond aux unités ajoutées sur la résine  $R_{GW}$ , et les deux suivants aux diades ajoutées. L'ajout de diade est une réaction anhydride-amine qui met en jeu l'amine du TEMPO-NH<sub>2</sub> et la fonction acide du trimère comme montré **Figure 73**. Chaque ligation est suivie d'un couplage radicalaire, afin d'ajouter l'espaceur TEMPO-NH<sub>2</sub> pour récupérer une amine en fin de chaîne. L'ajout des diades (4eq.) s'effectue en présence d'HBTU (5eq.) et de DIPEA (15eq.), dans le DMF anhydride, à 40°C au micro-onde pendant 2 heures. A la fin de la synthèse, le composé **III-2-5** a été clivé de son support, précipité dans l'éther puis analysé par ESI-HRMS **Figure 82** et par SEC **Figure 83**.



**Figure 82 : Spectre ESI-HRMS du composé II-2-5.**



**Figure 83 : Analyse SEC du composé II-2-5.**

Malgré la présence d'un léger épaulement sur l'analyse SEC, et d'impureté sur le spectre de masse, le composé **III-2-5** a aisément pu être séquencé par MS/MS comme le montre la **Figure 84**. Afin de prouver que la synthèse convergente est une technique adaptée pour l'encodage moléculaire, d'autres séquences ont été synthétisées et analysées. Elles sont répertoriées **Tableau 19**. Dans chaque cas, la masse obtenue par ESI-HRMS correspond à la masse théorique calculée, confirmant l'approche convergente appropriée à la synthèse de poly(alcoxyamine amide)s à séquences contrôlées.

Composé	Séquence	$m/z_{th}$	$m/z_{exp}$
<b>III-2-5</b>	<b>[111110]</b>	705.9511	705.9511
<b>III-2-6</b>	<b>[110110]</b>	698.9433	698.9435
<b>III-2-7</b>	<b>[110101]</b>	698.9433	698.9416
<b>III-2-8</b>	<b>[1]<sub>10</sub></b>	1193.3265	1193.3264

**Tableau 19 : Masses obtenues par ESI-HRMS des polymères synthétisés par synthèse convergente.**



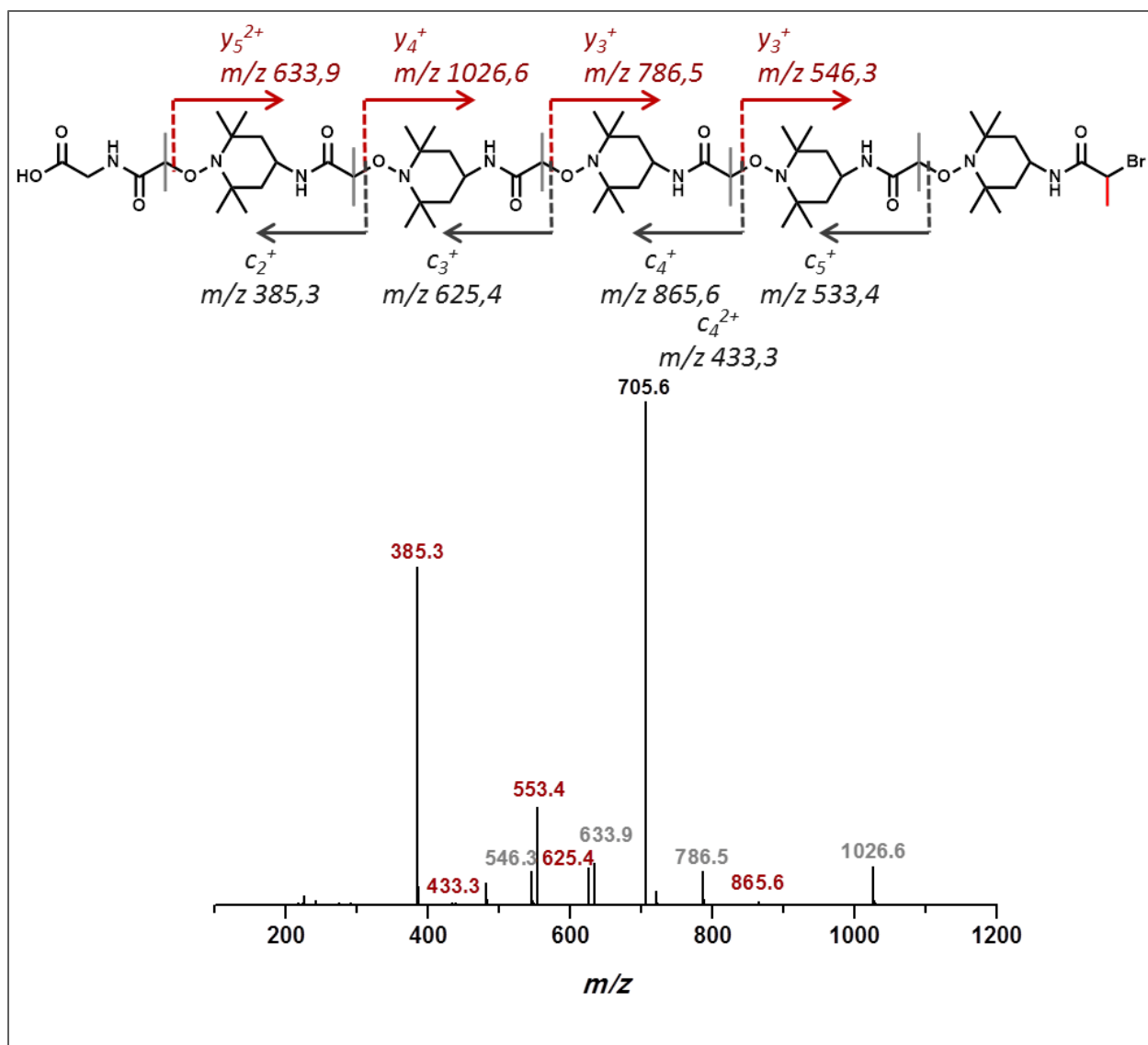


Figure 84 : Séquençage par MS/MS du composé II-2-5 codant pour [111110].

Enfin, un polymère composé de 10 unités codant pour 1 – le composé III-2-8 - a également été synthétisé par cette approche convergente, et séquencé par MS/MS Figure 85. La chaîne étant longue, le spectre comporte de nombreux fragments. C'est pourquoi leurs masses ont été répertoriées Tableau 20 ci-dessous.

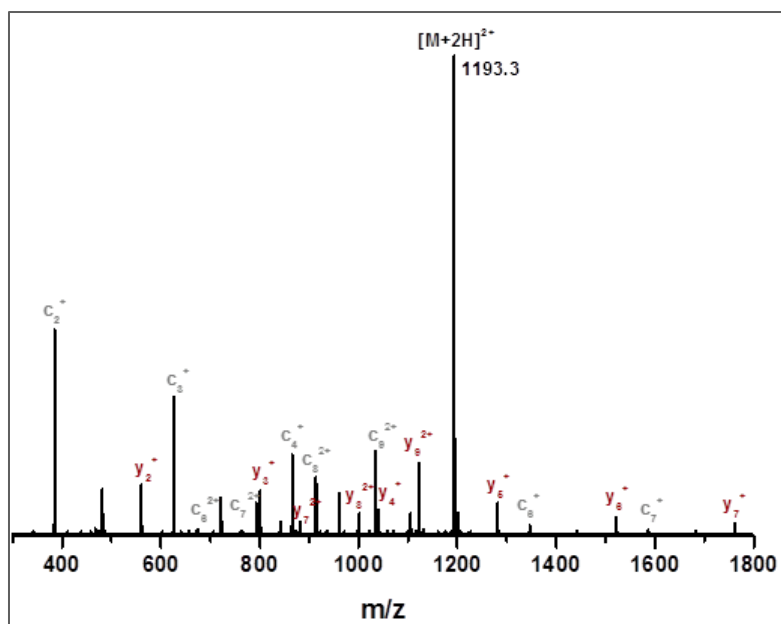


Figure 85 : Séquençage par MS/MS du composé II-2-8 contenant 10 unités codantes. En gris, les fragments à gauche de la rupture homolytique, en rouge ceux à droite.

Fragment	m/z	Fragment	m/z
$c_2^+$	385.3	$y_2^+$	560.3
$c_3^+$	625.4	$y_3^+$	800.5
$c_4^+$	865.6	$y_4^+$	1040.7
$c_5^+$	1105.8	$y_5^+$	1280.8
$c_6^+$	1346.0	$y_6^+$	1521.0
$c_6^{2+}$	673.5	$y_7^+$	1761.1
$c_7^+$	1586.1	$y_7^{2+}$	881.1
$c_7^{2+}$	793.5	$y_8^+$	1001.2
$c_8^+$	913.7	$y_9^+$	1121.3
$c_9^+$	1033.7		

Tableau 20 : Masse des fragments obtenus lors du séquençage par MS/MS du composé II-2-8 Figure 85.

L'analyse de ce composé a prouvé qu'il est possible de décoder une chaîne longue de 10 unités codantes. En revanche, la présence d'autres fragments, dont certains correspondant à des cycles  $[1]_n$ , ainsi que l'apparition d'une légère polymolécularité, laissent supposer qu'une purification –par HPLC par exemple- serait nécessaire si de plus longues séquences étaient visées. En outre, cette synthèse convergente a permis d'obtenir des poly(alcoxyamine amide)s encodées numériquement et décodables, avec une approche moins chronophage que la synthèse itérative. En effet, le temps de synthèse du composé III-2-8 à 10 unités codantes a été de 15.5 heures, tandis qu'une approche itérative aurait requis plus de 20 heures. De plus, un polymère de 10 unités codantes a été synthétisé quand la synthèse itérative ne permettait pas de dépasser un encodage supérieur à un 8 bits.

## 3. Synthèse de codes-barres moléculaires pour augmenter la capacité de stockage

### 3.1 Introduction

Parmi les applications potentielles des polymères encodés numériquement, il a été proposé de les utiliser en tant que codes-barres moléculaires dans le domaine de la lutte contre la contrefaçon ; l'idée étant de pouvoir intégrer une fraction de polymère contenant de l'information au sein d'une matrice, organique par exemple.<sup>[170]</sup> Différentes approches, comme la gravure laser ou les films silicés imprégnés numériquement par exemple, ont récemment été développés dans l'étiquetage anti-contrefaçon.<sup>[171-175]</sup> Alors que ces techniques reposent principalement sur la structure des matériaux, les polymères encodés permettraient d'insérer un code-barres à l'échelle moléculaire. Ils présentent l'avantage de pouvoir être solubilisés et ainsi intégrés au matériau dès la mise en œuvre. Ce type d'étude a déjà été réalisée avec de l'ADN.<sup>[176]</sup> Cependant, les polymères synthétiques dont la structure et ainsi la robustesse peuvent varier selon les besoins, peuvent s'adapter plus facilement à des procédés de mise en œuvre pour l'élaboration de matériaux.<sup>[177]</sup>

Les poly(alcoxyamine amide)s étant faciles à préparer et aisément séquençables, le choix s'est donc porté sur cette structure pour un étiquetage moléculaire. En outre, nous avons montré précédemment qu'il était difficile d'obtenir de longues séquences codant pour plus d'un octet. C'est pourquoi ce projet développe une stratégie permettant de stocker une plus grande quantité d'informations, sans avoir à synthétiser de chaînes trop longues. En effet, lors d'une analyse par spectrométrie de masse d'un échantillon isomoléculaire, seul un pic apparaît sur le spectre, pour être séquençé par MS/MS par la suite comme expliqué **Figure 86-gauche**. Restent alors des espaces vides sur la majorité du spectre, qui peuvent être exploités pour augmenter le contenu numérique du code-barres. Un mélange polymoléculaire permettrait ainsi d'obtenir un spectre de masse présentant différents pics comme le montre la **Figure 86-droite**. Cependant, une synthèse classique de polymères polymoléculaires ne serait évidemment pas adaptée à l'encodage de données. L'approche a donc été la suivante : synthétiser séparément par voie itérative des oligomères isomoléculaires de masses différentes et définies. Après clivage et précipitation de chacun des composés, l'analyse du mélange physique de chacun des oligomères synthétisés induit un spectre de masse présentant un pic par taille de chaîne. Chaque pic peut alors être séquençé par spectrométrie de masse tandem. Puis, en sommant les informations décodées pour chaque pic, le code entier contenu dans l'échantillon peut être recouvert, comme expliqué **Figure 86-droite**.

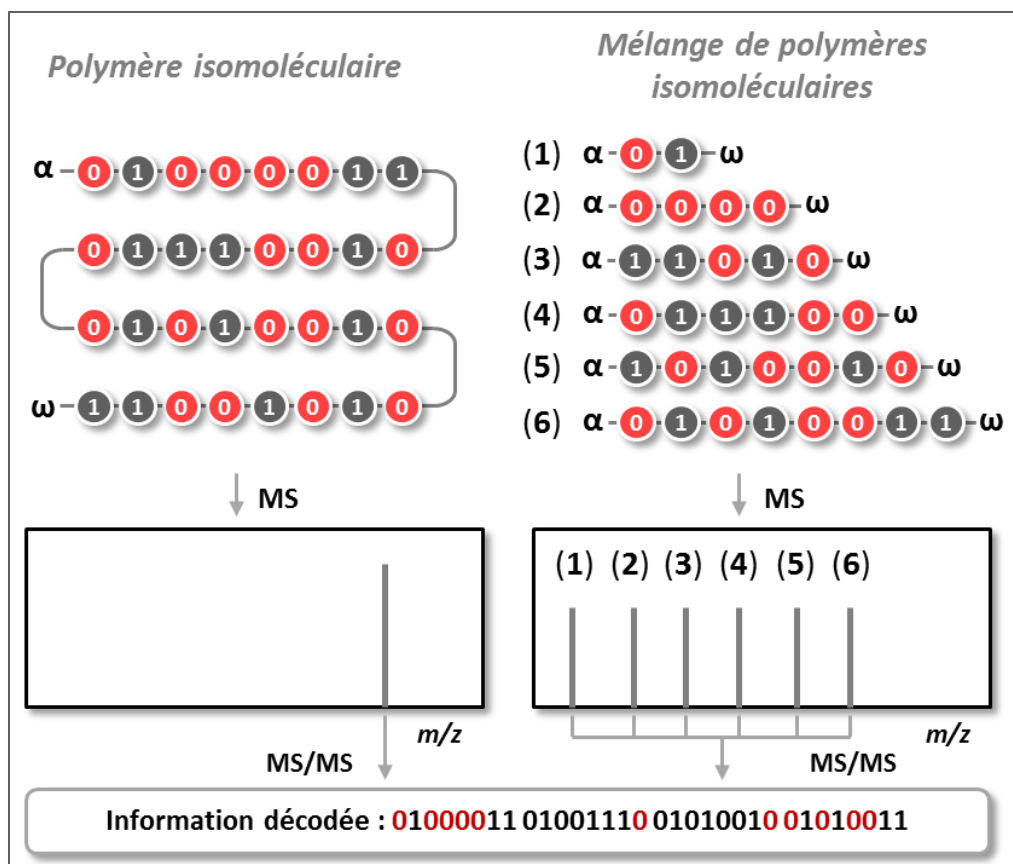


Figure 86 : Comparaison de 2 stratégies pour la synthèse d'échantillons contenant de l'information. A gauche, stratégie en une dimension avec une longue chaîne encodée. A droite, stratégie en 2 dimensions avec un mélange de plusieurs chaînes monodisperses encodées de masses différentes. Dans les deux cas, le ou les pics obtenus par ESI-MS peuvent être séquencés pas MS/MS.

Dans le but de prouver que cette stratégie est adaptée à la synthèse d'échantillons contenant un grand nombre d'informations digitales, des échantillons codant en ASCII pour les acronymes « CNRS » et « PMC » - qui est le nom de notre équipe - ont été synthétisés via cette méthode. En code ASCII, chaque caractère est codé par un octet, ce qui signifie que l'acronyme « CNRS » requiert l'encodage de 4 octets tandis que « PMC » en nécessite 3, soit respectivement 63 et 47 ajouts d'unité dans le cas d'une synthèse itérative, ce qui n'a pour le moment pas été atteint pour les poly(alcoxyamine amide)s. Des chaînes isomoléculaires de masses différentes ont donc été synthétisées afin d'avoir les bits requis pour l'encodage des deux acronymes, comme décrit Figure 87. Il a toutefois fallu définir un sens de lecture. C'est pourquoi, d'une part, « CNRS » a été encodé pour une lecture des petites masses vers les grandes masses lors de la première spectrométrie de masses, puis du début de chaîne vers la fin de chaîne lors de la fragmentation par spectrométrie de masse tandem. En revanche, « PMC » a été encodé pour une lecture des grandes masses vers les petites masses, de la fin de chaîne vers le début. 6 séquences isomoléculaires ont donc été synthétisées pour l'échantillon « CNRS », et 5 pour l'échantillon « PMC ».

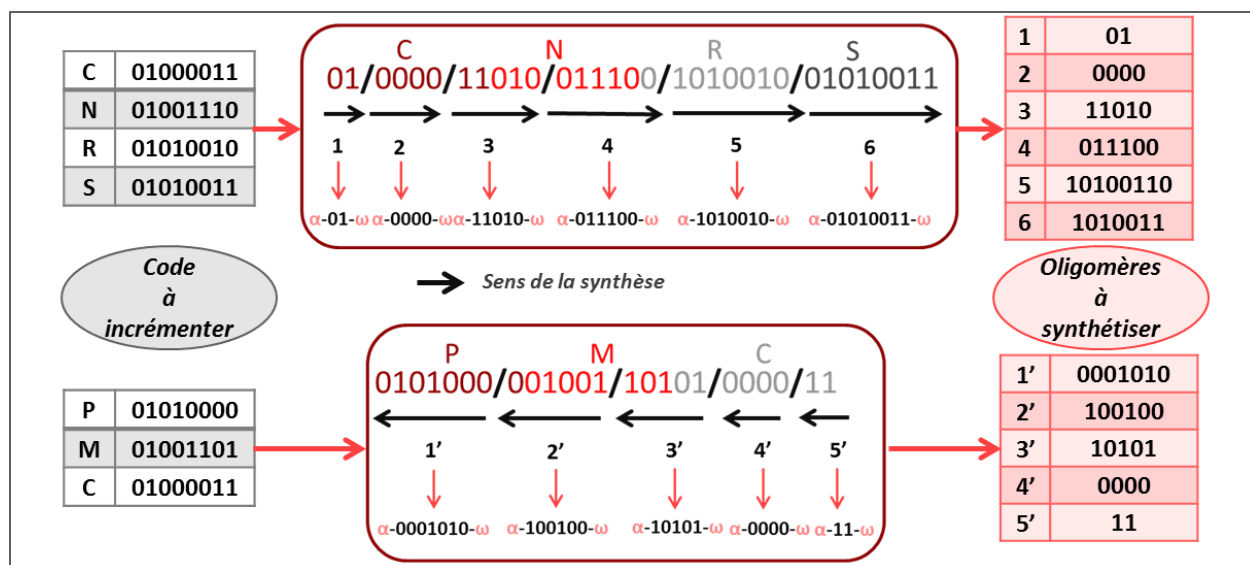


Figure 87 : Méthode employée pour la synthèse des oligomères monodisperses. A gauche, les lettres à encoder en ASCII. A droite, les oligomères à synthétiser pour le mélange.

### 3.2 Synthèse itérative des oligomères encodés monodisperses

Dans un premier temps, chaque composé a été synthétisé séparément puis analysé par SEC, ESI-HRMS, et par MS/MS afin d'attester de leur isomolécularité et de leur séquence. Les masses exactes de chaque composé sont répertoriées Tableau 21 ci-dessous.

Composé	Séquence	$m/z_{th}$	$m/z_{exp}$
III-3-1	[01]	448.1453	448.1469
III-3-2	[0000]	886.4659	886.4683
III-3-3	[11010]	1154.6809	1154.6814
III-3-4	[011100]	1380.8491	1380.8481
III-3-5	[1010010]	1607.0172	1607.0185
III-3-6	[01010011]	1847.2010	1847.2034
III-3-1'	[0001010]	1593.0015	1593.0008
III-3-2'	[100100]	1366.8334	1366.8323
III-3-3'	[0000]	886.4659	886.4683
III-3-4'	[11]	886.4659	886.4683

Tableau 21 : Masses de chaque oligomère monodisperse synthétisé.

### 3.3 Mélange intentionnellement polymoléculaire

Dans un second temps, les oligomères obtenus ont été mis en solution puis mélangés. Les mélanges « PMC » et « CNRS » ont ensuite été analysés par ESI-HRMS, respectivement Figure 88 et Figure 89. Ces spectres ont été obtenus en mode négatif afin que chacun des polymères soit ionisé en tant qu'espèce simplement déprotonée, puisqu'ils ne contiennent chacun qu'une seule fonction acide.

Il faut noter qu'une étape d'optimisation a dû être effectuée par Laurence Charles pour obtenir les spectres ci-dessous. Il a d'abord été observé lors des analyses de chaque oligomère, que le rendement d'ionisation des chaînes diminuait lorsque la taille de ces dernières augmentait, certainement puisque l'acidité de l'oligomère diminue quand la longueur de sa chaîne augmente. En se basant sur ces considérations, les mélanges ont été préparés dans le but d'obtenir un spectre avec des pics de même intensité, comme présenté théoriquement Figure 86. Il est cependant apparu que les rendements d'ionisation de chaque oligomère différaient une fois inclus dans le mélange. Ce comportement peut s'expliquer par des effets de suppression, décrits par Enke,<sup>[178]</sup> qui met en relation l'abondance des ions mesurés en masse avec leur concentration relative en surface des gouttelettes chargées générées par l'ESI. Toutes ces considérations prises en compte, un compromis a été trouvé dans l'obtention de spectres présentant des pics dont l'intensité augmente lorsque la taille des chaînes diminue. Cette allure de spectre peut par ailleurs se révéler être une aide de lecture supplémentaire pour la personne qui décodera le message.

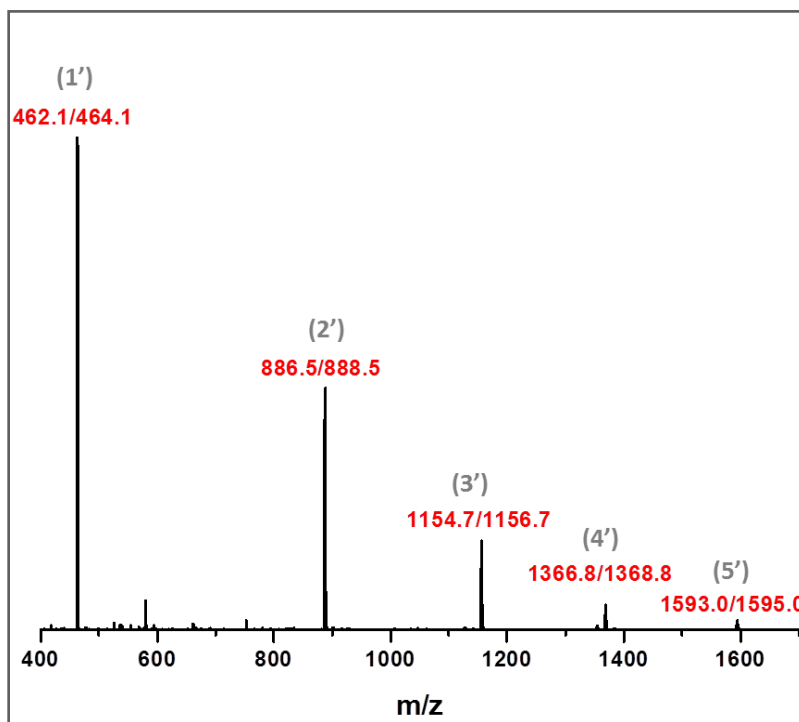


Figure 88 : Spectre ESI-HRMS du mélange des 5 oligomères monodisperses codant pour « PMC ».

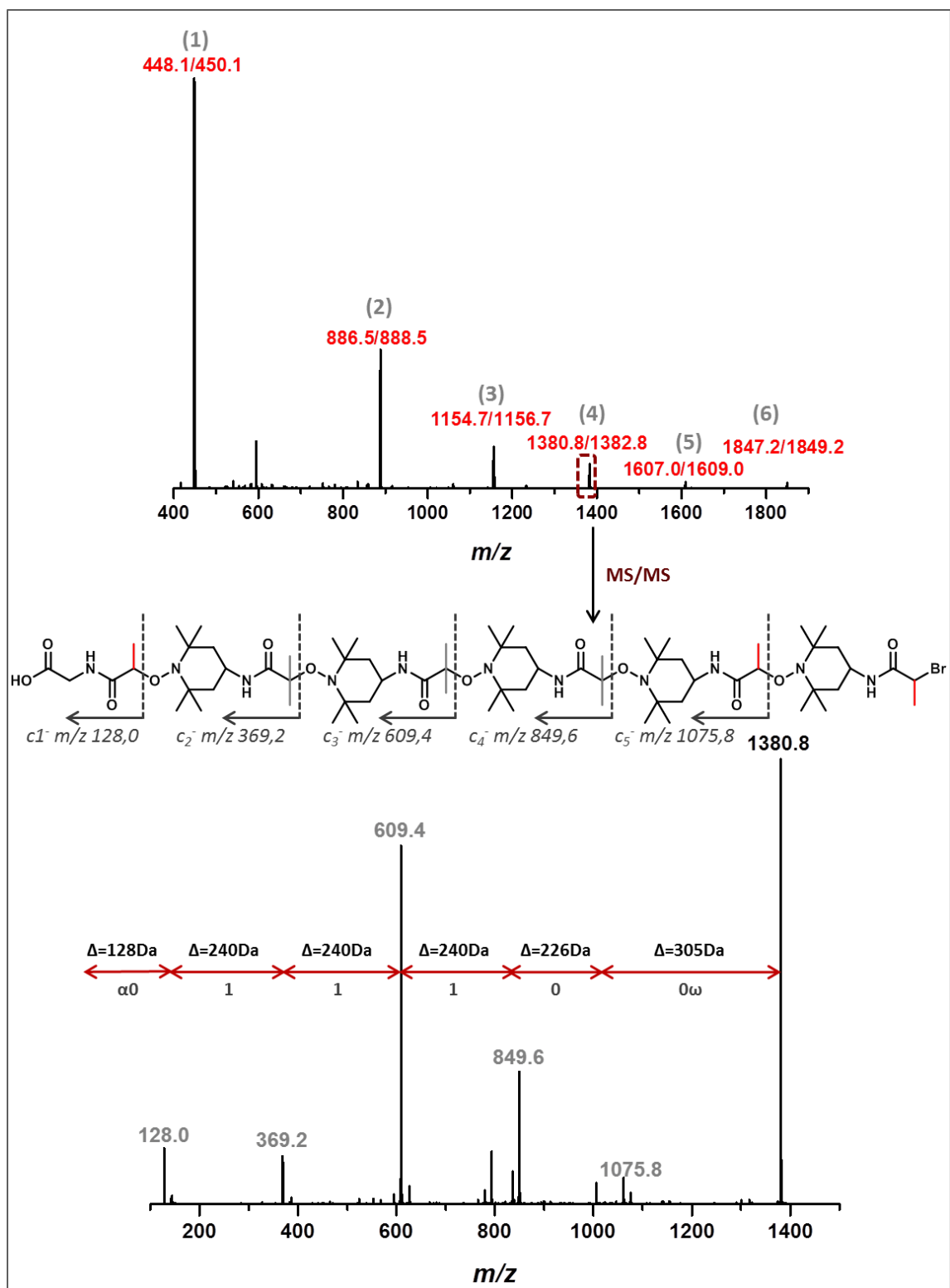


Figure 89 : Analyse du mélange codant pour CNRS. En haut, spectre ESI-HRMS du mélange où chaque oligomère est identifiable. En bas, séquençage par MS/MS du composé III-3-4. Ce séquençage est effectué pour chaque pic correspondant à un oligomère encodé.

A partir du spectre de masse, chaque pic correspondant à un oligomère a pu être identifié en tant qu'ion précurseur pour se soumettre à un séquençage par spectrométrie de masse tandem. L'exemple est donné Figure 89 pour le composé **III-3-4** codant pour **[011100]**, et montre qu'il a été possible de recouvrir le code contenu par un oligomère bien qu'il soit mélangé aux autres. Ce séquençage a été réalisé sur chacun des pics présents dans les deux mélanges. Chaque fois, il a permis de décoder l'acronyme encodé dans l'échantillon, c'est-à-dire « CNRS » et « PMC ».

Pour conclure, il a été démontré qu'un mélange de polymères à séquences contrôlées de différentes masses contenant de l'information digitale peut être analysé par ESI-HRMS en mode négatif, puis séquencé dans un second temps par spectrométrie de masse tandem. Cette technique a permis d'obtenir des échantillons contenant jusqu'à 4 octets d'informations, ce qui n'était pas possible par synthèse itérative classique de poly(alcoxyamine amide)s. De plus, cette stratégie n'avait pas été développée par le passé et pourrait s'avérer tout aussi efficace pour les codes-barres d'ADN. Elle a par ailleurs été développée par l'équipe et il est désormais possible d'implémenter ce type de code-barres au sein d'une matrice polymère pour l'étiquetage du matériau.<sup>[108]</sup> Ce code est extrait en chauffant le matériau, c'est pourquoi il a été inscrit le long de chaînes poly(uréthane)s et non poly(alcoxyamine amide) s, puisque ces dernières se dégradent à partir de 60°C. Toutefois, les poly(alcoxyamine amide)s se sont avérés utiles pour cette première preuve de concept.



## 4. Capping partiel pour une lecture sans fragmentation

### 4.1 Introduction

Alors que la synthèse de codes-barres moléculaires a permis d'augmenter la quantité d'informations digitales contenues dans un échantillon pour une lecture en 2 dimensions, l'idée dans cette partie est de faciliter la lecture du code incrémenté le long d'une chaîne séquencée. En effet, une première analyse par spectrométrie de masse d'un échantillon isomoléculaire donne un pic, qu'il faut ensuite séquencer en spectrométrie de masse tandem pour décoder. Or, il serait théoriquement possible de lire le code contenu dans un échantillon dès sa première analyse par spectrométrie de masse – ESI ou MALDI - à condition que ce dernier soit polymoléculaire. Pour ce faire, il faut induire des terminaisons après chaque ajout d'unité codante sur une fraction de chaîne. Ainsi, à la fin de la synthèse, l'échantillon contient des chaînes de différentes tailles. L'écart entre chaque pic visible sur le spectre permettrait alors de remonter au bit ajouté à cet endroit de la séquence.

Afin d'être plus explicite, l'exemple théorique du mélange attendu et de son analyse par spectrométrie de masse sur un poly(alcoxyamine amide) codant pour **[11100]** est donné Figure 90. Durant la synthèse, 5% de TEMPO ont été ajoutés avec le TEMPO-NH<sub>2</sub> lors des ajouts d'espaces. Une fraction des chaînes en croissance a donc réagi avec le TEMPO. Ce dernier ne présentant pas de fonctions pouvant réagir avec les autres monomères ajoutés par la suite, il induit la terminaison de ces chaînes. Ce capping partiel a été réalisé après chaque ajout d'unité codante. Ainsi, à la fin de la synthèse et après clivage, l'échantillon codant pour **[11100]** devrait contenir les chaînes suivantes : **[1]**, **[11]**, **[111]**, **[1110]**, **[11100]**. Chacune des chaînes citées précédemment étant isomoléculaire, l'observation d'un pic par longueur de chaîne est attendue lors d'une analyse par spectrométrie de masse. La différence de masse entre chaque pic correspondrait alors à l'ajout d'un espaceur et d'une unité codante, dont les masses sont connues. Il serait alors possible de remonter au code incrémenté en calculant simplement l'écart entre chacun des pics présents sur le spectre.

Cette étude a été réalisée en collaboration avec l'équipe de Hans Börner à Berlin.

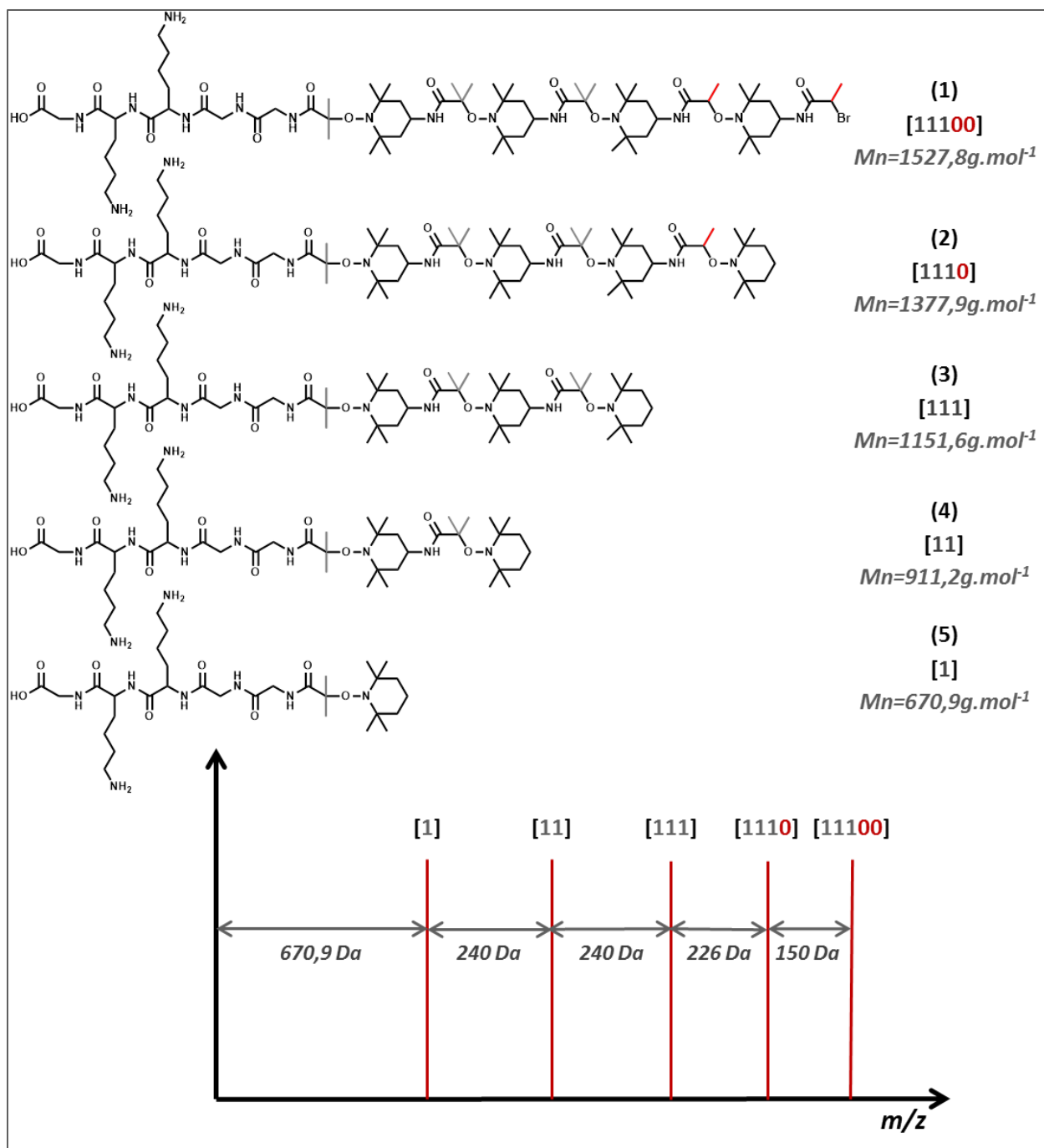


Figure 90 : Structure d'un échantillon codant pour [11100] optimisé pour une lecture dès la première masse. L'écart entre chaque pic sur le spectre de masse correspond à l'écart de masse entre chacune des chaînes présentes dans l'échantillon.

## 4.2 Résultats et discussion

### 4.2.1 Synthèse sur résine Rink-Amide $R_{RA}$

L'équipe de Hans Börner a au préalable développé cette stratégie pour la synthèse de polypeptides. Ces derniers ont été synthétisés sur une résine Rink-Amide que l'on nommera  $R_{RA}$ , dont la structure est donnée Figure 91. Puis ils ont été analysés par MALDI-TOF, l'écart entre les pics présents sur le spectre de MALDI permettant de remonter à la séquence peptidique. C'est pourquoi, dans un premier temps, le composé **III-4-1** codant pour [11100], et dont la structure est dessinée Figure 91, a été synthétisé sur cette résine. Un espaceur composé d'acides aminés a été ajouté en début de chaîne afin d'augmenter la taille du composé final. Il est en effet requis que même la plus petite chaîne – codant pour [1] – ait une masse assez élevée pour ne pas se confondre avec la matrice lors de l'analyse par MALDI-TOF.

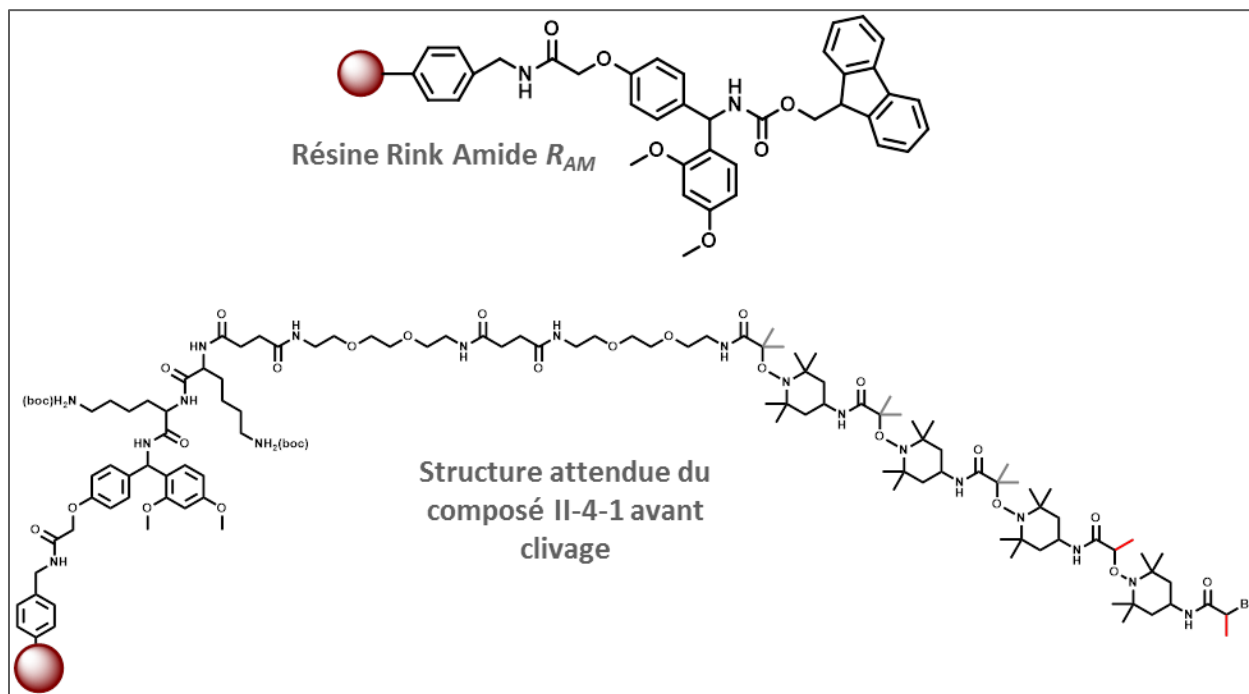


Figure 91 : En haut, structure de la résine  $R_{AM}$ . En bas, structure attendue du composé **III-4-1** pour la chaîne la plus longue codant pour [11100] avant clivage.

Le composé **III-4-1** a été synthétisé avec un capping partiel induit par un ajout de TEMPO, comme expliqué dans l'introduction. Après clivage, il a été analysé par MALDI-TOF. Aucun pic ne correspondait à la structure attendue, et les écarts entre les pics ne pouvaient non plus être mis en relation avec le code incrémenté. La structure des poly(alcoxyamine)amides s'est avérée être moins bonne candidate pour une analyse par MALDI-TOF que les polypeptides. C'est pourquoi un nouvel essai a été effectué pour une lecture directe par ESI-HRMS.

#### 4.2.2 Synthèse sur résine Fmoc-Gly-Wang

Le composé **III-4-2** représenté Figure 92, codant pour [11100], a été synthétisé sur résine  $R_{GW}$ . C'est un poly(alcoxyamine amide) qui contient deux lysines suivies de deux glycines en début de chaîne. Il est, comme précédemment, synthétisé en terminant une fraction des chaînes par ajout de TEMPO. Les structures et masses de toutes les chaînes attendues après clivage ont été représentées précédemment **Figure 90**.

Après clivage et précipitation sous forme de poudre, l'échantillon a été analysé **Figure 92**, cette fois-ci par ESI-HRMS puisqu'il est maintenant établi que cette technique d'analyse est adaptée à la structure des poly(alcoxyamine amide)s.

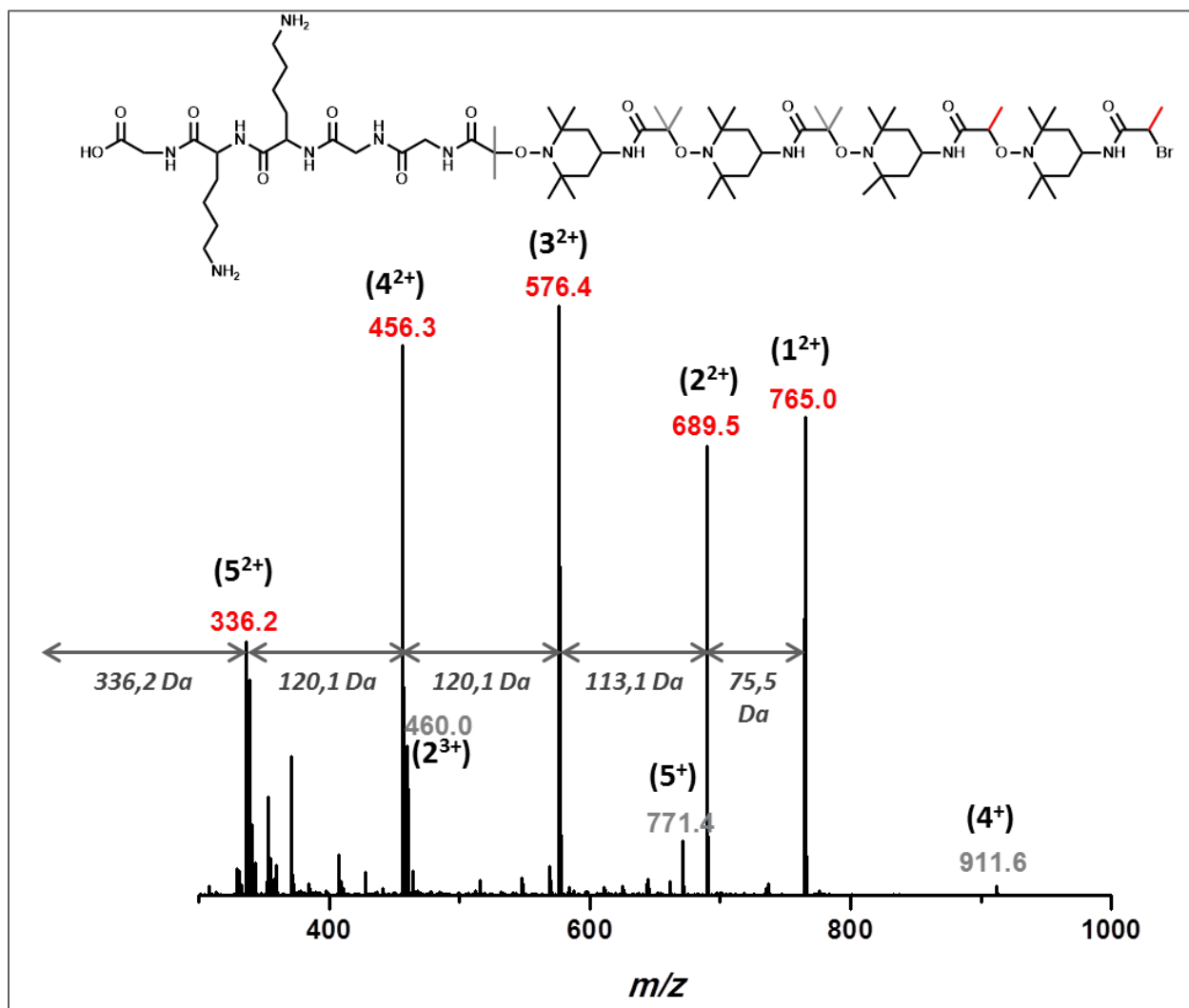


Figure 92 : Analyse ESI-HRMS du composé III-4-2. En rouge, les chaînes dichargées, en gris les mono- et trichargées.

Les pics doublement chargés de chaque longueur de chaîne sont présents et de forte intensité, donc facilement identifiables. Les écarts entre chacun de ces derniers correspondent parfaitement à ceux attendus. Il est donc ainsi possible de décoder la séquence en commençant par la masse la plus élevée, puis en déduisant les bits incrémentés, de la fin de chaîne vers le début de chaîne.

En conclusion, une nouvelle technique d'encodage de données le long de chaîne polymères a été développée. Elle permet une lecture rapide dès la première analyse par spectrométrie de masse, et ne requiert aucune fragmentation par spectrométrie de masse tandem. Cette stratégie, qui consiste à induire des terminaisons de chaîne après chaque ajout d'unité codante, pourrait s'adapter à d'autres types de structure de polymères à séquences contrôlées.

## 5. Conclusion

Pour conclure, trois différentes approches de la synthèse de poly(alcoxyamine amide)s encodées numériquement ont été étudiées dans ce chapitre : la synthèse convergente, l'élaboration de codes-barres moléculaires pour une lecture en deux dimensions, ainsi que le capping partiel permettant un décodage dès la première lecture en masse. Dans le cadre de la synthèse convergente, l'ajout de diades codantes pour 2 bits a permis de diminuer le temps de manipulation pour l'expérimentateur lors de la synthèse de chaînes longues. De plus, cette approche a permis l'obtention d'un polymère à séquence contrôlée contenant 10 unités codantes, supérieur à l'octet atteint dans le cadre d'une synthèse itérative classique. L'apparition de légères polymolécularités et de fragments internes cyclisés lors du séquençage par spectrométrie de masse tandem laissent cependant à penser qu'il serait difficile d'obtenir de plus longues chaînes encodées via cette approche.

C'est pourquoi une seconde approche, ne requérant pas la synthèse de chaînes plus longues que le maximum déjà atteint, et permettant pourtant d'augmenter la quantité d'informations numériques stockées au sein d'un échantillon, a été développée. Grâce à la synthèse de chaînes isomoléculaires mélangées physiquement, l'espace disponible sur un spectre de masse a été optimisé, et un acronyme de 4 octets a été encodé. La synthèse de tels codes-barres peut s'avérer un bon outil dans l'étiquetage de produits pour combattre la contrefaçon. De plus, une telle approche peut s'appliquer à tout type de polymères séquencés, permettant de choisir la structure adéquate pour l'insérer dans le matériau à labéliser.

Enfin, il a été démontré qu'il est désormais possible de déchiffrer un code moléculaire dès une première analyse par spectrométrie de masse, sans avoir recours à un séquençage par spectrométrie de masse tandem, grâce à la terminaison d'une fraction de chaînes en croissance après chaque ajout d'unité codante. Cette stratégie s'est révélée adaptée à la lecture de polymères synthétiques par ESI-HSMR, comme à celle de biopolymères par MALDI-TOF. Elle semble donc pouvoir s'adapter à la synthèse de n'importe quel polymère à séquence contrôlée, à condition que la synthèse de celui-ci implique l'ajout d'un espaceur après celui de l'unité codante.

En résumé, les trois stratégies étudiées se sont avérées pertinentes pour la synthèse et la lecture des poly(alcoxyamine amide)s encodées. Elles présentent de plus l'avantage d'être adaptables à d'autres types de structures. Or, les poly(alcoxyamine amide)s peuvent montrer certaines limites selon l'application recherchée : elles se dégradent au-dessus de 60°C, et l'ajout de chaque monomère requiert une heure en moyenne. C'est pourquoi une nouvelle structure a été étudiée dans le **Chapitre IV**. Cette dernière implique la formation d'un triazole par une SpAAC (Strain-promoted Azide Alkyne Cycloaddition) mettant en jeu un azoture et une cyclooctyne. La présence de la triple liaison mise en jeu sur un cycle à 8, et non sur un composé linéaire, devrait permettre une formation rapide du triazole et ainsi diminuer les temps de synthèse des polymères à séquences contrôlées.



## Chapitre IV

---

### Synthèse itérative orthogonale de poly(alcoxyamine triazole)s

---





## 1. Introduction

Dans les **chapitres II** et **III**, les poly(alcoxyamine amide)s ont été synthétisés par stratégie « **AB+CD** », basée sur deux réactions orthogonales : le couplage radicalaire, et le couplage acide-amine. Dans le but de diminuer le temps de synthèse de polymères numériques, une nouvelle réaction a été étudiée en remplacement à cette étape d'amidification: la SpAAC. Ainsi, comme le montre la Figure 93, la synthèse de poly(alcoxyamine triazole)s s'appuie toujours sur une stratégie « **AB+CD** » mettant en jeu deux réactions orthogonales : le couplage radicalaire et la SpAAC.

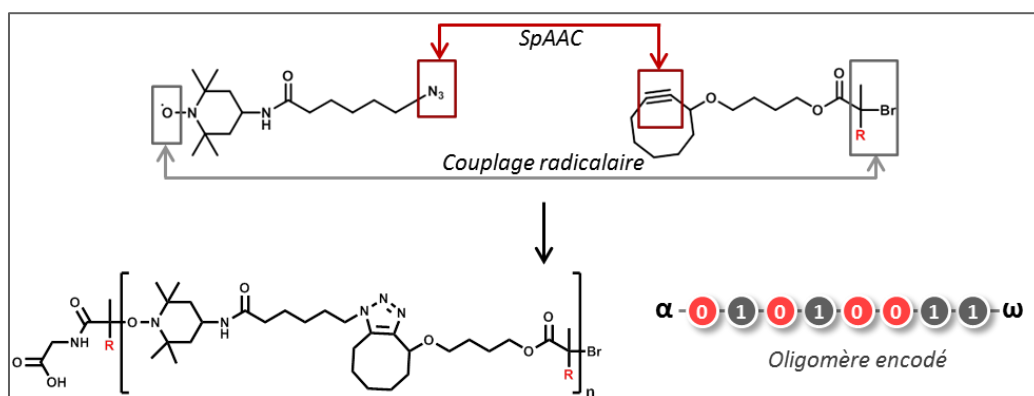


Figure 93 : Réactions orthogonales mises en jeu pour la synthèse de poly(alcoxyamine triazole)s à séquences contrôlées.

La SpAAC est une réaction qui met en jeu un azoture et un alcyne cyclique, et mène à la formation d'un triazole. Cette réaction présente différents avantages. Elle peut avoir lieu dans une grande variété de solvants, présente un rendement quasi-quantitatif en présence de réactifs en quantités stoechiométriques, mène à la formation de triazoles très stables, ne nécessite pas l'emploi de catalyseurs – contrairement à une CuAAC mettant en jeu un azoture et un alcyne linéaire en présence de cuivre -, et présente des constantes de vitesse élevées.<sup>[179, 180]</sup> Ces dernières s'expliquent par le caractère instable des alcynes cycliques. Cette instabilité, directement corrélée à l'angle des liaisons C-C, augmente lorsque la taille du cycle diminue. Ainsi, la cyclooctyne a été identifiée comme le plus petit cycloalcyne isolable, et donc le plus réactif.<sup>[181]</sup> En effet, son angle de liaison acétylène est de 163°, déviant largement des 180° idéaux conférés par une structure linéaire.<sup>[182]</sup> Cette torsion induit une tension de cycle d'environ 18 kcal.mol<sup>-1</sup>, supérieure aux 12 kcal.mol<sup>-1</sup> observés pour un cycloalcane saturé.<sup>[183, 184]</sup> Il est alors logique qu'une cyclooctyne réagisse rapidement en présence d'un azoture organique par addition dipolaire [3+2], afin de former un triazole dont la conformation est bien plus stable.

La stratégie employée pour la synthèse de poly(alcoxyamine triazole)s, décrite **Figure 94**, met ainsi en jeu une cyclooctyne fonctionnalisée portant l'unité codante, ainsi qu'un TEMPO modifié avec une extrémité azoture, que l'on nommera TEMPO-N<sub>3</sub>. Les synthèses d'oligomères ont été effectuées sur le support solide **R<sub>GW</sub>**. Après déprotection de la résine, un premier ajout d'anhydride bromé a été

effectué dans les conditions optimisées **Chapitre II**, afin d'obtenir un bout de chaîne bromé, capable de supporter successivement des étapes de couplages radicalaires et de SpAAC. Les oligomères ont ensuite été clivés de leur support en milieu acide.

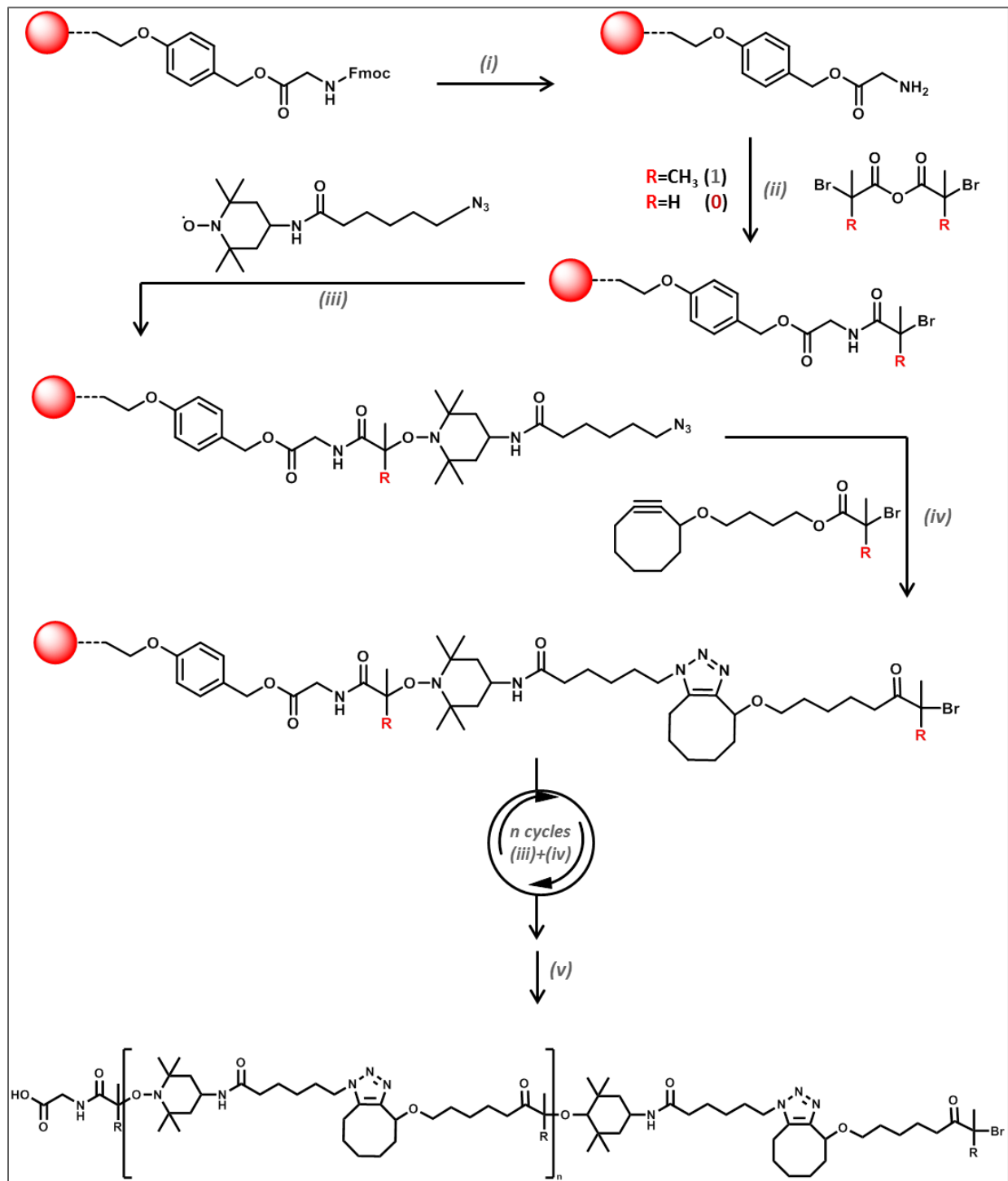


Figure 94 : Voie de synthèse des poly(alcoxy triazole)s. (i) Déprotection : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, pipéridine. (ii) Couplage amide-acide : Base, THF. (iii) Couplage radicalaire : CuBr, Me<sub>6</sub>TREN, DMSO anhydre. (iv) SpAAC, MeOH/H<sub>2</sub>O (80/20). (v) Clivage : TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50/50).

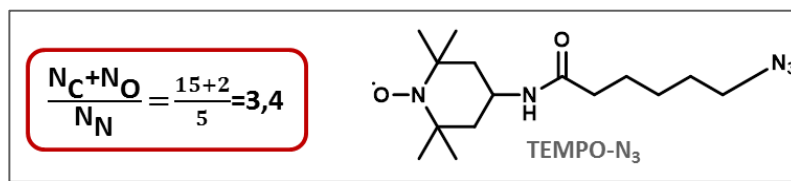
## 2. Synthèse des monomères

### 2.1 Synthèse du comonomère espaceur : le TEMPO-N<sub>3</sub>

Afin de réaliser une synthèse itérative « **AB+CD** », mettant en jeu un couplage radicalaire et une SpAAC, l'espaceur doit répondre aux critères suivants : contenir une extrémité TEMPO pour créer une liaison alcoxyamine comme dans les **chapitres II** et **III**, avoir une seconde extrémité azoture pour former un triazole en réagissant avec une cyclooctyne. Toutefois, l'azoture peut conférer un caractère explosif à la molécule, et pour des raisons de sécurité, la structure visée doit répondre à l'équation ci-dessous, dans laquelle N<sub>C</sub> représente le nombre d'atomes de carbone, N<sub>O</sub> le nombre d'atomes d'oxygène, et N<sub>N</sub> celui d'azote.

$$\frac{N_C + N_O}{N_N} \geq 3$$

Le composé TEMPO-N<sub>3</sub> synthétisé a donc le structure donnée **Figure 95**, présentant un ratio de 3,4, suffisant pour répondre aux critères de sécurité.



**Figure 95** : Structure du composé TEMPO-N<sub>3</sub>.

La synthèse du composé TEMPO-N<sub>3</sub>, décrite Figure 96, s'est effectuée en 3 étapes. L'étape (i) est une ouverture de cycle de l' $\epsilon$ -caprolactone, qui s'effectue sans solvant, sous chauffage à reflux, pendant 2 heures. Le composé **IV-2-1** a ensuite été purifié sur colonne de silice et obtenu avec un rendement de 66%. L'étape (ii) est une étape de tosylation, afin d'ajouter un bon groupe partant qui permettra l'ajout d'azoture. Le chlorure de tosylo a été ajouté au composé **IV-2-1** en présence de triéthylamine dans du dichlorométhane anhydre pendant 2,5 heures. Le composé **IV-2-2** a ensuite été purifié sur colonne de silice et obtenu avec un rendement de 70%. Enfin, l'azoture de sodium a été ajouté à l'étape (iii) pendant une nuit dans l'éthanol. Après extraction puis lavage, le composé **IV-2-3** a été obtenu avec un rendement quantitatif. La synthèse du TEMPO-N<sub>3</sub> présente donc un rendement global de 43,4%.

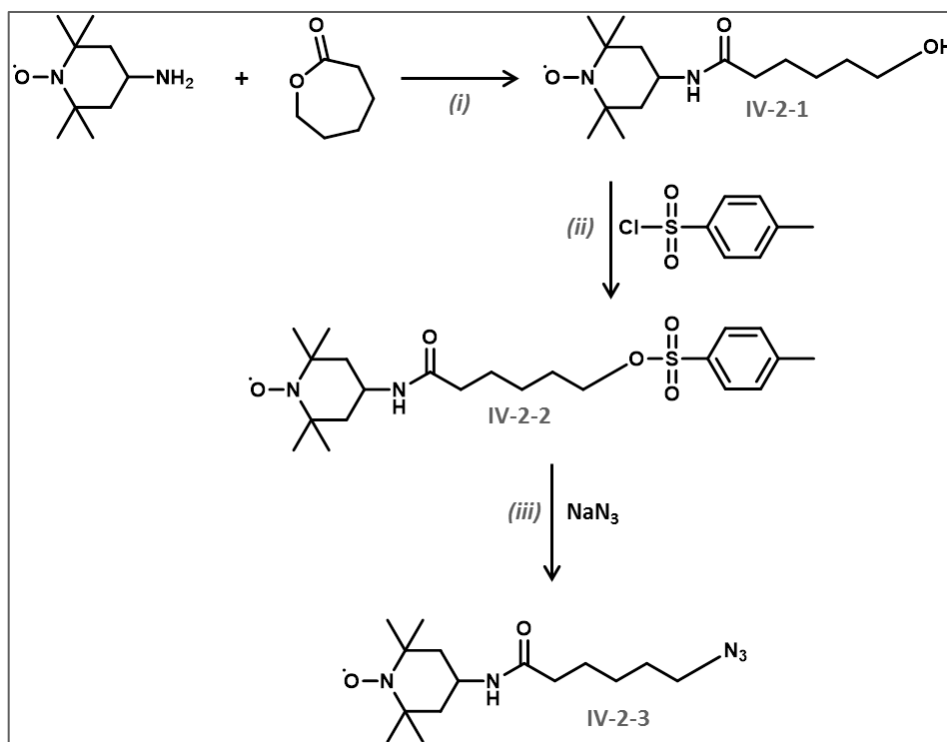


Figure 96 : Voie de synthèse du TEMPO-N<sub>3</sub>. (i) Ouverture de cycle de l'ε-caprolactone : 2 heures à reflux. (ii) Tosylation : Et<sub>3</sub>N, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhydre, T<sub>a</sub>, 2.5 heures. (iii) Substitution nucléophile : EtOH, T<sub>a</sub>, nuit.

La structure radicalaire des composés synthétisés leur conférant des propriétés paramagnétiques, ils n'ont pas été analysés par RMN. En revanche, les composés IV-2-1, IV-2-2, et IV-2-3, ont été analysés par ESI-HRMS, respectivement Figure 97, Figure 98, et Figure 99.

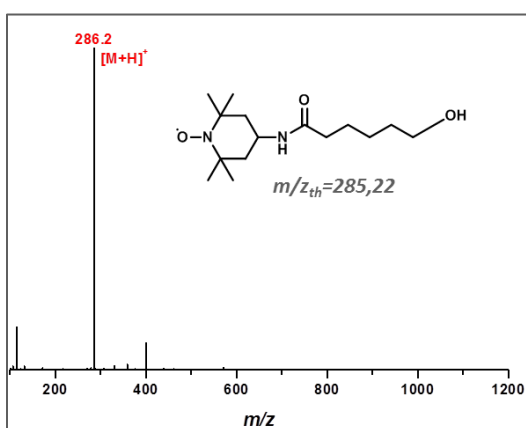


Figure 97 : Analyse ESI-HRMS du composé IV-2-1.

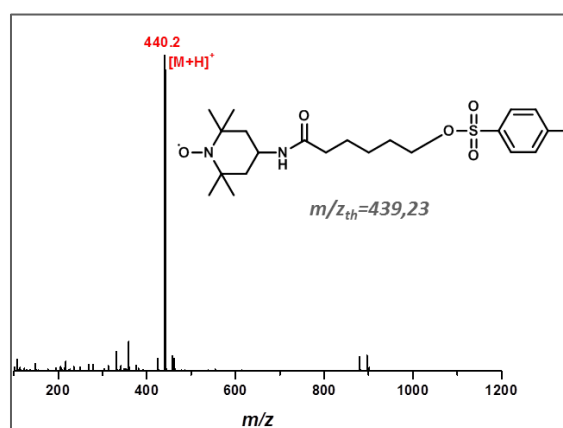


Figure 98 : Analyse ESI-HRMS du composé IV-2-2.

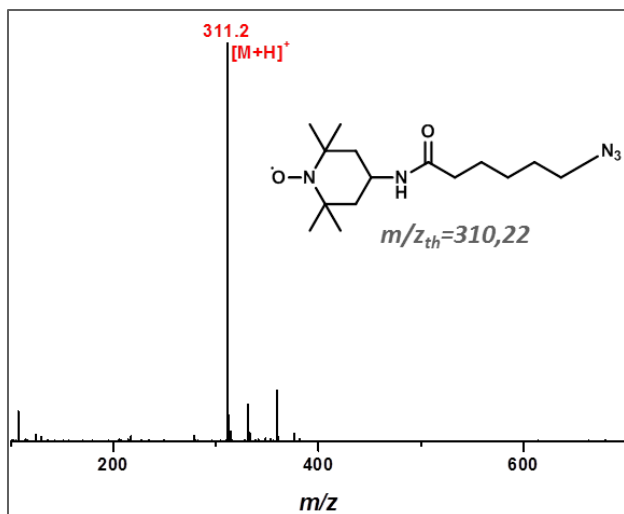


Figure 99 : Analyse ESI-HRMS du composé IV-2-3. Les fragments non annotés ne sont pas propres à l'échantillon.

Pour chacun des composés synthétisés, l'analyse par spectrométrie de masse a permis de confirmer la structure désirée, et d'attester de sa pureté. Le composé **IV-2-3** a donc été utilisé comme TEMPO-N<sub>3</sub> pour la synthèse des oligomères dans ce chapitre.

## 2.2 Synthèse du comonomère codant : la cyclooctyne

### 2.2.1 Voie A : Synthèse du 2-(cyclooct-2-yn-1-yloxy)ethyl 2-bromo-2-methylpropanoate

La cyclooctyne à synthétiser porte l'unité codante. Le composé final doit alors être une cyclooctyne – capable de réagir par SpAAC avec l'azoture du TEMPO-N<sub>3</sub> – fonctionnalisée avec une extrémité bromée similaire à celle de l'anhydride 2-bromo-2-méthylpropanoïque, afin de réagir par couplage radicalaire avec le TEMPO-N<sub>3</sub>. La première structure visée a ainsi été celle du 2-(cyclooct-2-yn-1-yloxy)ethyl 2-bromo-2-methylpropanoate, dessiné Figure 100. Les conditions expérimentales et analyses de cette section sont détaillées dans la **Partie Expérimentale**.

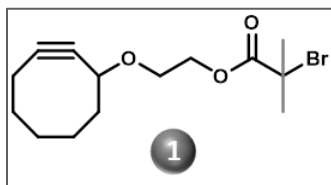
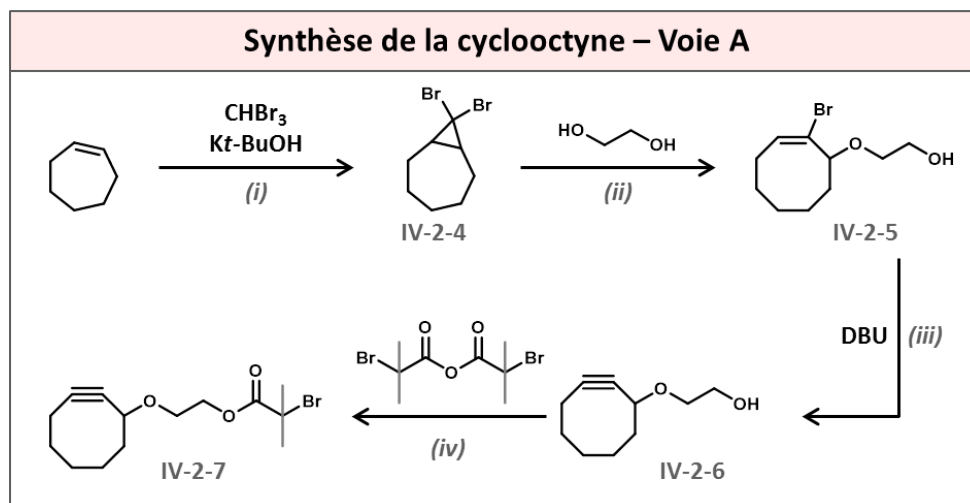


Figure 100 : Structure visée de la cyclooctyne codant pour 1.

La synthèse du composé s'est effectuée en 4 étapes, détaillées Figure 101. La littérature rapporte de nombreuses synthèses de cyclooctynes partant du cycloheptène qui se transforme en 8,8-dibromobicyclo[5.1.0]octane en présence de bromoforme.<sup>[185, 186]</sup> Ainsi, l'étape (i) a permis la synthèse du composé **IV-2-4**, avec un rendement de 84%. En s'appuyant sur la littérature, le diéthanol a été ajouté en présence de perchlorate d'argent pour former le composé **IV-2-5** avec une double liaison C=C

bromée.<sup>[187]</sup> Le produit a été obtenu sous forme d'huile jaunâtre avec un rendement de 44%. Puis l'élimination du brome en présence de DBU étape (iii) a permis la formation de la triple liaison pour obtenir le composé **IV-2-6** avec un rendement de 21%. Enfin, l'estérification étape (iv) avec l'anhydride bromé, en présence d'HBTU et de DMAP a mené à l'obtention du composé **IV-2-7** avec un rendement de 50%.<sup>[24]</sup>

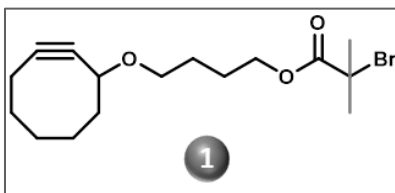


**Figure 101 : Synthèse de la cyclooctyne voie A. Conditions expérimentales : (i) Hexane, nuit, T<sub>a</sub>, (ii) Acétone anhydre, AgClO<sub>4</sub> anhydre, T<sub>a</sub>, 1h, protection de la lumière. (iii) DMSO, 60°C, nuit. (iv) HBTU, DMAP, THF, 40°C au micro-onde, 90min.**

Le composé final a été obtenu avec un rendement global de 3,9%. Ce rendement est très faible. C'est pourquoi un travail d'optimisation a été entrepris. La voie de synthèse optimale à ce jour est décrite dans la section suivante.

### 2.2.2 Voie B : Synthèse du 4-(cyclooct-2-yn-1-yloxy)butyl 2-bromo-2-méthylpropanoate

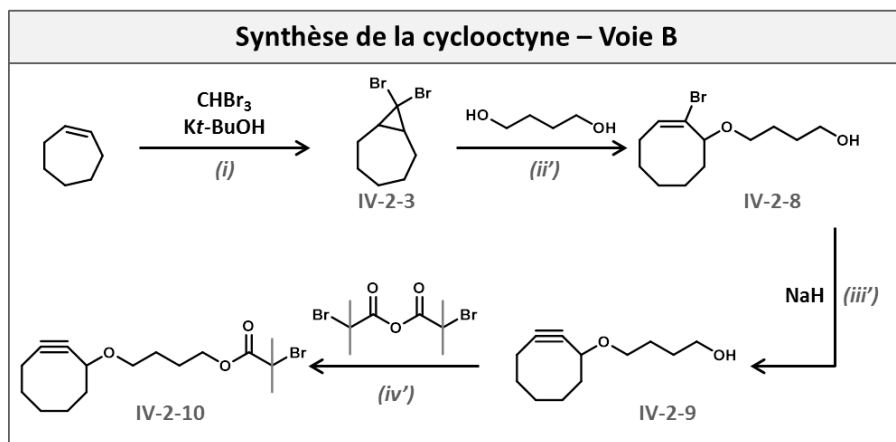
La nouvelle voie de synthèse implique également 4 étapes et mène à la synthèse du 4-(cyclooct-2-yn-1-yloxy)butyl 2-bromo-2-méthylpropanoate dessiné Figure 102. Les conditions expérimentales et analyses de cette section sont détaillées dans la **Partie Expérimentale**.



**Figure 102 : Structure finale visée de la cyclooctyne codant pour 1.**

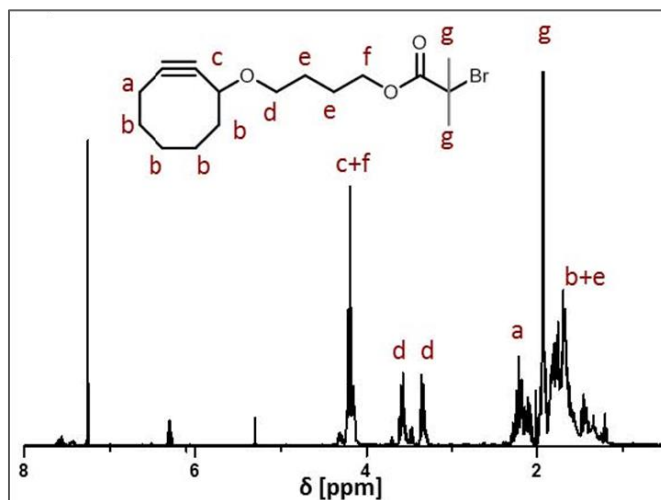
L'étape 1 présente un rendement de 84% et permet d'être lancée sur plusieurs grammes, elle a donc été conservée pour cette voie de synthèse, détaillée Figure 103. L'étape (ii') d'addition du 1,4-butanediol, basée sur la littérature, s'est déroulée en présence de perchlorate d'argent, à l'abri de la lumière, en milieu anhydre, à reflux pendant 4 heures.<sup>[188]</sup> Le composé **IV-2-8** a été obtenu sous forme d'huile jaune avec un rendement de 70%. Puis l'étape (iii') de réduction en triple liaison s'est tenue en

présence d'hydrure de sodium, en milieu anhydre pendant 5 heures. Après purification sur colonne de silice, le composé **IV-2-9** a ainsi été obtenu avec un rendement de 58%. Enfin, l'estérification s'est effectuée dans le dichlorométhane pendant 24 heures, en présence de DCC et de DMAP.<sup>[106]</sup> Après purification sur colonne de silice, cette approche a permis l'obtention du composé **IV-2-10** avec un rendement quantitatif.



**Figure 103 : Synthèse de la cyclooctyne voie B. Conditions expérimentales : (i) Hexane, nuit,  $T_a$  (ii')  $\text{AgClO}_4$  anhydre, Toluène anhydre, Pyridine anhydre, reflux, 4 heures, protection de la lumière. (iii') DMF/THF (50/50),  $T_a$ , 5h. (iv') DCC, DMAP,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $T_a$ , nuit.**

Les composés synthétisés ont été analysés par RMN et spectrométrie de masse. Une RMN couplée carbone-proton a permis d'attribuer tous les protons au composé final **IV-2-10**, comme le montre la Figure 104. La synthèse complète présente un rendement total de **33%**, soit presque 10 fois supérieur à la **Voie A**. Le composé **IV-2-10** obtenu par cette méthode a donc été utilisé pour la synthèse d'oligo(alcoxyamine triazole)s.



**Figure 104 : RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) du composé IV-2-10.**



### 3. Synthèses d'oligomères

Les deux comonomères nécessaires à la synthèse itérative ayant été obtenus, une étude préliminaire a été menée sur la synthèse d'oligo(alcoxyamine triazole)s, dont la stratégie a été décrite Figure 94. Afin d'évaluer la réactivité de la cyclooctyne synthétisée, une première étude s'est effectuée par suivi RMN de réactions modèles. Dans cette section, les travaux ont été effectués avec l'aide de Guillaume Fiers.

#### 3.1 Réactions modèles

##### 3.1.1 Réaction 1 dans l'acétonitrile

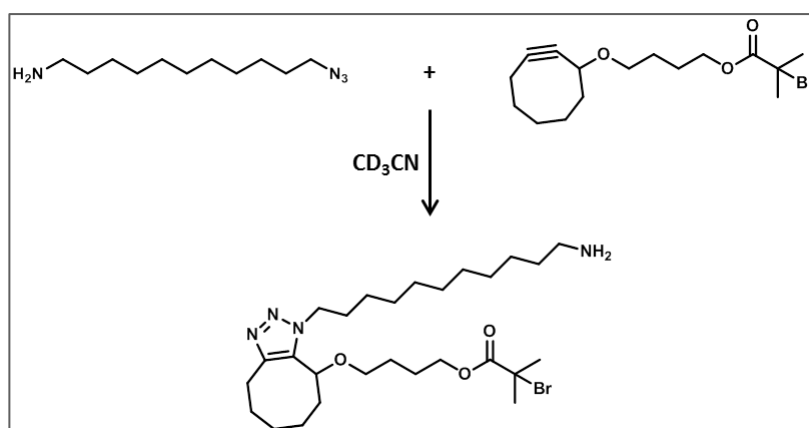


Figure 105 : Réaction 1 menant à la formation du composé IV-3-1 suivie par RMN <sup>1</sup>H.

Dans un premier temps, un test de réaction SpAAC a été effectué dans un tube RMN, afin de vérifier la réactivité du composé sur une petite quantité, et de pouvoir évaluer la vitesse de la réaction. Le TEMPO-N<sub>3</sub> étant un composé paramagnétique, il n'était pas possible de le faire réagir avec la cyclooctyne IV-2-10. Un autre composé azoture synthétisé dans l'équipe, le 11-azoture-1-aminodécane, a été utilisé pour réaliser la réaction 1 test, représentée Figure 105, dans un tube RMN. 2 équivalents de cyclooctyne ont été ajoutés à 1 équivalent d'azoture, dans de l'acétonitrile deutéré. En effet, de nombreux exemples de SpAAC se tiennent dans ce solvant.<sup>[189, 190]</sup> Les analyses obtenues n'ont cependant pas été concluantes. L'interprétation des spectres RMN n'a pas permis de conclure à la formation d'un triazole. Deux hypothèses ont été avancées pour expliquer ce résultat. D'une part, la présence d'un précipité blanc dans le tube a témoigné d'un manque de solubilité de la cyclooctyne dans ce solvant. D'autre part, la présence d'une amine en bout de chaîne de l'azoture pourrait induire d'autres réactions au sein du milieu. C'est pourquoi une nouvelle réaction test a été étudiée.

### 3.1.2 Réaction 2 dans le chloroforme

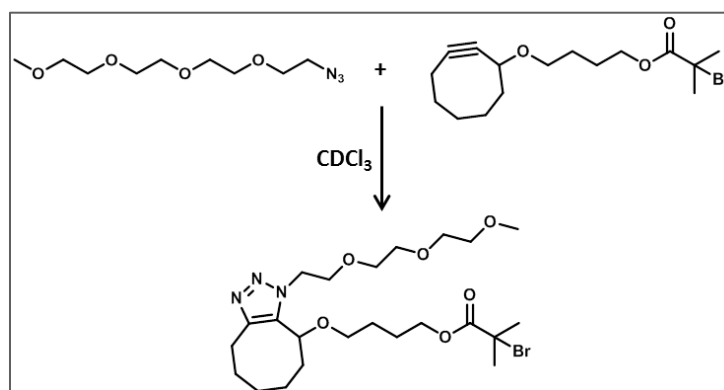


Figure 106 : Réaction 2 menant à la formation du composé IV-3-2 suivie par RMN <sup>1</sup>H.

Cette nouvelle réaction 2, représentée Figure 106, a cette fois-ci été effectuée dans le chloroforme deutéré. L'azoture utilisé est un composé PEGylé synthétisé par l'équipe. Les spectres RMN 1H des deux composés mis en jeu sont représentés Figure 107 et Figure 108. Les protons a et c de la cyclooctyne, ainsi que les protons d de l'azoture devraient se décaler lors de la formation du triazole.

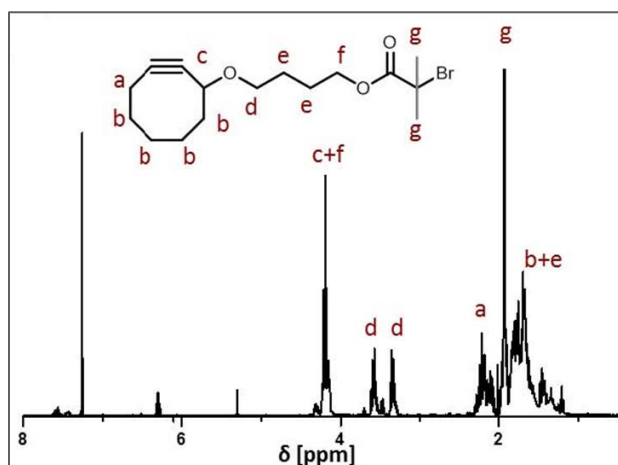


Figure 107 : RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) du composé IV-2-10.

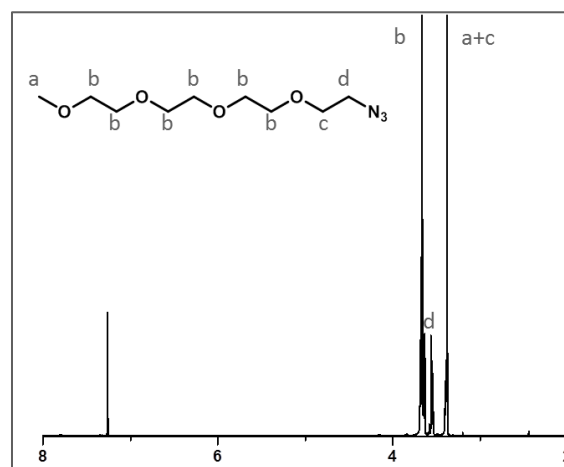


Figure 108 : RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) de l'azoture PEGylé.

Les évolutions majeures, représentées Figure 109, ont été observées aux environs de 4.2 ppm, sur le signal intégrant pour le proton c du composé IV-2-10, ainsi que vers 1.92 ppm, pour les protons b du cycle. Dès le début de la réaction, un décalage est observé, certainement dû aux interactions non covalentes des deux composés mélangés. Ce décalage ne peut pas témoigner d'une réaction déjà terminée, puisque la cyclooctyne est introduite en excès dans le milieu, son signal de départ devrait donc rester présent. En revanche, des modifications apparaissent à partir de 1500 minutes, traduisant certainement la formation du triazole. Cette cinétique semble très lente, et une fois de plus, un léger problème de solubilité de la cyclooctyne est observé.

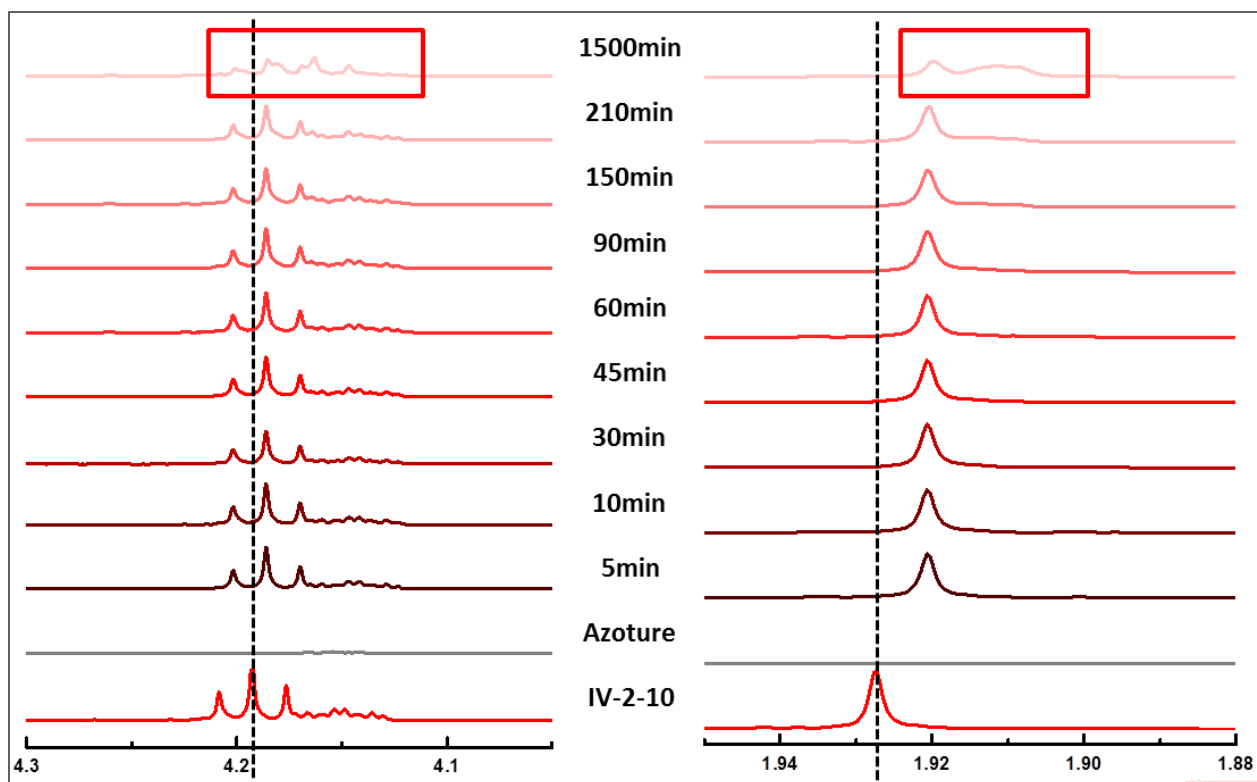


Figure 109 : Suivi RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) de la réaction 2. Zoom sur la partie de 4.3 à 4.0 ppm relative au proton c de la cyclooctyne à gauche, et de 1.95 à 1.88 ppm à droite, relative aux protons b de la cyclooctyne ; et sur la partie

### 3.1.3 Réaction 3 dans le mélange méthanol/eau

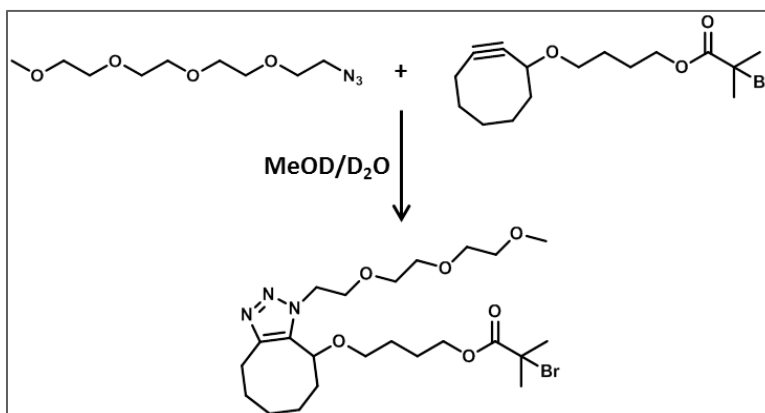


Figure 110 : Réaction 3 menant à la formation du composé IV-3-3 suivie par RMN  $^1\text{H}$ .

Dans le but d'accélérer cette réaction, et afin de se débarrasser des problèmes de solubilité rencontrés ci-avant, un dernier test a été réalisé en changeant de solvant de réaction. L'étape de SpAAC est souvent effectuée dans l'acétonitrile. Cependant, un manque de solubilité de la cyclooctyne a été observé dans ce solvant lors des études précédentes par RMN. En outre, il a été démontré que généralement, plus la proportion en eau augmente, plus la réaction est favorisée.<sup>[191]</sup> Afin de

contrebalancer le fait que l'eau est un non-solvant pour la résine et induit ainsi sa rétraction, rendant plus difficile l'accès aux sites réactionnels, le solvant de réaction choisi a donc été le mélange MeOD/D<sub>2</sub>O (80/20). Ainsi, si cette étude cinétique est concluante, ce mélange pourra être choisi comme solvant de réaction lors de la synthèse de poly(alcoxyamine triazole)s. Le composé **IV-2-10** et l'azoture ont respectivement été analysés par RMN 1H Figure 111 et Figure 112 dans ce mélange.

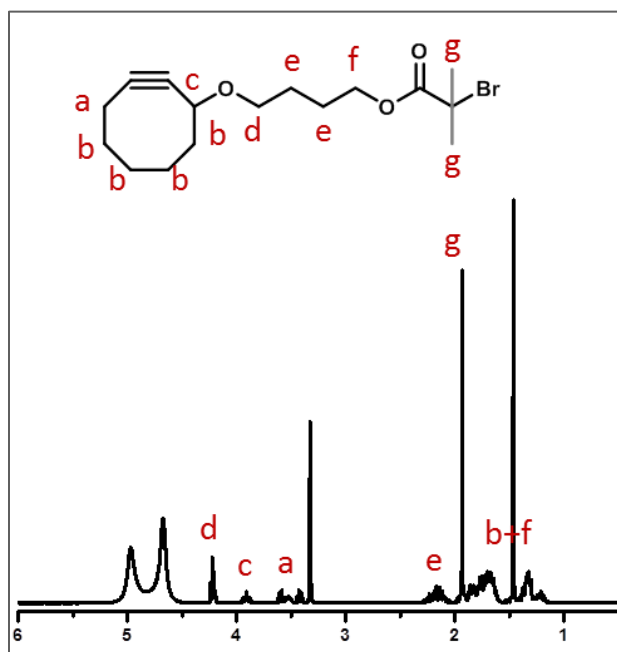


Figure 111 : RMN <sup>1</sup>H (MeOD/D<sub>2</sub>O ; 80/20) du composé IV-2-10.

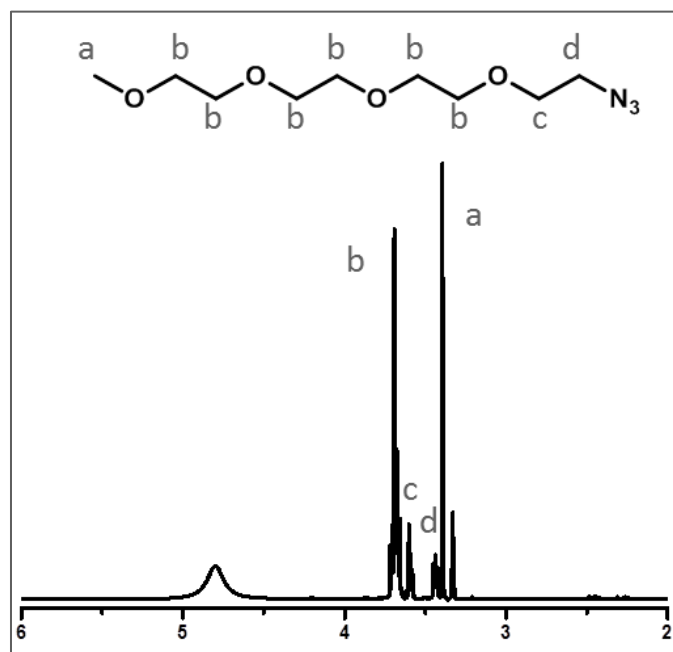


Figure 112 : RMN <sup>1</sup>H (MeOD/D<sub>2</sub>O ; 80/20) de l'azoture PEGylé.

Le suivi le plus probant a été réalisé aux environs de 3.92 ppm, correspondant au proton **c** du composé **IV-2-10**. Un zoom sur le suivi cinétique a été effectué Figure 113 au niveau de cette région. Une déformation du signal est observée à partir de 20 minutes de réaction environ. Par ailleurs, un suivi CCM a été réalisé en parallèle. L'apparition d'une nouvelle tâche traduisant la formation du triazole est observée dès 10 minutes de réaction.

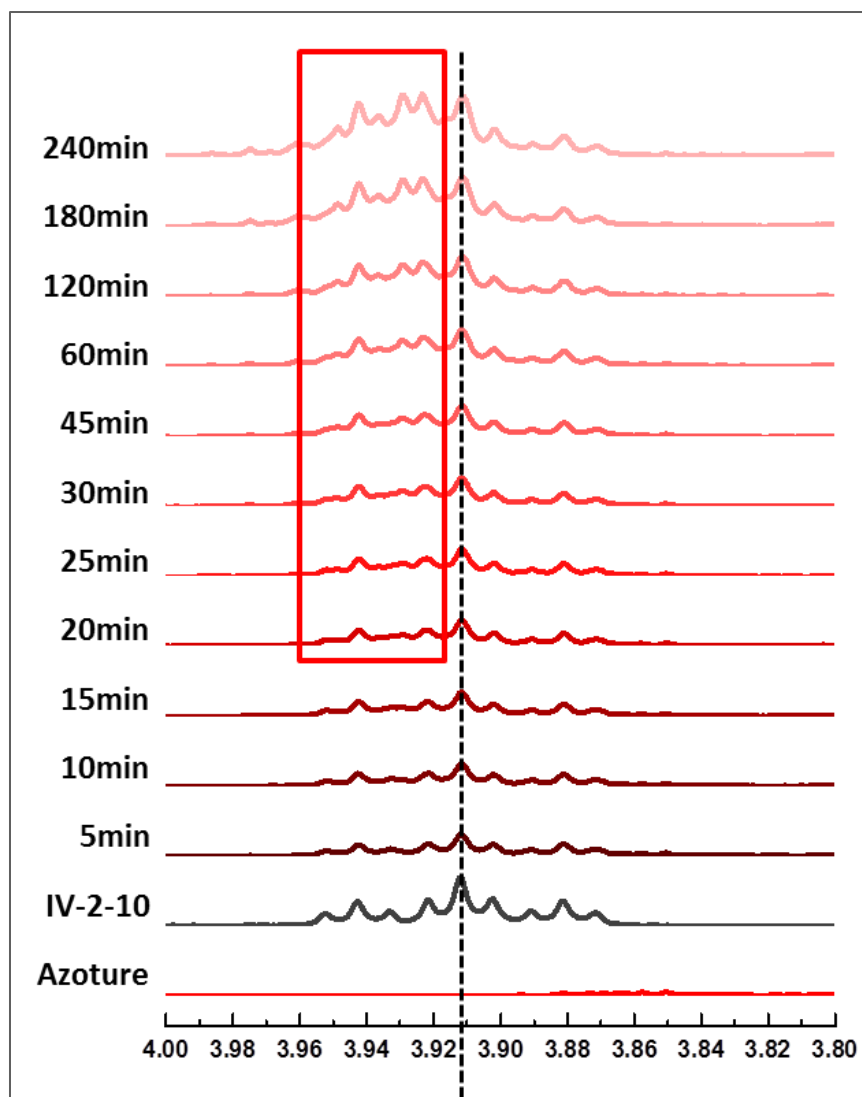


Figure 113 : Suivi RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) de la réaction Zoom sur la partie de 4.00 ppm à 3.80 ppm relative au proton c de la cyclooctine.

On peut donc conclure, d'une part, que le composé **IV-2-10** synthétisé est actif lorsqu'il est mis en jeu dans un SpAAC, et d'autre part que le mélange MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$  semble être le meilleur solvant pour une formation rapide du triazole. Cette étude préliminaire ayant été réalisée, des premières synthèses d'oligo(alcoxyamine triazole)s ont été effectuées.

### 3.2 Synthèse itérative sur support $R_{GW}$

La synthèse du composé **IV-3-3**, codant pour **[111]**, a été réalisée sur 50 mg du support  $R_{GW}$ , en suivant la stratégie décrite Figure 94, avec les monomères **IV-2-3** et **IV-2-10**. Dans un premier temps, toutes les étapes ont été effectuées à température ambiante. L'étape de couplage radicalaire a été effectuée dans les mêmes conditions que dans les **chapitres II** et **III**, en présence de cuivre et du ligand  $Me_6TREN$ , dans le DMSO anhydre, sous argon, et ce pendant une heure. L'étape de SpAAC s'effectue sans catalyseur, en atmosphère non-inerte. En se basant sur les observations précédentes, le solvant de réaction choisi a été le mélange MeOH/H<sub>2</sub>O (80/20). Afin de maximiser les chances d'obtenir un oligomère en fin de synthèse, cette étape de SpAAC s'est tenue chaque fois pendant 1,5 heures. En effet, l'étude cinétique a montré qu'un triazole se formait en quelques minutes dans le tube RMN, mais les synthèses sur support solide sont plus lentes, puisque l'accès aux sites réactionnels est plus difficile qu'en solution. A la fin de la synthèse, l'oligomère a été clivé de son support en conditions acides puis précipité dans l'éther. Le composé **IV-3-3** a été obtenu avec un rendement de 10% puis analysé par SEC Figure 114.

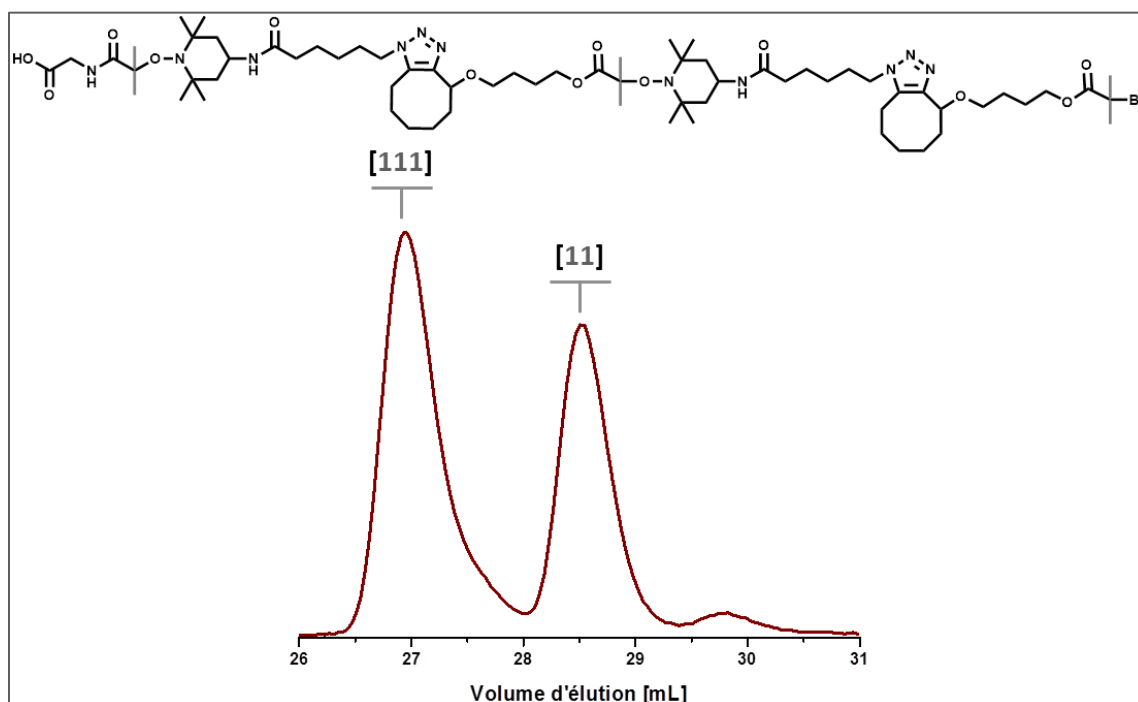


Figure 114 : Analyse SEC du composé **IV-3-3**.

L'allure polymodale du chromatogramme indique la présence dans l'échantillon de l'oligomère recherché codant pour **[111]** ainsi qu'un plus court codant pour **[11]**. Ceci indiquerait que l'une des deux étapes – couplage radicalaire ou SpAAC – ne présente pas un rendement total dans les conditions de réaction. Le composé a également été analysé par spectrométrie de masse Figure 115.

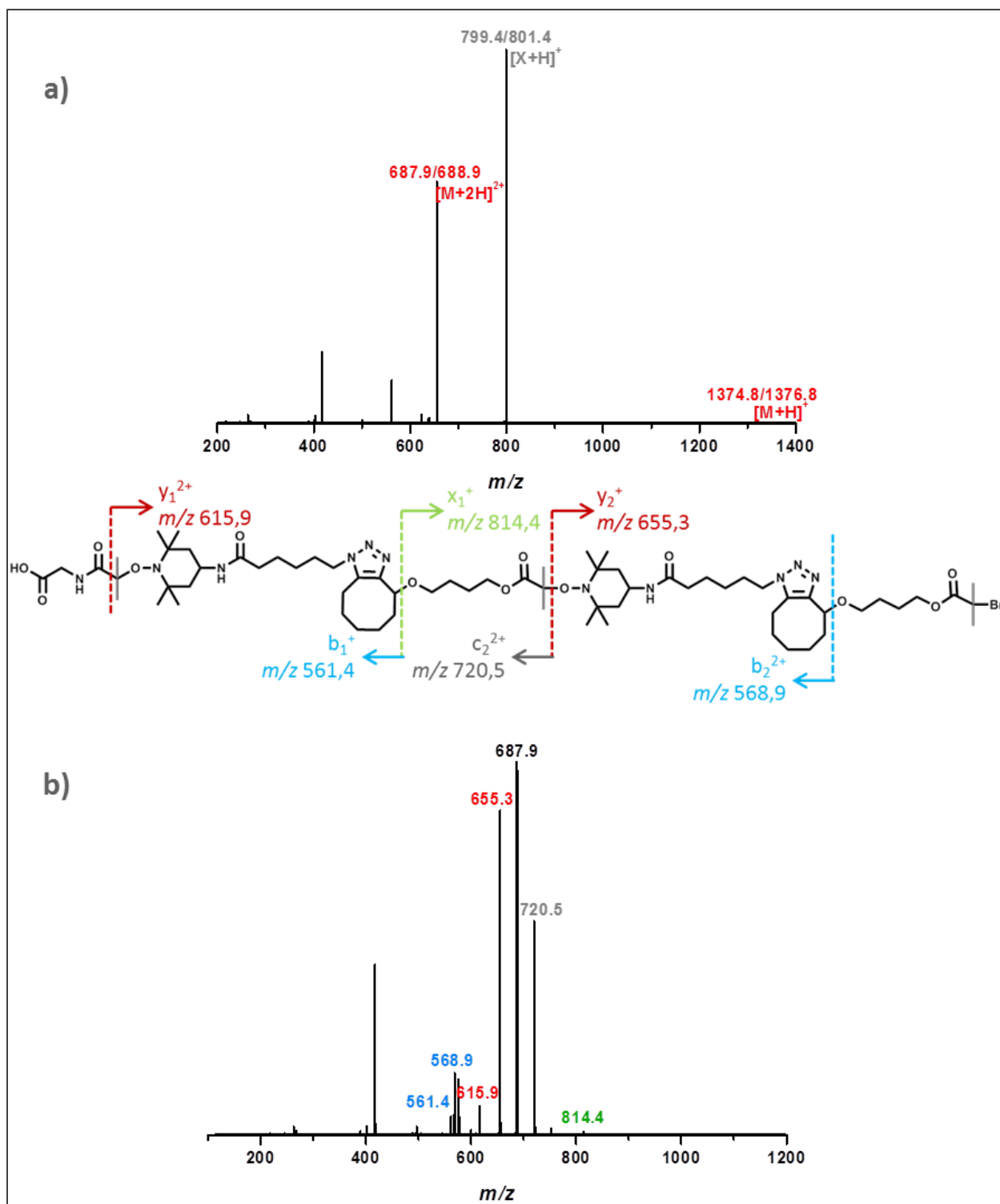


Figure 115 : Analyse du composé IV-3-3 par spectrométrie de masse. a) Spectre ESI-HRMS. b) Spectre MS/MS de l'ion précurseur à 687.9 Da.

Le spectre ESI-HRMS indique la présence de la structure recherchée sous ses formes protonée et diprotonée, ainsi que celle d'un autre composé X sous sa forme protonée. L'ion précurseur du composé **IV-3-3** a été fragmenté en spectrométrie de masse tandem. Le séquençage des oligo(alcoxyamine triazole)s par MS/MS induit deux chemins de fragmentation : un premier au niveau des liaisons alcoxyamines, et un second au niveau de la liaison C-O en  $\alpha$  de la double liaison du cycloalcène. Par ailleurs, l'impureté X a également été analysée par MS/MS Figure 116. Son chemin de fragmentation ainsi que sa masse indique bien la présence d'un composé codant pour **[11]**, finissant par une unité codante bromée. Cette structure indiquerait que l'étape de couplage de couplage radicalaire est incomplète dans ces conditions.

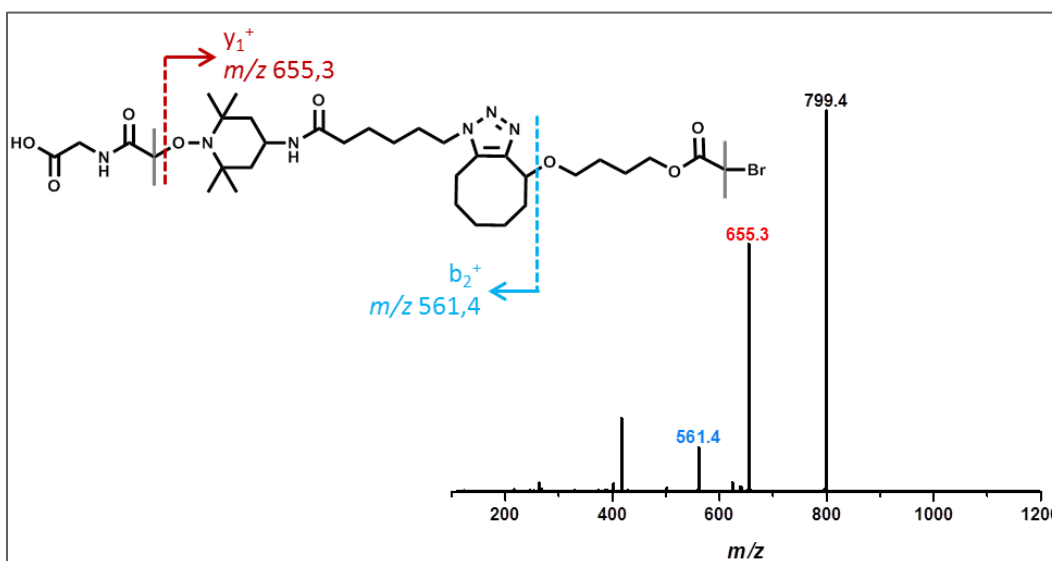


Figure 116 : Spectre MS/MS de l'ion précurseur à 799.4.

Un nouvel oligo(alcoxyamine triazole) codant pour **[111]**, le composé **IV-3-4**, a alors été synthétisé dans de nouvelles conditions. L'emploi du micro-onde s'était avéré pertinent lors de l'optimisation des conditions dans le **Chapitre II**. C'est pourquoi cet oligomère a été synthétisé dans les mêmes conditions de réaction que précédemment, mais en ajoutant une chauffe de 40°C au micro-onde pour chaque étape de couplage radicalaire et de SpAAC. Les temps de réaction sont restés les mêmes – une heure pour le couplage, 1,5 heures pour la SpAAC. Après clivage et précipitation, le composé **IV-3-4** a été analysé par SEC **Figure 117**, et par spectrométrie de masse **Figure 118**.

De très légers épaulements sont visibles sur le chromatogramme SEC, indiquant que ces nouvelles conditions ont permis d'améliorer le rendement de chaque étape. De plus, le spectre ESI-HRMS indique la présence unique de la structure désirée. Une fois de plus, le séquençage par MS/MS induit deux chemins de fragmentation.



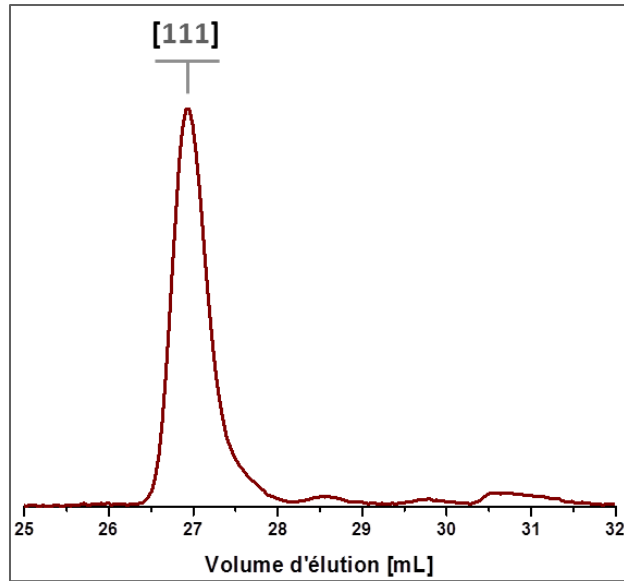


Figure 117 : Analyse SEC du composé IV-3-4.

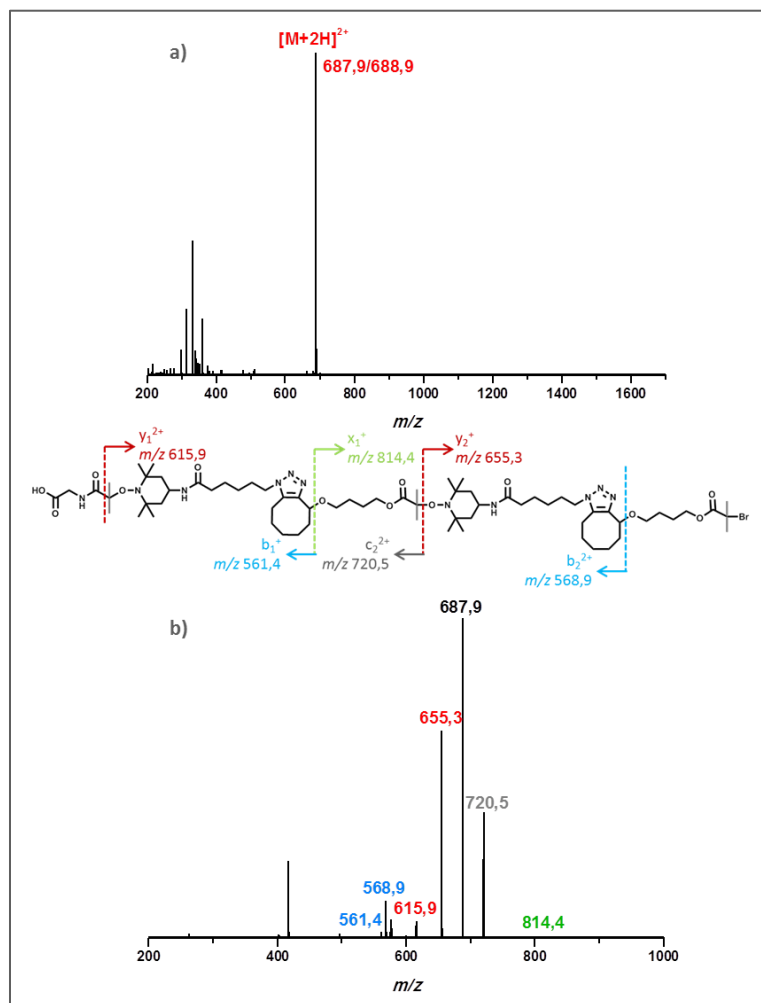


Figure 118 : a) Spectre ESI-HRMS du composé IV-3-4. Les pics non annotés à gauche ne sont pas propres à l'échantillon. b) Spectre MS/MS de l'ion précurseur à 687,9. Le pic non annoté à gauche est un fragment interne.

## 4. Conclusion et perspectives

Pour cette étude préliminaire sur la synthèse itérative de poly(alcoxyamine triazole)s à séquences contrôlées, une première conclusion peut être faite sur la synthèse des monomères. La synthèse du TEMPO-N<sub>3</sub> s'effectue en trois étapes qui présentent de bons rendements, elle peut donc être validée. La synthèse de la cyclooctyne est quant à elle plus délicate. Malgré de nombreux essais d'optimisation, elle s'effectue toujours en 4 étapes nécessitant des étapes de purifications chronophages. D'autres optimisations restent certainement à apporter à ce niveau.

Par ailleurs, les premiers essais de synthèse d'oligomères se sont avérés concluants. L'utilisation du micro-onde semble indispensable à l'étape de couplage radicalaire, cependant une étude permettrait de réduire le temps de réaction. De même, les premiers essais de SpAAC se sont déroulés pendant 1,5 heures afin d'optimiser les chances d'obtenir de bons rendements de réaction. Il est cependant possible que ce temps de réaction puisse être réduit considérablement. De plus, la structure de la cyclooctyne synthétisée dans ce chapitre appartient à une première génération de cyclooctyne, aliphatiques. D'autres structures, détaillées Figure 119, telles que les mono- puis bi-fluorées ont permis d'améliorer la réactivité de la triple liaison en insérant un groupement électro-attracteur en position  $\alpha$ .<sup>[180, 192]</sup> Plus récemment, une nouvelle génération de cyclooctynes dibenzoannulées a été développée.<sup>[190]</sup> Leur grande réactivité est due à l'augmentation de la contrainte de cycle induite par les nombreux carbones hybridés sp<sup>2</sup>. Si les cinétiques obtenues pour la SpAAC avec la structure **IV-2-10** s'avèrent trop lentes, il serait donc envisageable de s'inspirer des structures citées ci-avant.

Enfin, seule la cyclooctyne fonctionnalisée codant pour **1** a été synthétisée pour le moment. La même approche devrait être utilisée pour synthétiser son équivalent codant pour **0**. Ainsi, des oligo(alcoxyamine triazole)s porteurs d'un code binaire pourraient être synthétisés.

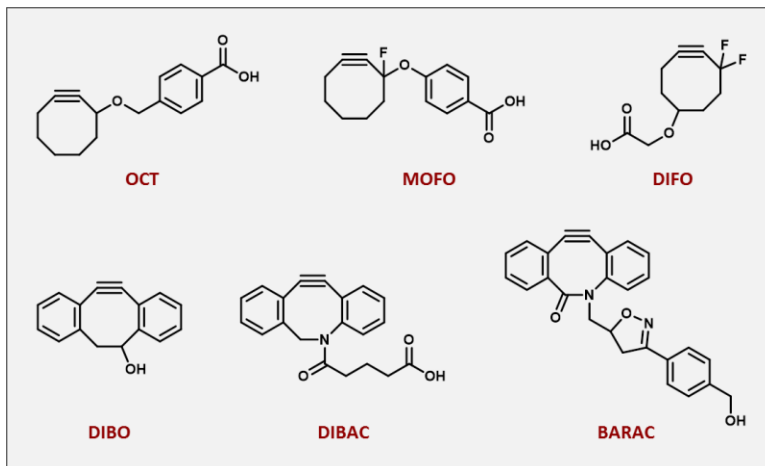


Figure 119 : Structure de cyclooctynes reportées dans la littérature, de la moins réactive à la plus réactive.



# Conclusion Générale

---



Pour conclure, les travaux de cette thèse ont été consacrés à la synthèse itérative supportée de polymères à séquences contrôlées, par emploi d'une stratégie orthogonale « AB+CD », pour l'encodage de données binaires. La majorité des travaux s'est portée sur la synthèse de poly(alcoxyamine amide)s, et le **Chapitre II** s'est plus particulièrement tourné vers l'étude approfondie de leur synthèse, en optimisant les conditions de réactions, ce sur différents supports. La synthèse des poly(alcoxyamine amide)s a mis en jeu deux réactions orthogonales : le couplage radicalaire et le couplage acide-amide. Pour ce faire, deux types de comonomères ont été employés : le TEMPO-NH<sub>2</sub> avec une fonction amine **A** et une fonction nitroxyde **B**, utilisé en tant qu'espaceur, ainsi qu'un anhydride bromé avec une fonction acide **C** et carbone bromé en  $\alpha$  **D**, utilisé en tant qu'unité codante. Il a en effet été défini arbitrairement que l'anhydride 2-bromo-2-méthylpropanoïque code pour **1**, alors que l'anhydride 2-bromo-2-propanoïque code pour **0**.

Les premiers travaux ont été réalisés sur la résine **R<sub>GW</sub>**. Ils ont permis de mettre en évidence l'aspect pratique de la synthèse itérative sur support solide. En effet, dans cette approche, les réactifs sont introduits en excès dans un tube SPE. Puis, à la fin de chaque étape, les composés n'ayant pas réagi pour se fixer à la chaîne en croissance sur les billes de résine sont éliminés par simple lavage. Cette approche permet donc de se libérer des étapes de purification, sur colonne de silice par exemple, chronophages. Par ailleurs, l'optimisation des conditions de réaction a montré que l'emploi du micro-onde pour les étapes de couplage radicalaire était pertinent pour obtenir des rendements quantitatifs à chaque étape, nécessaires à l'obtention d'un polymère isomoléculaire. Ainsi, une bibliothèque de 8 oligo(alcoxyamine amide)s codant pour 3 bits, ainsi que des polymères contenant jusqu'à un octet d'informations ont été synthétisés. En outre, la présence de liaisons alcoxyamines au sein de la structure s'est avérée intéressante pour un séquençage par spectrométrie de masse tandem. En effet, ces liaisons thermolabiles rompent sous l'effet d'un clivage homolytique. Ainsi, en envoyant une faible énergie au composé analysé, le chemin de fragmentation de ce dernier est prédictible. Les masses de chaque fragment dépendant des unités codantes contenues – **0** ou **1** –, le séquençage par MS/MS a chaque fois permis de décoder les codes binaires incrémentés le long des chaînes.

Par la suite, la synthèse itérative des poly(alcoxyamine amide)s a été étudiée sur d'autres supports. En particulier, la synthèse « AB+CD » a été effectuée sur des supports solubles qui présentent certains avantages par rapport aux résines. En effet, un support soluble est soluble dans les conditions d'ajouts de monomères, et peut précipiter dans un non-solvant. Les ajouts de monomères s'effectuent donc en solution – avec de meilleures accessibilités aux sites réactifs que sur support solide – puis la purification se fait par précipitation. Des oligo(alcoxyamine amide)s ont été synthétisés sur différents supports solubles polystyrène synthétisés par ATRP. Leurs différents taux de fonctionnalisation ont permis de mettre en avant l'influence de ce dernier lors de la synthèse itérative. En effet, un taux de fonctionnalisation trop élevé induit des réactions inter-chaînes formant des ponts, augmentant ainsi la polymolécularité de l'échantillon. En revanche, l'inconvénient majeur de l'emploi de ce type de support demeure le faible taux de précipitation à la fin de chaque étape. C'est pourquoi un dernier support a été

étudié : le support fluoré. Ce support combine à la fois les avantages de la synthèse en solution – comme le support soluble – et la facilité de purification – comme le support solide. La chaîne perfluorée utilisée en tant que support est soluble dans les conditions d'ajouts de monomères. Puis la purification s'effectue sur colonne de silice per-fluorée. Un lavage avec un éluant fluorophobe permet d'ôter tous les composés non-attachés au support, puis une élution avec un solvant fluorophile permet de récupérer le support avec la chaîne en croissance. Cependant, de nombreux problèmes de purification ont été rencontrés lors de la synthèse d'oligo(alcoxyamine amide)s. Les rendements de récupération étaient très faibles, notamment après les étapes de couplage radicalaire. L'hypothèse a été avancée que la présence d'une amine primaire en bout de chaîne pouvait engendrer des interactions avec la colonne, menant à des problèmes de rétention. Cette hypothèse pourrait être validée en essayant la synthèse itérative de polymères à séquences contrôlées avec une autre structure, n'impliquant pas de bout de chaîne  $-NH_2$  au cours de la synthèse.

Ces études menées **Chapitre II** ont permis de mettre en avant la pertinence du choix des réactifs et des réactions mises en jeu pour la synthèse itérative de polymères à séquences contrôlées pour l'encodage de données. De plus, la structure des poly(alcoxyamine amide)s permet un décodage aisé par spectrométrie de masse tandem.

Une preuve de concept ayant été obtenue pour l'encodage de données via la synthèse de poly(alcoxyamine amide)s à séquences contrôlées, les études du **Chapitre III** ont été orientées vers l'optimisation de la synthèse pour l'écriture, le stockage, et la lecture d'informations digitales. Dans un premier temps, quatre diades ont été synthétisées pour mettre en place une stratégie convergente. La synthèse de diades sur résine  $R_W$  a permis de mettre au point des conditions d'estérification avec les anhydrides bromés. Puis, les ligations successives de ces diades ont permis des synthèses plus rapides de longues chaînes, contenant jusqu'à 10 bits d'informations. Cette étude a permis d'apercevoir les limites d'une telle synthèse. En effet, l'analyse par spectrométrie de masse du plus long polymère a mis en évidence l'apparition de composés cycliques. Ces observations laissent supposer que le nombre de réactions interchaînes risque d'augmenter si la longueur des chaînes augmente.

Fort de ces observations, une nouvelle étude a été menée dans le but d'augmenter la quantité d'informations contenues au sein d'un échantillon, tout en ne nécessitant pas d'augmenter la longueur des chaînes oligo(alcoxyamine amide)s. Le concept est basé sur l'optimisation de l'espace sur un spectre de masse. Pour ce faire, des chaînes isomoléculaires de masses différentes ont été synthétisées par voie itérative sur support solide  $R_{GW}$ . Une fois en solution, elles ont été mélangées puis le mélange a été analysé par ESI-HRMS. Grâce à la polymolécularité intentionnellement induite par ce mélange, le spectre obtenu a donc présenté un pic par chaîne de taille différente, bien plus optimisé que lors de l'analyse d'un échantillon isomoléculaire dont le spectre ne contient qu'un seul pic. Puis, le séquençage par MS/MS de chacun de ces pics a permis de décoder deux échantillons, codant pour les acronymes

« CNRS » et « CMP », et contenant respectivement 32 et 24 bits d'informations. Cette approche a donc permis de coder de plus longs messages, sans avoir à augmenter la longueur des chaînes synthétisées. En outre, l'utilisation de tels codes-barres moléculaires pourrait trouver son application dans la lutte anti-contrefaçon, en étiquetant les matériaux avec une faible fraction de ce code-barres dans la matrice. Cependant, les liaisons alcoxyamines induisent une dégradation du composé à 60°C, température qui pourrait être atteinte lors des processus de mise en œuvre. C'est pourquoi ce concept devrait s'appliquer à des polymères à séquences contrôlées présentant d'autres architectures, tel que les poly(uréthane)s.

Enfin, une dernière approche a été envisagée dans le **Chapitre III**, pour faciliter la lecture du code. L'induction intentionnelle de terminaison d'une fraction des chaînes en croissance après chaque ajout d'unité codante a permis de lire le code incrémenté le long des chaînes oligo(alcoxyamine amide)s, sans fragmentation. En effet, lors de la synthèse des polymères, une faible fraction de TEMPO a été ajoutée en présence du TEMPO-NH<sub>2</sub> à chaque étape de couplage radicalaire, induisant la terminaison d'une fraction des chaînes en croissance. Ainsi, après le clivage, des chaînes de différentes tailles correspondant à chaque étape de synthèse étaient présentes au sein de l'échantillon. L'analyse par spectrométrie de masse a permis de recouvrer le code incrémenté en mesurant l'écart entre chaque pic, spécifique à l'unité codante **0** ou **1**. Les premières études ont été réalisées en MALDI-TOF, et elles ont pu mettre en évidence que la structure des poly(alcoxyamine amide)s répond mal à cette technique. En revanche, les résultats ont été concluants lors des analyses par ESI-HRMS.

Le **Chapitre III** a donc développé différents exemples d'optimisation de synthèse pour l'écriture, le stockage, et la lecture d'informations. Une ouverture pourrait être l'étude d'une possibilité de réinscription le long des chaîne poly(alcoxyamine amide)s. En effet, ce polymère possède des liaisons alcoxyamines, thermolabiles. Une étude poussée du comportement dynamique de ces liaisons pourrait être une piste pour la réinscription de données le long d'une chaîne polymère à séquences contrôlées.

Enfin, le **Chapitre IV** a été consacré à l'étude d'un nouveau type d'oligomères encodés, les poly(alcoxyamine triazole)s. Ces polymères ont été synthétisés par synthèse itérative sur support solide *R<sub>GW</sub>*, par stratégie « **AB+CD** ». L'étape de couplage radicalaire a été conservée, tandis que la seconde réaction orthogonale mise en jeu est une SpAAC. Dans cette réaction, un cycloalcyne et un azoture réagissent en absence de catalyseur, pour former rapidement un triazole, la réaction étant accélérée par la torsion du cycloalcyne. C'est pourquoi les deux comonomères utilisés pour la synthèse d'oligomères ont été : l'espaceur TEMPO-N<sub>3</sub> avec une fonction azoture **A** et une fonction nitroxyde **B**, ainsi qu'un comonomère codant, une cyclooctyne présentant une fonction alcyne **C** et carbone bromé en  $\alpha$  **D**. La synthèse du TEMPO-N<sub>3</sub> s'est effectuée en 3 étapes avec de bons rendements, tandis que la synthèse de la cyclooctyne s'est effectuée en 4 étapes, plus longues, avec des rendements plus faibles. La difficulté de synthèse de ce monomère pourrait être un point négatif à la synthèse des poly(alcoxyamine



triazole)s. En revanche, les structures désirées ayant été obtenues, des premiers essais de synthèse d'oligomères ont été effectués. L'étape de SpAAC s'est déroulée en milieu non contrôlé, dans le mélange MeOH/H<sub>2</sub>O (80/20). L'étude par spectrométrie de masse des composés obtenus a démontré que l'utilisation du micro-onde permettait l'obtention d'oligomères isomoléculaires, et était nécessaire à l'étape de couplage radicalaire pour obtenir un rendement total. En outre, le séquençage par MS/MS donne lieu à 2 chemins de fragmentation, un premier au niveau des liaisons alcoxyamines, ainsi qu'un second au niveau des liaisons C-O en  $\alpha$  de la double liaison du cyclooctène.

Les premiers résultats obtenus sur la synthèse d'oligo(alcoxyamine triazole)s sont encourageants, alors que cette étude reste encore à approfondir. Il faudrait en effet synthétiser la cyclooctyne équivalente codant pour **0**, et optimiser les conditions de réaction. L'étape de couplage radicalaire semble plus lente que lors de la synthèse des poly(alcoxyamine amide)s, une étude de nouveaux ligands pourrait être judicieuse. Quant à l'étape de SpAAC, un seul solvant et un seul temps de réaction ont été testés. Ce temps pourrait certainement être diminué, tandis qu'une optimisation du solvant pourrait être effectuée. De plus, la structure de la cyclooctyne pourrait être améliorée afin d'augmenter encore la vitesse de réaction. Il a en effet été démontré que les cyclooctynes fluorées ou bicyclisées sont plus réactives que les aliphatiques. Enfin, puisqu'une nouvelle fragmentation est induite en spectrométrie de masse tandem due à l'utilisation de la cyclooctyne, un nouveau design des monomères pourrait être envisagé afin de mettre en jeu une nouvelle réaction orthogonale à la SpAAC, ne menant pas à la formation de liaisons alcoxyamines. Le choix d'une nouvelle architecture pourrait permettre de répondre à de nouveaux besoins, tels que ceux de la tenue en température pour l'étiquetage anti-contrefaçon par exemple.

En conclusion, les travaux de cette thèse ont ouvert de nouvelles pistes à la synthèse de polymères numériques. La synthèse itérative des poly(alcoxyamine amide)s et poly(alcoxyamine triazole)s a démontré la pertinence de la stratégie « **AB+CD** » pour l'obtention de polymères à séquences contrôlées sans l'emploi de groupements protecteurs, cette stratégie pouvant s'appliquer à un large choix de réactions orthogonales. Enfin, l'analyse de ces polymères par spectrométrie de masse a montré qu'un séquençage par MS/MS était une technique appropriée pour décoder le code incrémenté le long des chaînes, grâce à la présence de liaisons faibles dans l'architecture des composés.

Bien que les premiers résultats obtenus **Chapitre IV** lors de la synthèse d'oligo(alcoxyamine triazole)s soient très encourageants, de nombreux aspects restent à étudier. Sur un plan plus général, les synthèses de polymères encodés ont été effectuées en utilisant un comonomère codant, ainsi qu'une unité TEMPO utilisé en tant qu'espaceur. Il pourrait être judicieux de travailler sur la structure de ce dernier dans le but de coder également via cette unité. Cette approche pourrait permettre de doubler la quantité d'informations incrémentées le long d'une chaîne, pour un même nombre d'étapes. Dans l'absolu, les travaux de cette thèse ont au final mené à de nombreuses synthèses concluantes de

polymères à séquences contrôlées encodés numériquement, encourageantes pour le développement de nouvelles structures de tels polymères numériques, via une approche multi-étapes.



# Partie Expérimentale

---



## **1. Techniques d'analyse et matériel utilisé**

### **1.1 Résonance magnétique nucléaire**

Les spectres RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , et en deux dimensions ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker Avance 400MHz dans les solvants deutérés suivants :  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CD}_3\text{CN}$ , MeOD,  $\text{D}_2\text{O}$ .

### **1.2 Chromatographie**

Les chromatographies sur couche mince ont été effectuées sur des plaques de silice (MERCK 60F 254, épaisseur 0.25mm).

Les chromatographies par exclusion stérique (SEC) ont été réalisées par un système de chromatographie d'exclusion stérique équipé d'une pompe Shimadzu LC20AC ; de quatre colonnes individuelles PLgel avec des pores de dimensions variées (Agilent Technologies, 50 Å, 100 Å, 500 Å, 1000 Å, 5 µm, 300 mm x 7.5 mm) et d'un réfractomètre différentiel Shimadzu RID10A. Les analyses ont été réalisées avec une vitesse d'éluion de 1 mL.min<sup>-1</sup> dans le THF avec le toluène comme marqueur. La calibration des masses molaires est basée sur seize standards de polystyrène linéaires fournis par *Polymer Laboratories*.

### **1.3 Spectroscopie infrarouge**

Les composés ont été analysés à l'aide d'un spectromètre Bruker Vertex 70 à transformée de Fourier, mode réflexion totale atténuée (ATR), cristal : diamant, résolution : 2 cm<sup>-1</sup>.

### **1.4 Spectrométrie de masse**

Les spectres de masse haute résolution et MS/MS ont été obtenus grâce à l'utilisation d'un spectromètre de masse QStar Elite (Biosystems SCIEX, Concord, ON, Canada), équipé d'une source d'ionisation par electrospray. Les ions sont mesurés par un analyseur de masse à temps de vol comportant un accélérateur orthogonal. En mode MS, les mesures de masse exacte ont été réalisées en utilisant les ions de référence du poly(propylène glycol) ou du poly(éthylène glycol) comme étalon interne. En mode MS/MS, un quadripôle a été utilisé pour sélectionner l'ion précurseur. Celui-ci est ensuite soumis à une CID (Collision-Induced Dissociation) dans une cellule de collision. Dans cette dernière, le gaz de nébulisation est l'air (10 psi), et l'azote est utilisé comme gaz rideau (20 psi) et gaz de collision. L'acquisition et le traitement de données ont été réalisés à l'aide du logiciel Analyst (QS 2.0) de chez Applied Biosystems.

### **1.5 Micro-onde**

Les synthèses au micro-onde ont été réalisées en employant le micro-onde Monowave 300 de chez Anton Paar, sous agitation magnétique à 600 rpm.

## 1.6 Synthèse itérative

Les synthèses sur support solide ont été réalisées dans des tubes SPE de 6 mL en polypropylène avec un fritté de porosité de 20 µm, fournis par SUPELCO. Les tubes ont été agités à l'aide d'un agitateur IKA HS 260.

Lors des synthèses sur support fluoré, les séparations ont été effectuées sur colonnes de silice perfluorée FluoroFlash® de chez Boron Specialties, de 8 mL contenant 2 g de silice.

## 2. Réactifs et solvants

Tous les produits chimiques et solvants ont été utilisés sans purification supplémentaire, sauf indication contraire.

4-Amino-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl (4-amino TEMPO, TCI, 97%), 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl (TEMPO, Alfa Aesar, 98%), acide 2-bromo-isobutyrique (Alfa Aesar, 98%), acide 2-bromopropionique (Aldrich, 99%), tris(2-diméthylaminoéthyl)amine (Alfa Aesar, > 99%), acide trifluoroacétique (Sigma-Aldrich, 99%), N,N-dicyclohexylcarbodiimide (Alfa Aesar, 99%), pipéridine (Sigma-Aldrich, 99%), carbonate de potassium (Prolabo, 99%), N-éthyl-diisopropylamine (DIPEA, Alfa Aesar, 99%), dichlorométhane (DCM, Carlo Erba, 99.9%), dichlorométhane anhydre (Sigma Aldrich, ≥ 99.8%, amylène comme stabilisant) tétrahydrofurane (THF, Aldrich, 99%, stabilisé avec BHT), diméthyle sulfoxyde anhydre (DMSO, Aldrich, > 99.6%), résine Fmoc-Gly-Wang (Novabiochem, 0.7 mmol.g<sup>-1</sup>), Tris(2-diméthylaminoéthyl)amine (Me<sub>6</sub>TREN, Alfa Aesar, > 99%), sulfate de cuivre (II) (Sigma Aldrich, > 99%), acide L-ascorbique (Sigma Aldrich, 99%), bromure de cuivre (II) (Alfa Aesar, 99%), chlorure de cuivre (II) (Alfa Aesar, 99%), 2-éthylhexanoate d'étain (II) (Alfa Aesar, 96%), anisole (Sigma Aldrich, 99%), cuprisorb (Seachem), 3-(Fmoc-amino)-1-propanol (Iris Biotech, 99%), 4-(diméthylamino)pyridine (DMAP, Alfa Aesar, 99%), triéthylamine (Acros Organic, > 97%), bromure de 2-Bromoisobutiryle (Alfa Aesar, 97%), sulfate de sodium anhydre (Fischer Scientific, 99.6%), 2-[(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,9-Tridecafluoro-1,1-diméthylnonoxyloxy) carbonyloxyimino]-2-phenylacetonitrile (Sigma Aldrich, 95%), résine Wang (Novabiochem, 0.94 mmol.g<sup>-1</sup>), O-(benzotriazol-1-yl)-N,N,N'-tétraméthyleuronium hexafluorophosphate (HBTU, Iris Biotech, 99%), N,N-Diméthylformamide (DMF, Sigma Aldrich, 99.8%), Fmoc-L-Lys(Boc)-OH (Iris Biotech, > 99%), Fmoc-Gly-OH (Iris Biotech, > 99%), benzotriazol-1-yl-oxytrypyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate (PyBOP, Novabiochem, 99%), 1-Méthyl-2-pyrrolidinone (NMP, Alfa Aesar, 99%), ε-Caprolactone (Sigma Aldrich, 97%), chlorure de tosyle (Alfa Aesar, 98%), azoture de sodium (Alfa Aesar, 97%), cycloheptène (Alfa Aesar, 96% stabilisé avec 0.1% de BHT), *tert*-butoxyde de potassium (Alfa Aesar, 97%), éthanol absolu (VWR, 99.8%), n-pentane anhydre (Alfa Aesar, > 99.8%), bromoforme (Alfa Aesar, 97%, stabilisé avec éthanol), éthylène glycol anhydre (Acros Organics, 99.8%), perchlorate d'argent anhydre (Alfa Aesar), acétone anhydre (Fischer Scientific), 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène (DBU, TCI, 98%), toluène anhydre (Sigma Aldrich, 99.8%), pyridine

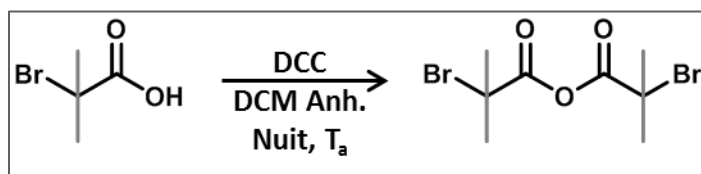
anhydre (Sigma Aldrich, 99.8%), 1,4-Butanediol (Alfa Aesar, 99%), hydrure de sodium (Sigma Aldrich, 60% en suspension dans une huile minérale), méthanol (Carlo Erba, 99.9%).

Le bromure de cuivre (I) a été purifié par agitation pendant une nuit dans l'acide acétique, puis lavé à l'éthanol et séché sous vide. Le THF distillé a été purifié par passage sur colonne d'alumine active sous argon (GT S100).

### 3. Synthèse et analyses

#### 3.1 Synthèses du Chapitre II

##### 3.1.1 Synthèse de l'anhydride 2-bromo-2-méthylpropanoïque codant pour 1

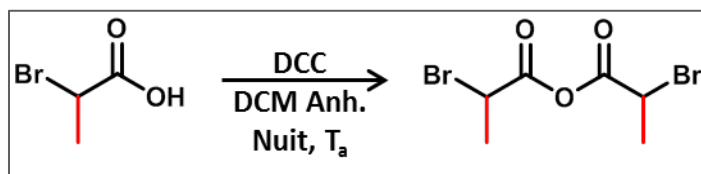


6.8 g (1 eq.) d'acide 2-bromo-2-méthylpropanoïque sont introduits dans un ballon, dégazé à l'aide de trois cycles vide/argon. Puis 50 mL de dichlorométhane anhydre sont ajoutés à travers le septum. Enfin, 10 g (0.5 eq) de dicyclohexylcarbodiimide (DCC) dissouts dans 20 mL de dichlorométhane anhydre sont ajoutés au milieu. La réaction se tient toute la nuit à température ambiante. A la fin de la réaction, le précipité blanc est filtré et le filtrat est concentré à l'aide de l'évaporateur rotatif. Puis environ 60 mL de pentane sont ajoutés, et le milieu est agité jusqu'à ce que tout l'anhydride ait été dissout. Seule la fraction d'acide restante n'est pas solubilisée. Après filtration, le filtrat est évaporé. L'anhydride est obtenu sous forme de poudre blanche avec un rendement de 50% en moyenne.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) : 2.00 (s,12H)

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) : 165.9, 55.11, 30.18

##### 3.1.2 Synthèse de l'anhydride 2-bromo-propanoïque codant pour 0



6.8 g (1 eq.) d'acide 2-bromo-propanoïque sont introduits dans un ballon, dégazé à l'aide de trois cycles vide/argon. Puis 50 mL de dichlorométhane anhydre sont ajoutés à travers le septum. Enfin, 10 g (0.5 eq) de dicyclohexylcarbodiimide (DCC) dissouts dans 20 mL de dichlorométhane anhydre sont ajoutés au milieu. La réaction se tient toute la nuit à température ambiante. A la fin de la réaction, le précipité



blanc est filtré et le filtrat est concentré à l'aide de l'évaporateur rotatif. Puis environ 60mL de pentane sont ajoutés, et le milieu est agité jusqu'à ce que tout l'anhydride ait été dissout. Seule la fraction d'acide restante n'est pas solubilisée. Après filtration, le filtrat est évaporé. L'anhydride est obtenu sous forme de poudre blanche avec un rendement de 50% en moyenne.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 4.48-4.43 (m, 2H), 1.90-1.88 (dd, 6H)

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 164.57, 39.19, 21.06

### 3.1.3 Stratégie générale de synthèse des poly(alcoxyamine amide)s sur support $R_{GW}$

Les synthèses itératives de poly(alcoxyamine amide)s sur support  $R_{GW}$  ont été effectuées en suivant les étapes suivantes. La résine  $R_{GW}$  est une résine Fmoc-Gly-Wang chargée à  $0.7 \text{ mmol.g}^{-1}$ . Les synthèses se sont effectuées dans un tube SPE de 6mL. Lors de la synthèse, les étapes 2 et 3 sont interchangeables selon l'unité codante incrémentée, et s'alternent avec l'étape 4. Ces étapes sont répétées le nombre de fois fixé par l'expérimentateur, avant le clivage étape 5.

#### **Etape 1 : Déprotection de la résine $R_{GW}$**

0.2 g (0.14 mmol, 1eq.) de résine  $R_{GW}$  sont placés dans un tube SPE, puis la résine est gonflée en agitant dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  pendant 30 minutes. Puis, une solution pipéridine/  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 mL/3 mL) est introduite au milieu. L'agitation se tient pendant 20 minutes, puis une nouvelle solution pipéridine/  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 mL/3 mL) est introduite, pour une seconde agitation de 20 minutes afin de s'assurer de la déprotection de tous les sites. Puis la résine est lavée au  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

#### **Etape 2 : Ajout de l'anhydride 2-bromo-2-méthylpropanoïque codant pour 1**

0.212 g (5 eq.) d'anhydride **1** et 0.248 g (12 eq.) de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  sont ajoutés au milieu. La réaction se tient pendant 50 minutes à température ambiante, dans 6mL de THF. A la fin de la réaction, le mélange réactionnel est lavé à l'eau pour enlever l'excédent de  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , puis au THF pour éliminer l'excès d'anhydride.

#### **Etape 3 : Ajout de l'anhydride 2-bromo-propanoïque codant pour 0**

0.193 g (5 eq.) d'anhydride **0** et 0.29 mL (12 eq.) de DIPEA sont ajoutés au milieu. La réaction se tient pendant 50 minutes à température ambiante, dans 6mL de THF. A la fin de la réaction, un lavage au THF est effectué.

#### **Etape 4 : Ajout du TEMPO-NH<sub>2</sub>**

0.143 g (6 eq.) de TEMPO-NH<sub>2</sub> et 0.12 mL (3.2 eq.) de Me<sub>6</sub>TREN sont dissouts dans 4 mL de DMSO anhydre, et le mélange est introduit dans le tube SPE. Ce dernier est fermé à l'aide un septum et purgé à l'argon pendant environ 15 minutes, puis 0.060 g (3 eq.) de CuBr sont rapidement ajoutés au milieu. L'agitation se tient pendant 40 minutes sous atmosphère inerte, puis les billes de résine sont lavées au THF.

A partir du troisième ajout de TEMPO-NH<sub>2</sub>, la réaction se tient pendant 1.5 heures au micro-onde, à 40°C, afin d'obtenir des rendements quantitatifs de réaction.

#### Etape 5 : Clivage des oligomères de la résine

Les billes de résine sont introduites dans un ballon, dans lequel est ajoutée une solution de TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 mL/3 mL) pendant 2 heures. Après la réaction, les billes de résine sont filtrées et le filtrat est concentré puis précipité dans l'éther. Le mélange est ensuite dissout dans quelques millilitres de THF, le résidu insoluble est éliminé par filtration. Le filtrat est de nouveau concentré puis les oligomères sont isolés par précipitation dans l'éther sous forme de poudre blanche. Les oligomères ne contenant que 2 unités codantes sont trop courts pour être précipités et sont isolés par simple évaporation du TFA.

#### 3.1.4 Analyse de la bibliothèque des 8 oligomères codant pour 3 bits

Les oligomères synthétisés ont été analysés par spectrométrie de masse.

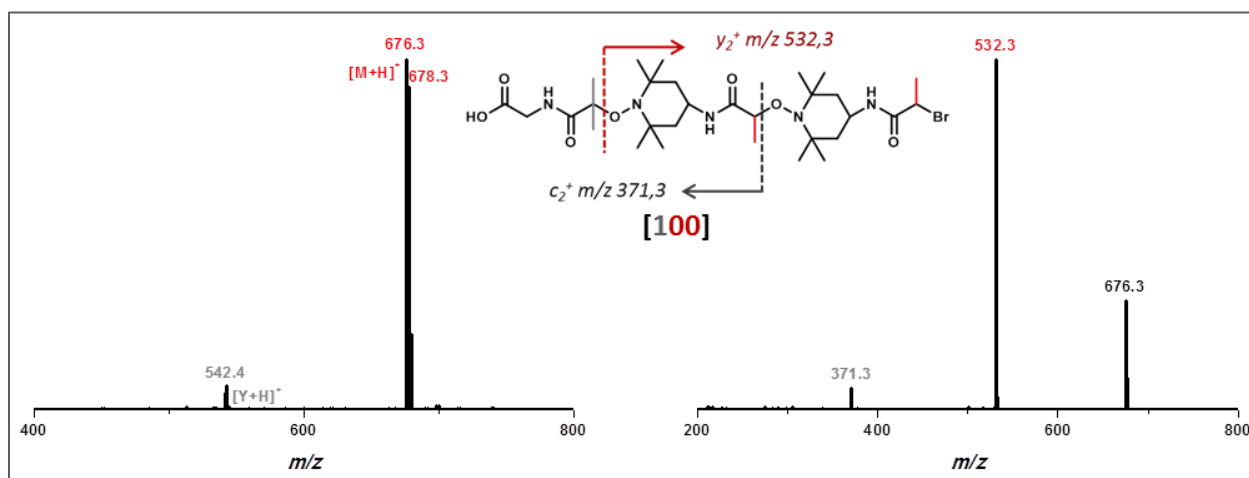


Figure 120 : Analyse ESI-HRMS du composé codant pour [100] et son séquençage par MS/MS.

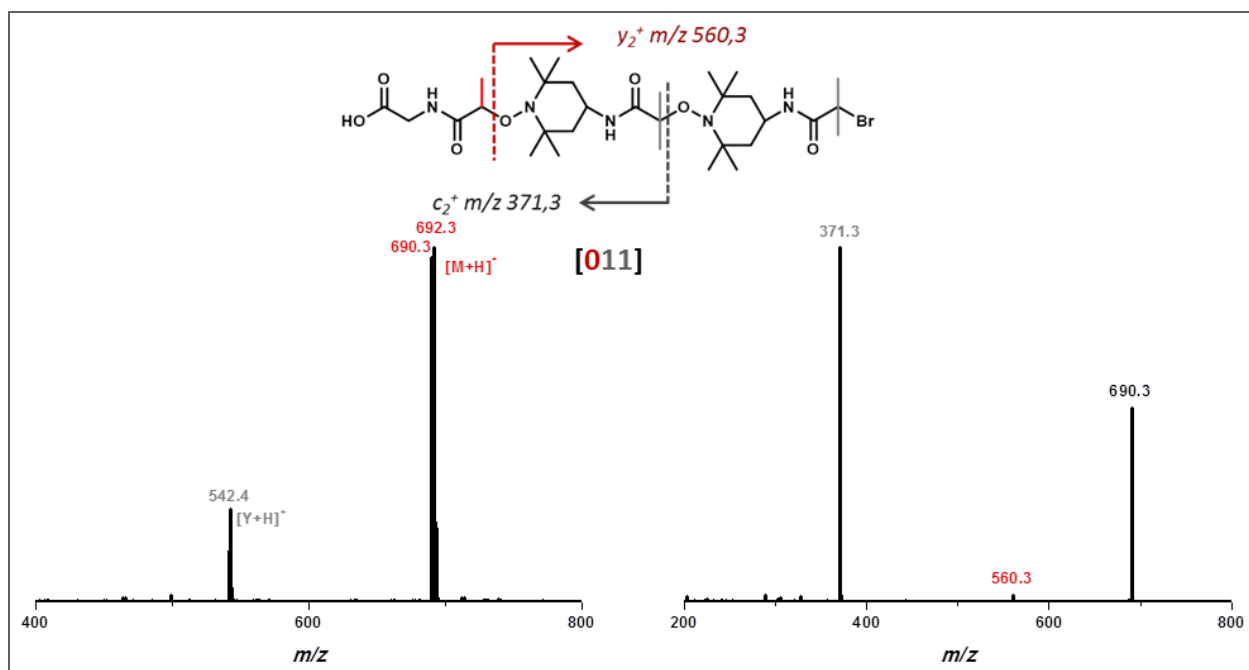


Figure 121 : Analyse ESI-HRMS du composé codant pour [011] et son séquençage par MS/MS.

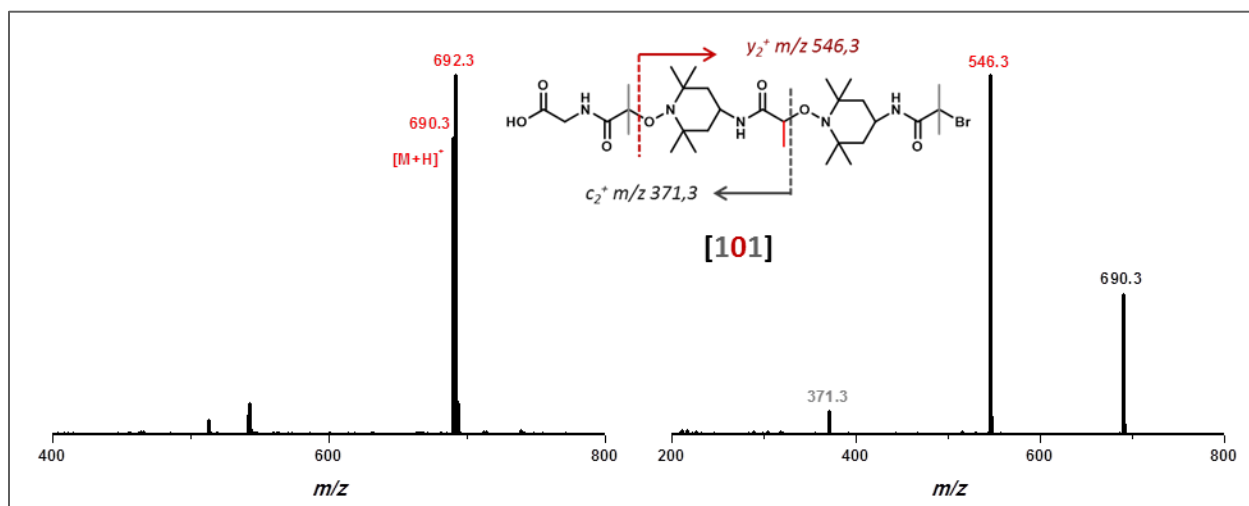


Figure 122 : Analyse ESI-HRMS du composé codant pour [101] et son séquençage par MS/MS.

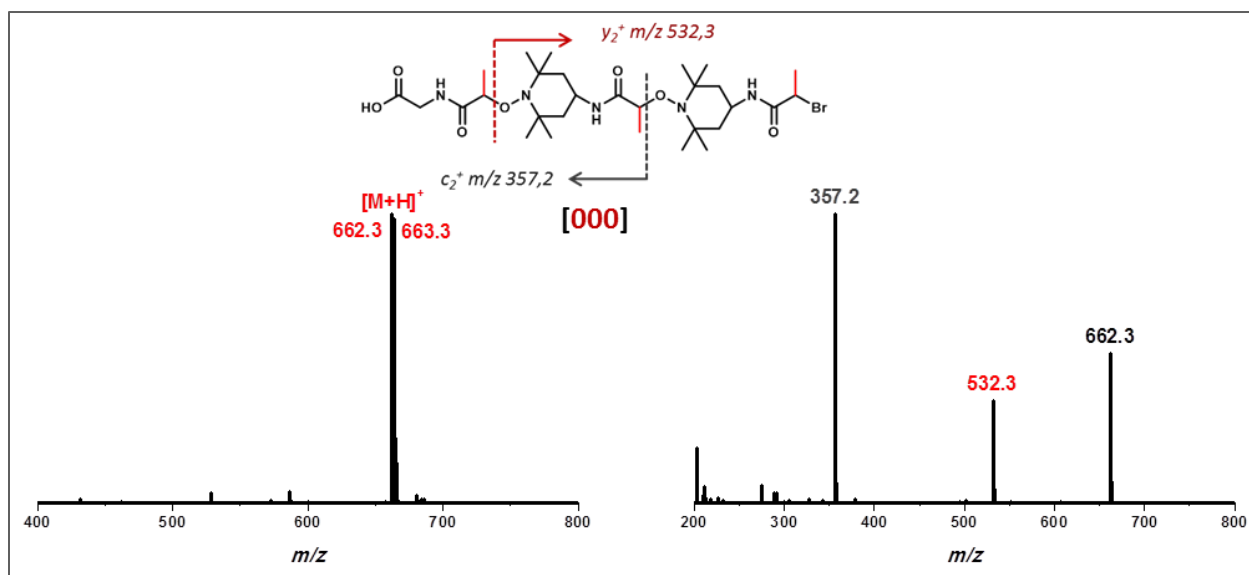


Figure 123 : Analyse ESI-HRMS du composé codant pour [000] et son séquençage par MS/MS.

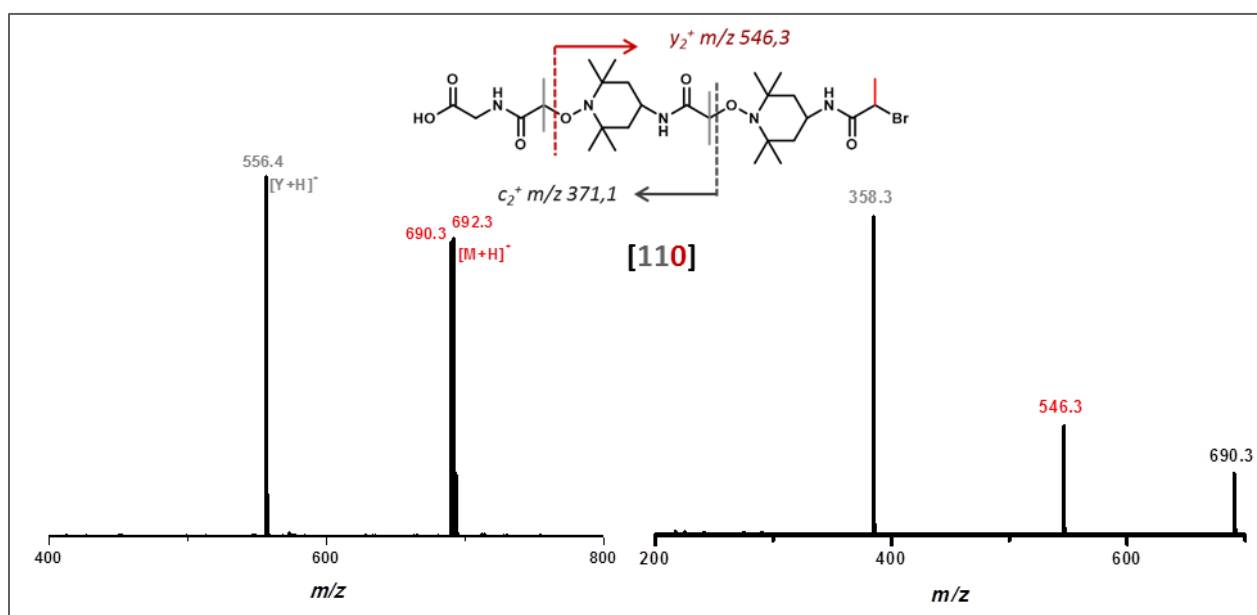


Figure 124 : Analyse ESI-HRMS du composé codant pour [110] et son séquençage par MS/MS.

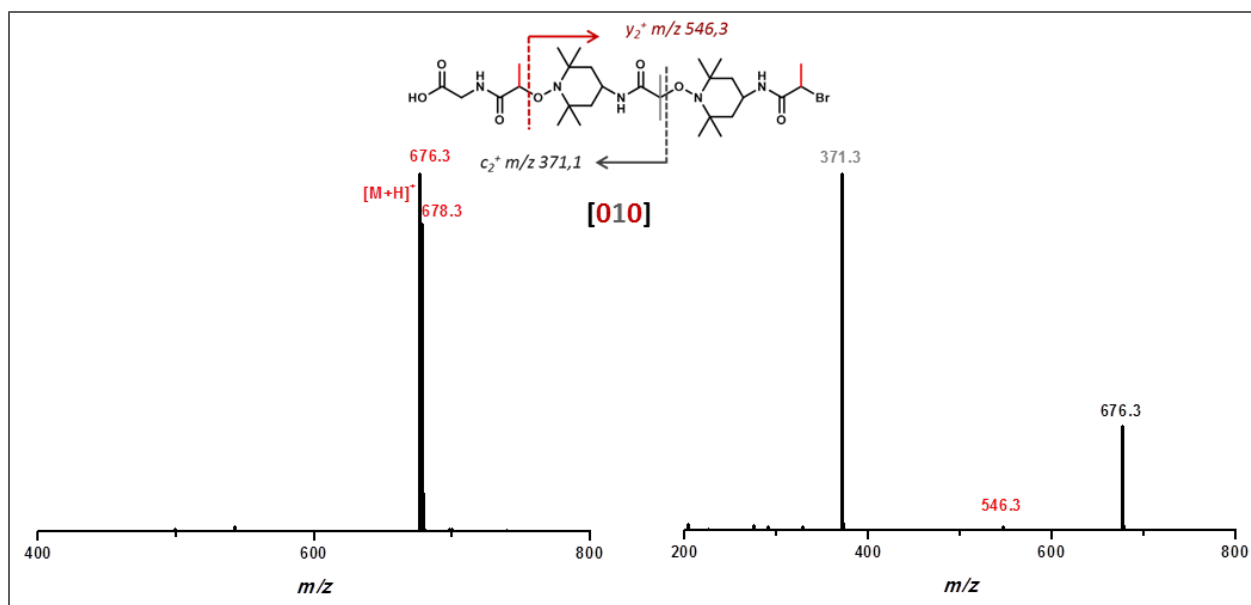


Figure 125 : Analyse ESI-HRMS du composé codant pour [010] et son séquençage par MS/MS.

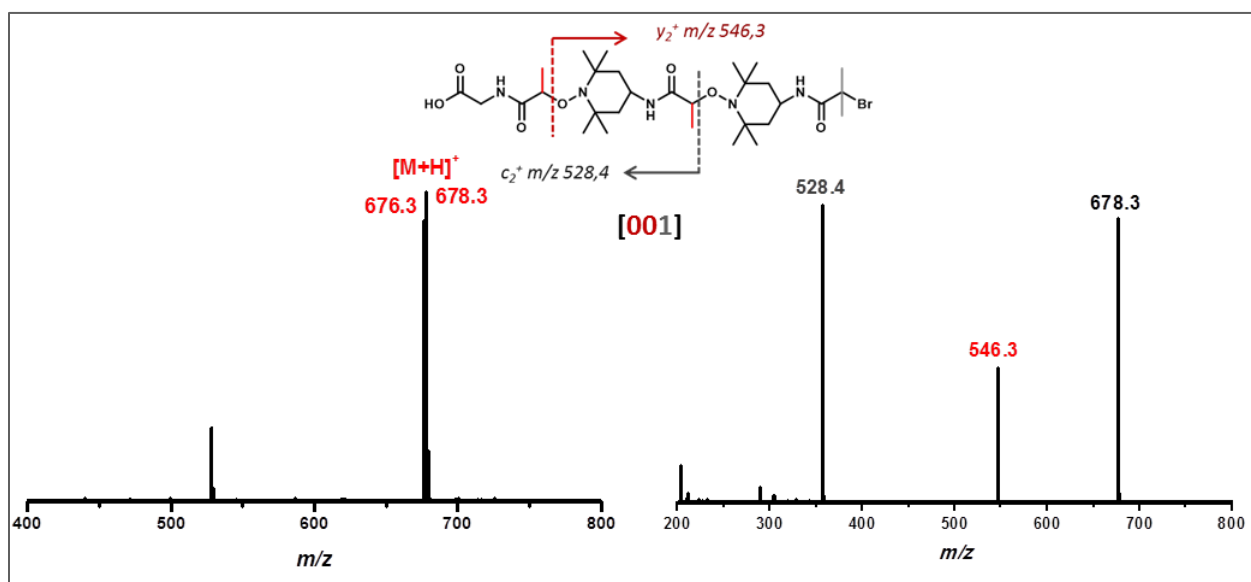


Figure 126: Analyse ESI-HRMS du composé codant pour [001] et son séquençage par MS/MS.

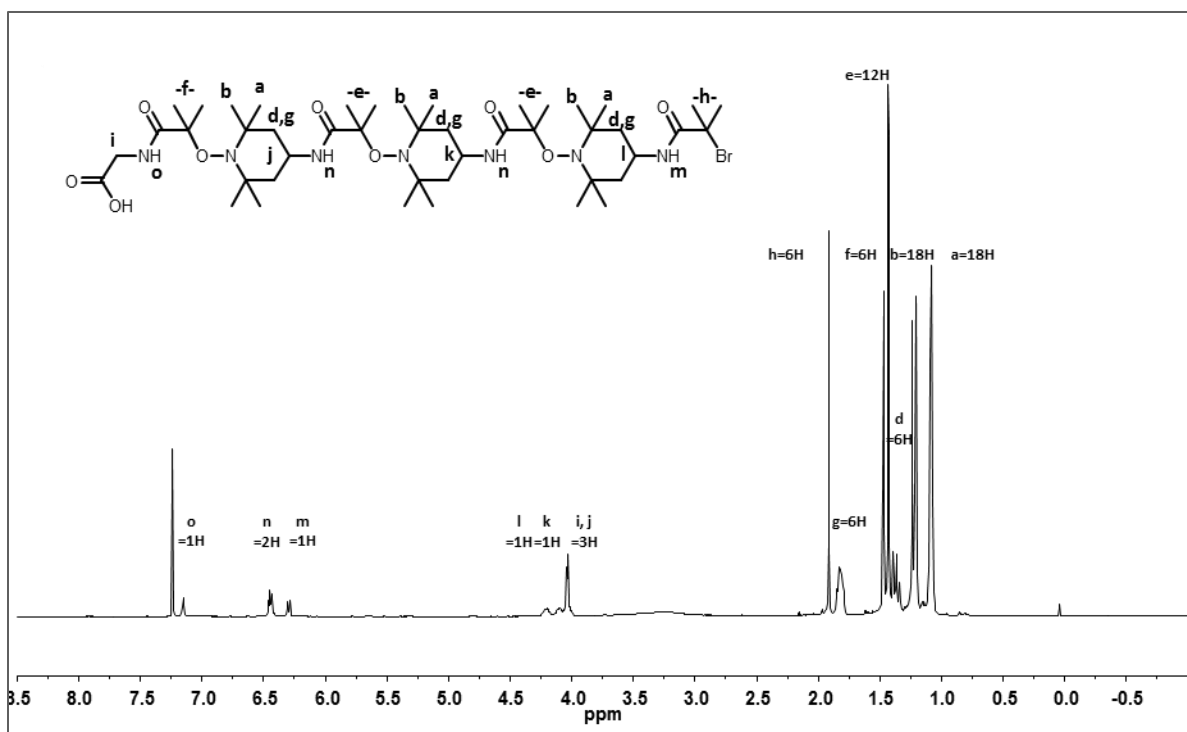


Figure 127 : RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) de l'oligomère codant pour [111].

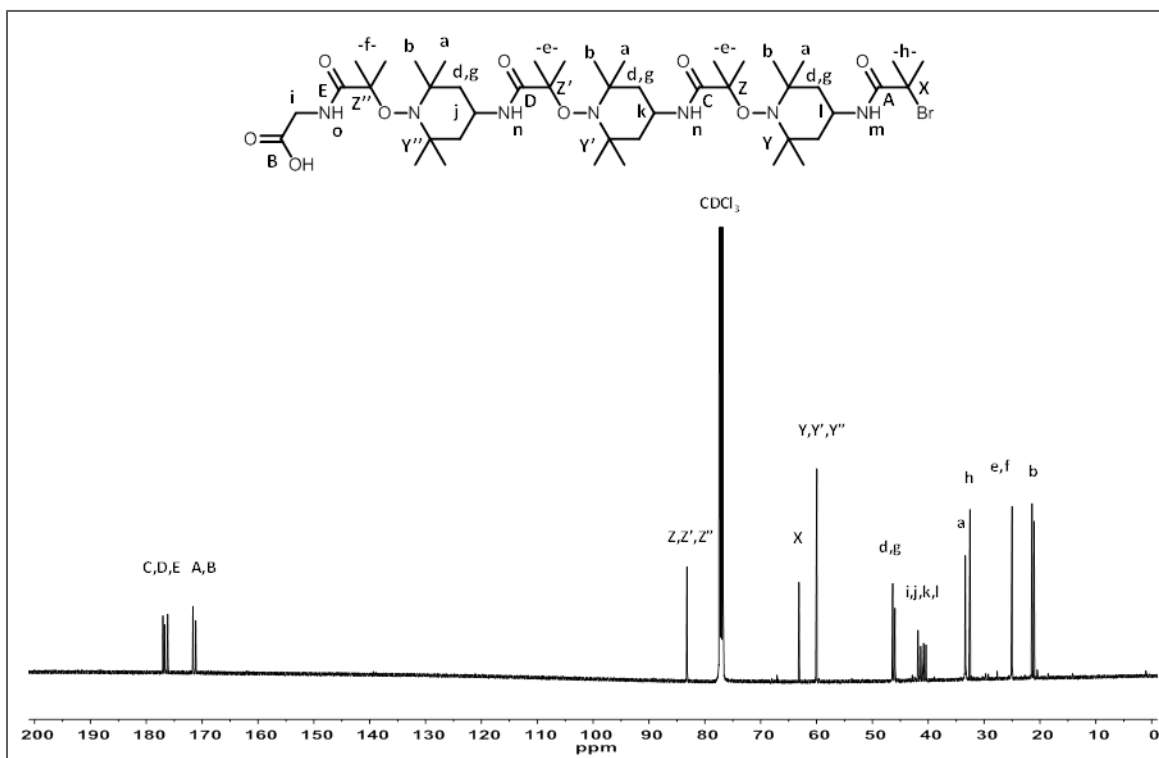


Figure 128 : RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) de l'oligomère codant pour [111].

### 3.1.5 Synthèse d'oligo(alcoxyamine amide)s en utilisant le système acide ascorbique/CuSO<sub>4</sub> pour l'étape de couplage radicalaire

Les synthèses d'oligo(alcoxyamine amide)s dans cette partie ont été effectuées sur support  $R_{GW}$  en se basant sur la stratégie générale détaillée en 3.1.3. Seules les conditions de l'étape 4 de couplage radicalaire ont été modifiées.

#### ***Etape 4 : Ajout du TEMPO-NH<sub>2</sub> en présence du système acide ascorbique/CuSO<sub>4</sub>***

0.144 g (6 eq.) de TEMPO-NH<sub>2</sub>, 0.074 g (3 eq.) d'acide ascorbique, ainsi que 0.067 g (3 eq.) de CuSO<sub>4</sub> sont introduits dans un tube SPE puis dissouts dans 4 mL de DMSO anhydre. Le tube est fermé avec un septum et le milieu est mis à agiter tout en bullant sous argon, les temps indiqués dans le **Chapitre II** pour chaque composé. A la fin de la réaction, un lavage à l'eau puis un lavage au THF sont effectués.

### 3.1.6 Synthèse d'oligo(alcoxyamine amide)s en utilisant le système CuX<sub>2</sub>/Sn(II) pour l'étape de couplage radicalaire

Les synthèses d'oligo(alcoxyamine amide)s dans cette partie ont été effectuées sur support  $R_{GW}$  en se basant sur la stratégie générale détaillée en 3.1.3. Seules les conditions de l'étape 4 de couplage radicalaire ont été modifiées.

#### ***Etape 4 : Ajout du TEMPO-NH<sub>2</sub> en présence du système CuBr<sub>2</sub>/Sn(II)***

Dans le tube SPE, 0.144 g (6 eq.) de TEMPO-NH<sub>2</sub>, 0.097 g (3 eq.) de CuBr<sub>2</sub>, et 0.11 mL (3 eq.) de Me<sub>6</sub>TREN sont dissouts dans 2.5 mL d'anisole. Le tube est ensuite fermé avec un septum et le milieu est purgé sous argon pendant 15 minutes. Une solution de 0.170 g (3 eq.) de 2-éthyl-hexanoate d'étain dans 2.5 mL d'anisole est ensuite ajoutée au milieu à travers le septum. La réaction se tient en milieu fermé sous agitation mécanique, à température ambiante, le temps indiqué pour chaque composé dans le **Chapitre II**. A la fin de la réaction, un lavage à l'eau puis un lavage au THF sont effectués.

#### ***Etape 4 : Ajout du TEMPO-NH<sub>2</sub> en présence du système CuCl<sub>2</sub>/Sn(II)***

Dans le tube SPE, 0.144 g (6 eq.) de TEMPO-NH<sub>2</sub>, 0.056 g (3 eq.) de CuCl<sub>2</sub>, et 0.11 mL (3 eq.) de Me<sub>6</sub>TREN sont dissouts dans 2.5 mL d'anisole. Le tube est ensuite fermé avec un septum et le milieu est purgé sous argon pendant 15 minutes. Une solution de 0.170 g (3eq.) de 2-éthyl-hexanoate d'étain dans 2.5mL d'anisole est ensuite ajoutée au milieu à travers le septum. La réaction se tient en milieu fermé sous agitation mécanique, à la température et aux temps indiqués pour chaque composé dans le **Chapitre II**. A la fin de la réaction, un lavage à l'eau puis un lavage au THF sont effectués.

### 3.1.7 Synthèse de poly(alcoxyamine amide)s sur une longue chaîne poly(alcoxyamine amide) utilisée en tant que support soluble

Dans cette section, les synthèses ont été effectuées sur 15 mg de poly(alcoxyamine amide) [1]<sub>7</sub> ou [1]<sub>8</sub>. Un ajout d'unité TEMPO-NH<sub>2</sub> suivi d'un ajout d'anhydride codant pour 1 ont été réalisés en solution.

#### **Ajout du TEMPO-NH<sub>2</sub>**

15 mg de support sont introduits dans un ballon, en présence de 9.2 mg (6 eq.) de TEMPO-NH<sub>2</sub>, et 7.7 µL (3.2 eq.) de Me<sub>6</sub>TREN. Les réactifs sont placés sous atmosphère inerte, puis dissouts dans 4mL de THF distillé. Le milieu est placé à buller sous argon pendant 15 minutes, puis 3.9 mg (3 eq.) de CuBr sont introduits rapidement. La réaction se tient pendant 40minutes sous agitation magnétique à 40°C, dans un bain thermostaté ou dans le micro-onde, selon les conditions indiquées **Chapitre II**. Après la réaction, le milieu est concentré à l'évaporateur rotatif, puis précipité dans l'éther froid. Si une couleur bleue témoignant la présence de cuivre persiste, il est mis en solution une nuit avec des billes de Cuprisorb<sup>®</sup>, qui sont filtrées le lendemain matin.

#### **Ajout de l'anhydride 2-bromo-2-méthylpropanoïque**

Sur 15 mg de support, 13.7 mg (4.8 eq.) d'anhydride 2-bromo-2-méthylpropanoïque, ainsi que 14.1 mg (12 eq.) sont ajoutés dans 4 mL de THF. La réaction se tient pendant une heure à température ambiante sous agitation magnétique. Puis le milieu est reconcentré et précipité dans l'éther froid.

### 3.1.8 Stratégie générale de synthèse des poly(alcoxyamine amide)s sur les supports solubles S<sub>0</sub>, S<sub>1</sub>, et S<sub>2</sub>

Lors de l'étude sur ces différents supports, la stratégie de synthèse, décrite ci-dessous, est restée la même. Seules les quantités de départ et le non-solvant de précipitation (méthanol ou pentane) varient, comme le détaille le **Chapitre II**. Les étapes 2 et 3 s'alternent le nombre de fois choisi, plus l'étape 4 de clivage a lieu après une étape 2 d'ajout d'anhydride.

#### **Etape 1 : Déprotection du support**

Le support est mis à agiter dans une solution pipéridine/ CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 mL/3 mL) est introduite au milieu. L'agitation se tient pendant 50 minutes à température ambiante. Puis le milieu est précipité au goutte à goutte dans 60 mL de non-solvant.

#### **Etape 2 : Ajout de l'anhydride codant pour 0 ou pour 1**

0.075 g (5 eq.) d'anhydride et 12 eq. de DIPEA sont ajoutés au milieu. La réaction se tient pendant 50 minutes à température ambiante, dans 6 mL de THF. A la fin de la réaction, le milieu est précipité au goutte à goutte dans 60 mL de non-solvant.



### Etape 3 : Ajout du TEMPO-NH<sub>2</sub>

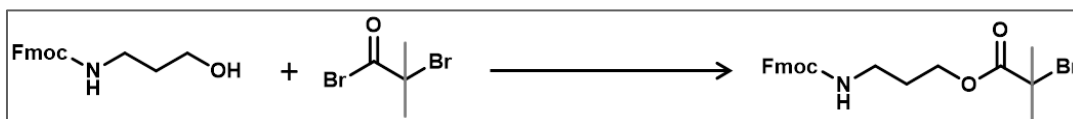
0.045 g (6 eq.) de TEMPO-NH<sub>2</sub> et 3.2 eq. de Me<sub>6</sub>TREN sont ajoutés au milieu, dans 6mL de THF distillé. Un bullage à l'argon se tient pendant environ 15 minutes. Puis 3 eq. de CuBr sont rapidement ajoutés au milieu. L'agitation se tient pendant 40 minutes sous atmosphère inerte. A la fin de la réaction, le milieu est précipité au goutte à goutte dans 60 mL de non-solvant (voir II.5.2).

### Etape 4 : Clivage des oligomères du support

Une solution de TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 mL/3 mL) est ajoutée au milieu. L'agitation se tient pendant 2 heures à température ambiante. Après la réaction, le support est précipité dans 60 mL de non-solvant. Puis le filtrat est concentré et l'oligomère est précipité à froid dans de l'éther diéthylique.

## 3.1.9 Synthèse du support fluoré Voie A

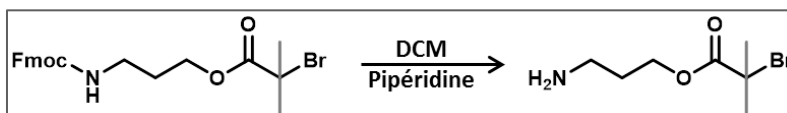
### Synthèse du composé II-6-1 : le Fmoc-3-aminopropyle-2-bromo-2-méthylpropanoate



Dans un bicol sont introduits 1,2 g (1 eq.) de 3-(Fmoc(amino-1-propanol) ainsi que 0,1 g (0,2 eq.) de DMAP. Le ballon est scellé par 2 septums puis placé sous argon. A travers le septum, 30 mL de THF distillé sont ajoutés. Le milieu est ensuite placé à 0°C. 1,4 mL (2,5 eq.) de triéthylamine sont ajoutés à travers le septum, puis 1,3 mL (2,5 eq.) de bromure de 2-bromo-isobutyryle sont ajoutés goutte à goutte. La réaction se tient ensuite pendant 22 heures à température ambiante. A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est filtré. Le filtrat est concentré puis dissout dans de la saumure. Le produit est extrait au dichlorométhane, lavé à l'eau puis séché sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Il est ensuite purifié sur colonne de silice en éluant à l'hexane/acétate d'éthyle (4/1).

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) : 7.77 (d, 2H), 7.60 (d,2H), 7.40 (m,2H), 7.31 (m,2H).

### Synthèse du composé II-6-2 : le 3-aminopropyle-2-bromo-2-méthylpropanoate

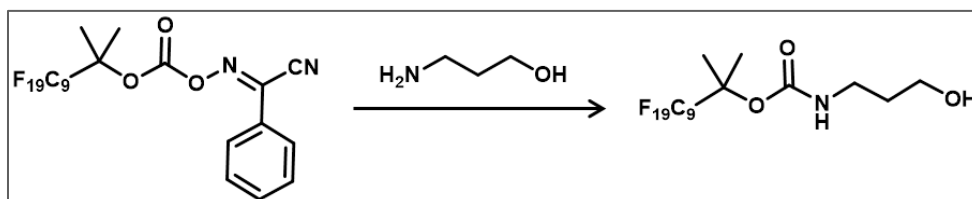


Le composé II-6-1 est dissout dans une solution DCM/pipéridine (10 mL/10 mL). Le milieu est mis à agiter pendant une heure. A la fin de la réaction, il est filtré puis le filtrat est reconcentré. Le produit est ensuite chromatographié sur colonne de silice en éluant au chloroforme.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) : 9.33 (br s, 2H), 7.79-7.69 (m, 1H), 7.43-7.31 (m, 1H), 4.48 (s, 1H), 3.12-3.09 (t, 5H), 1.96-1.86 (m, 8H), 1.74-1.65 (m, 3H).

### 3.1.10 Synthèse du support fluoré Voie B

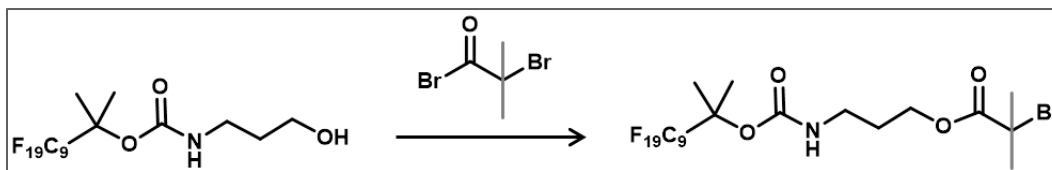
#### Synthèse du composé II-6-3



0,7 g (1 eq.) de chaîne perfluorée sont dissouts dans 5mL de THF. Puis sont ajoutés 0,1 g (1,1 eq.) de 3-amino-1-propanol et 0,23 g (1 eq.) de triéthylamine. La réaction se tient pendant 2 heures à température ambiante. Après la réaction, le milieu est concentré puis purifié sur colonne de silice perfluorée. Les excès de réactifs et produits secondaires sont éliminés par un premier lavage au solvant fluorophile MeOH/H<sub>2</sub>O (80/20). Puis le composé II-6-3 est récupéré par élution au THF, fluorophile. Le solvant est évaporé sous pression réduite, puis le produit est séché sous vide pour obtenir un rendement de 54%.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) : 1.49 (6H, C<sub>9</sub>F<sub>19</sub>-C-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-C), 1.68 (2H, -NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 3.31 (2H, -NH-CH<sub>2</sub>-), 3.67(2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH), 8.84 (1H, C-NH-CH<sub>2</sub>-).

#### Synthèse du composé II-6-4



0.377 g. (1 eq.) du composé II-6-3 sont introduits avec 0.014 g. (0.2 eq.) de DMAP dans un ballon, fermé sous argon. 10mL de THF distillé sont ajoutés, puis le milieu est plongé dans un bain de glace à 0°C. 0.20 mL (2.5 eq.) de triéthylamine sont ajoutés à travers le septum, puis 0.19 mL (2.5 eq.) de bromure de 2-bromo-isobutyryle sont ajoutés au goutte à goutte. La réaction se tient pendant 22 heures à température ambiante. Après la réaction, le milieu est filtré, puis le filtrat est concentré. Le composé II-6-4 est purifié sur colonne perfluorée, et obtenu avec un rendement de 66%.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  : 1.49 (6H,  $\text{C}_9\text{F}_{19}\text{-C}(\text{CH}_3)_2\text{-C}$ ), 1.92 (6H,  $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-Br}$ ), 2.13 (2H,  $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2$ ), 3.25 (2H,  $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2$ ), 4.87 (1H,  $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2$ ).

### 3.1.11 Synthèse de poly(alcoxyamine amide)s sur support fluoré

Les synthèses ont été réalisées sur la chaîne fluorée préencodée **II-6-4**. Les étapes d'ajout d'anhydride codant et de TEMPO-NH<sub>2</sub> ont été effectuées dans les conditions décrites pour la stratégie générale sur support  $R_{\text{GW}}$ ; le solvant de réaction pour le couplage radicalaire a cependant été remplacé par le THF distillé. Après chaque ajout de monomère, le milieu est concentré puis purifié sur colonne perfluorée. Le composé **II-6-5** a été clivé en conditions acides usuelles.

Le composé **II-6-6** a été clivé en conditions basiques. Le support est solubilisé dans 3 mL de THF. Un mélange méthylamine/NH<sub>3</sub> (1 mL/1 mL) est ajouté au goutte à goutte, et le milieu est mis à agiter pendant 1 heure. Le milieu est ensuite concentré et l'oligomère est précipité dans l'éther.

Les oligomères ont été analysés par ESI-HRMS.

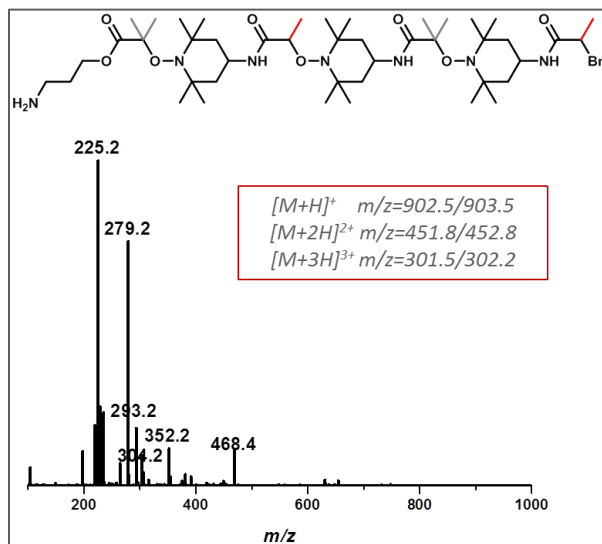


Figure 129 : Analyse ESI-HRMS du composé **II-6-5**.

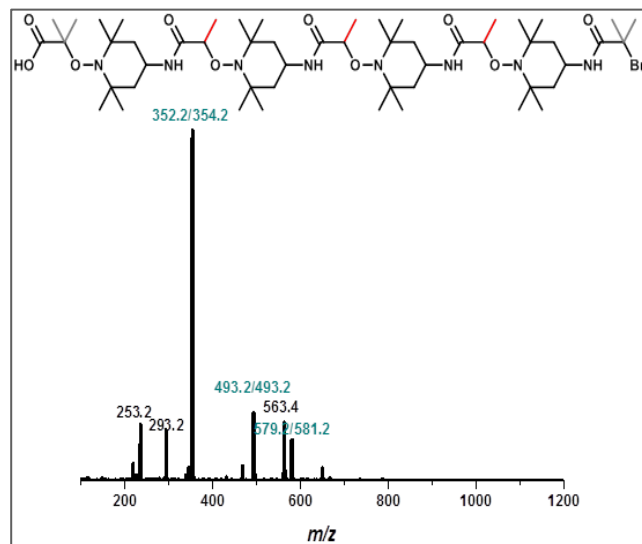


Figure 130 : Analyse ESI-HRMS du composé **II-6-6**.

## 3.2 Synthèses du Chapitre III

### 3.2.1 Synthèse des 4 diades sur support $R_W$

Chaque diade a été synthétisée sur 2 g de résine Wang  $R_W$ , avec un loading de  $0,94\text{mmol.g}^{-1}$ , selon la stratégie décrite ci-après.

#### **Etape 1 : Estérification**

La résine est introduite dans un tube SPE. Y sont ajoutés. Puis 6 eq. d'anhydride codant pour **0** (3,25 g) ou pour **1** (3,56 g), 2,85 g (4eq.) d'HBTU, et 0,46 g (2 eq.) de DMAP y sont additionnés, dans 6mL de DMF anhydre. Le milieu est chauffé pendant 90 minutes au micro-onde à 40°C. A la fin de la réaction, la résine est lavée au DMF.

#### **Etape 2 : Ajout du TEMPO-NH<sub>2</sub>**

Idem à Etape 4 de la synthèse sur support  $R_{GW}$

#### **Etape 3 : Ajout de l'anhydride codant**

Idem à l'**Etape 2** de la synthèse sur support  $R_{GW}$  pour l'anhydride codant pour **1**, et à l'**Etape 3** pour l'anhydride codant **0**.

#### **Etape 4 : Clivage**

La résine est introduite dans un ballon avec une solution TFA/DCM (3 mL/3 mL). Le milieu est agité pendant 2 heures puis la résine est filtrée. Le filtrat est reconcentré.

ESI-HRMS :

**[00]** :  $[M+H]^+$   $m/z_{\text{calc}}$  379.1227,  $m/z_{\text{exp}}$  379.1227

**[01]** :  $[M+H]^+$   $m/z_{\text{calc}}$  393.1383,  $m/z_{\text{exp}}$  313.1380

**[10]** :  $[M+H]^+$   $m/z_{\text{calc}}$  393.1383,  $m/z_{\text{exp}}$  313.1381

**[11]** :  $[M+H]^+$   $m/z_{\text{calc}}$  407.1540,  $m/z_{\text{exp}}$  407.1539

### 3.2.2 Synthèse convergente de poly(alcoxyamine amide)s sur support $R_{GW}$

Les synthèses ont été effectuées sur 200mg de support  $R_{GW}$ . L'étape 1 de déprotection de la résine, puis les étapes 2 ou 3, et 4 répétées une seconde fois ont été réalisées dans les conditions usuelles sur ce support. Une fois le support pré-encodé finissant par une fonction NH<sub>2</sub> obtenu, les étapes 5 et 6 ont été répétées le nombre de fois désiré, suivies de l'étape 7 de clivage.

#### **Etape 5 : Ligation de diade**

4 eq. de diades, 5 eq. d'HBTU, et 15 eq. de DIPEA sont ajoutés à la résine. Le milieu en solution dans 5 mL de DMF anhydre est chauffé pendant 2h à 40°C au micro-onde. Après la réaction, la résine est lavée au DMF.

### Etape 6 : Ajout du TEMPO-NH<sub>2</sub>

Idem à l'étape 4.

### Etape 7 : Clivage

Idem à l'étape 5 de clivage du support **R<sub>GW</sub>**.

ESI-HRMS

[111110] : m/z<sub>calc</sub> 705.9511, m/z<sub>exp</sub> 705.9511

[110110] : m/z<sub>calc</sub> 698.9433, m/z<sub>exp</sub> 698.9435

[110101] : m/z<sub>calc</sub> 698.9433, m/z<sub>exp</sub> 698.9416

[1]<sub>10</sub> : m/z<sub>calc</sub> 1193.3265, m/z<sub>exp</sub> 1193.3264

### 3.2.3 Synthèse des poly(alcoxyamine amide)s sur support **R<sub>GW</sub>** pour l'élaboration de codes-barres moléculaires

Chacun des oligomères a été synthétisé sur la résine **R<sub>GW</sub>** en suivant la stratégie générale sur ce support.

Ils ont été analysés dans le tableau ci-après.

Composé	Séquence	m/z <sub>calc</sub>	m/z <sub>exp</sub>
II-3-1	[01]	448.1453	448.1469
II-3-2	[0000]	886.4659	886.4683
II-3-3	[11010]	1154.6809	1154.6814
II-3-4	[011100]	1380.8491	1380.8481
II-3-5	[1010010]	1607.0172	1607.0185
II-3-6	[01010011]	1847.2010	1847.2034
II-3-1'	[0001010]	1593.0015	1593.0008
II-3-2'	[100100]	1366.8334	1366.8323
II-3-3'	[0000]	886.4659	886.4683
II-3-4'	[11]	886.4659	886.4683

### Mélange « CNRS »

Un mélange des composés II-3-1, II-3-2, II-3-3, II-3-4, II-3-5, II-3-6, en solution à respectivement 32 nmol.mL<sup>-1</sup>, 25 nmol.mL<sup>-1</sup>, 40 nmol.mL<sup>-1</sup>, 30 nmol.mL<sup>-1</sup>, 35 nmol.mL<sup>-1</sup>, 115 nmol.mL<sup>-1</sup>, a été analysé par ESI-HRMS.

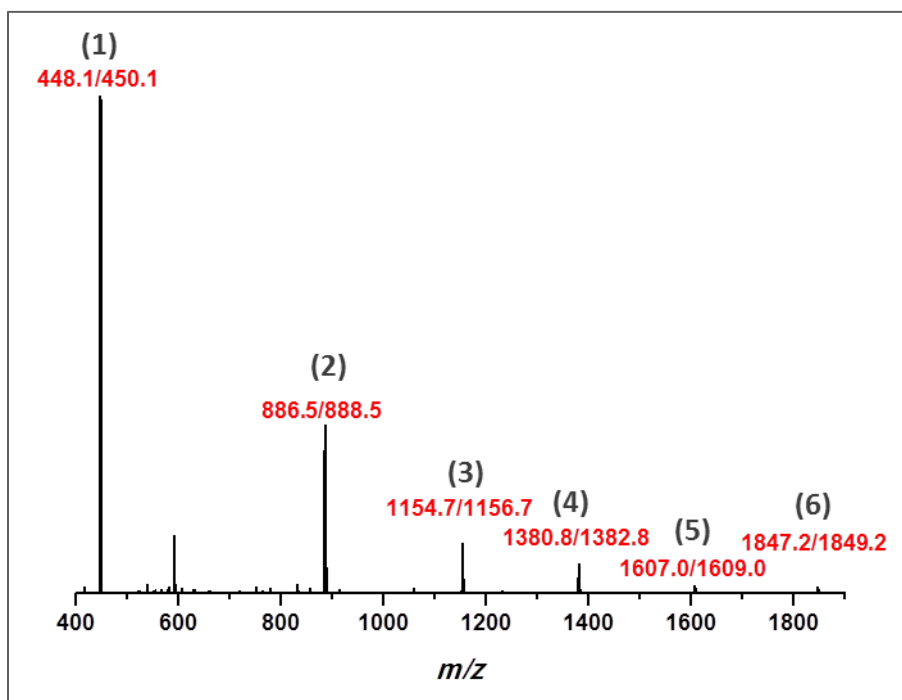


Figure 131 : Analyse ESI-HRMS du mélange « CNRS ».

Chacun des pics de (1) à (6) a été séquencé par MS/MS.

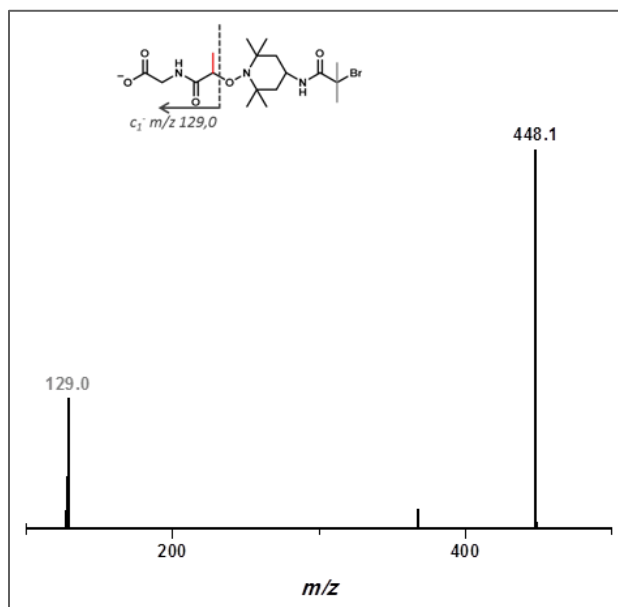


Figure 132 : Spectre MS/MS du pic (1).

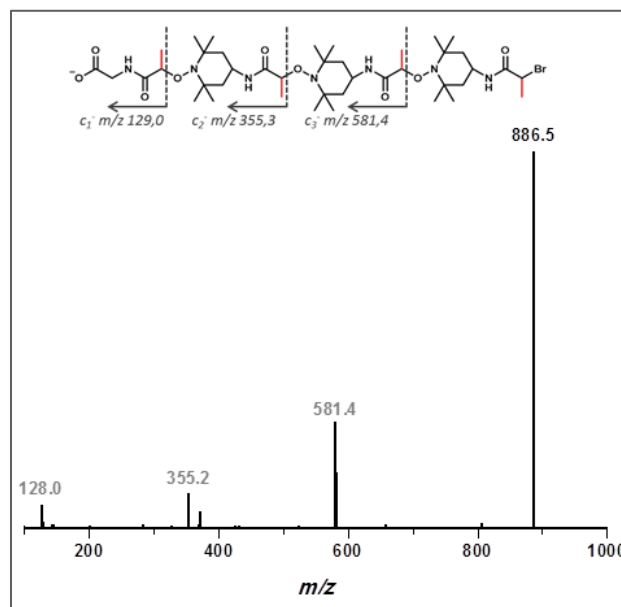


Figure 133 : Spectre MS/MS du pic (2).

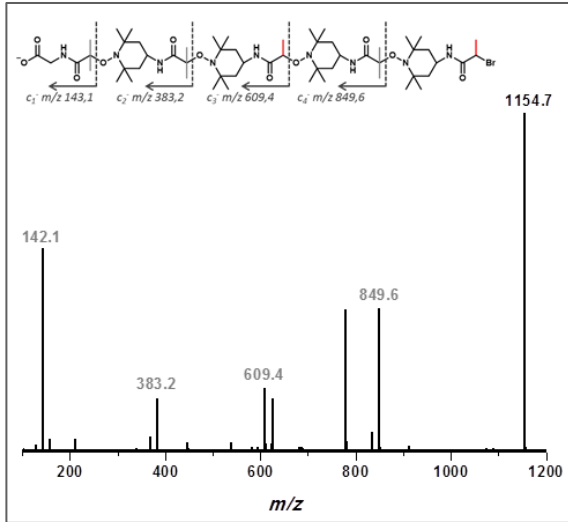


Figure 134 : Spectre MS/MS du pic (3).

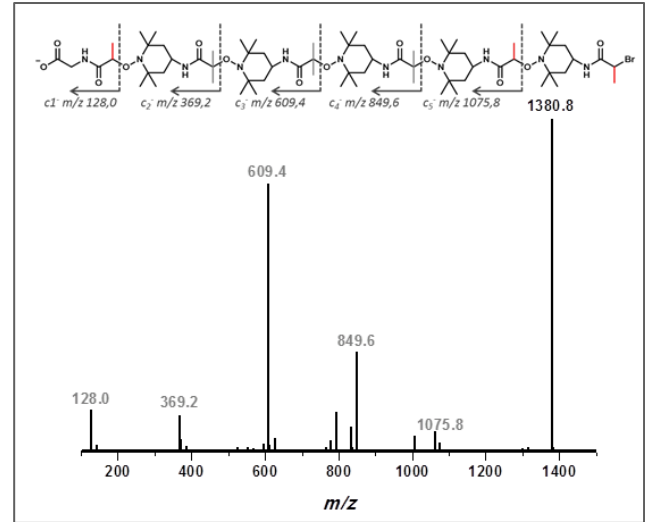


Figure 135 : Spectre MS/MS du pic (4).

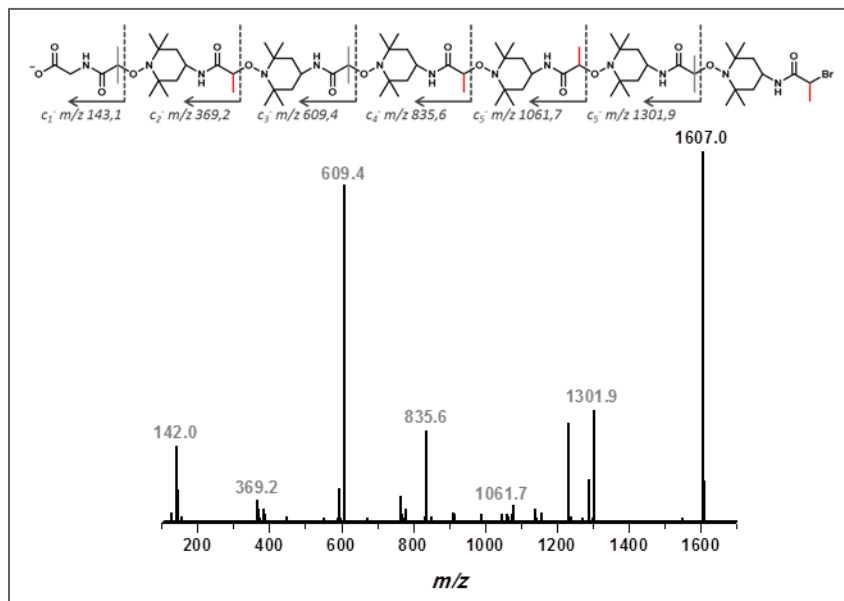


Figure 136 : Spectre MS/MS du pic (5).

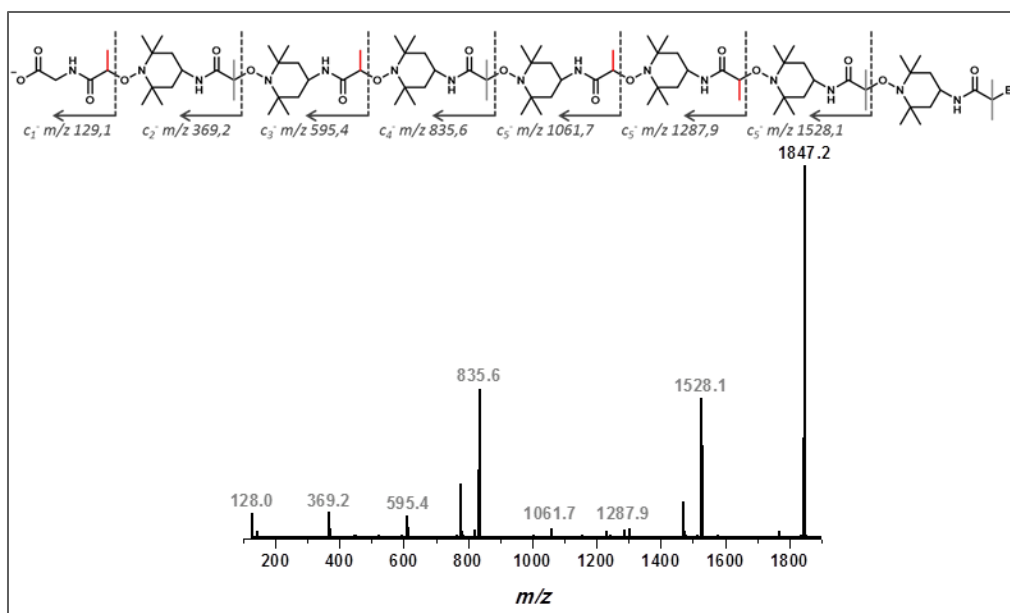


Figure 137 : MS/MS du pic (6).

### Mélange « PMC »

Un mélange des composés II-3-1', II-3-2', II-3-3', II-3-4', II-3-5', en solution à respectivement 40 nmol.mL<sup>-1</sup>, 48 nmol.mL<sup>-1</sup>, 40 nmol.mL<sup>-1</sup>, 40 nmol.mL<sup>-1</sup>, 1000 nmol.mL<sup>-1</sup>, a été analysé par ESI-HRMS.

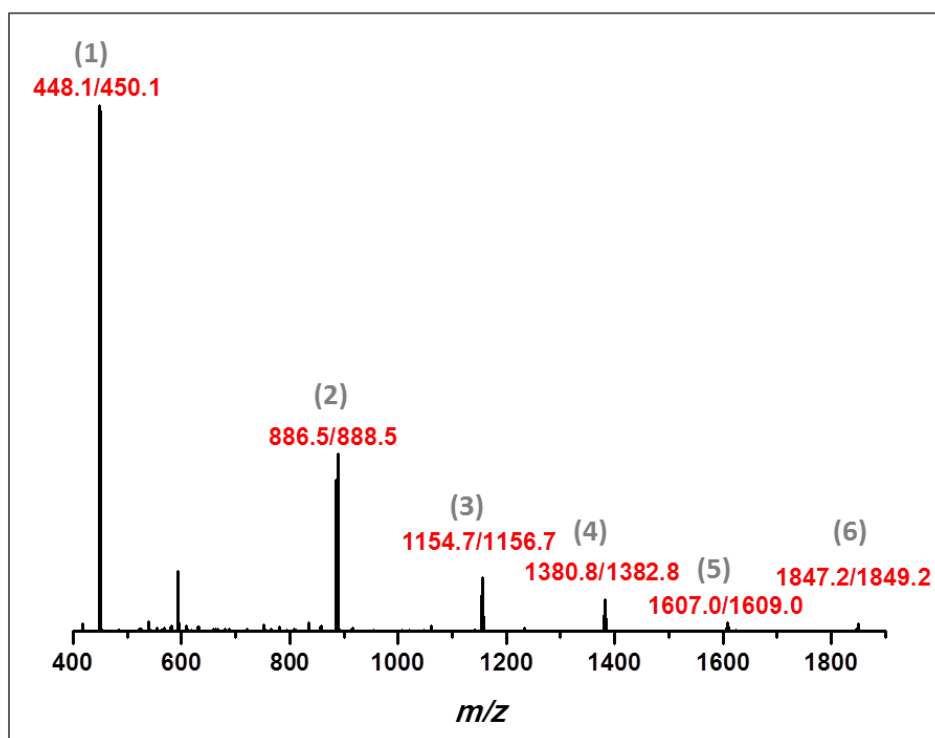


Figure 138 : Analyse ESI-HRMS du mélange « PMC ».



Chacun des pics de (1') à (5') a été séquencé par MS/MS.

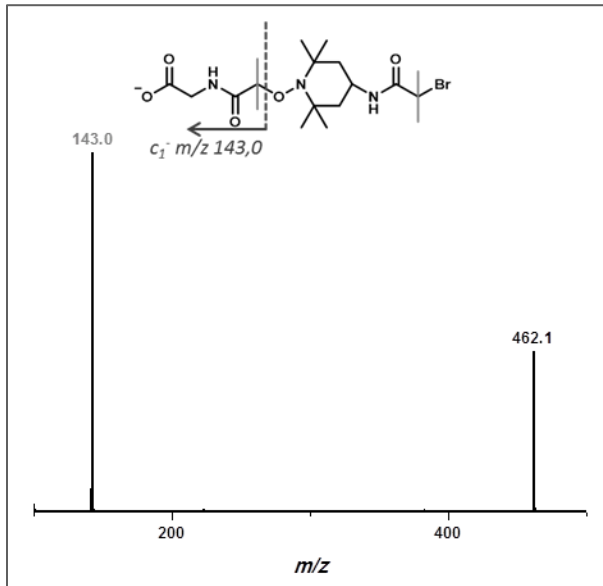


Figure 139 : Spectre MS/MS du pic (1').

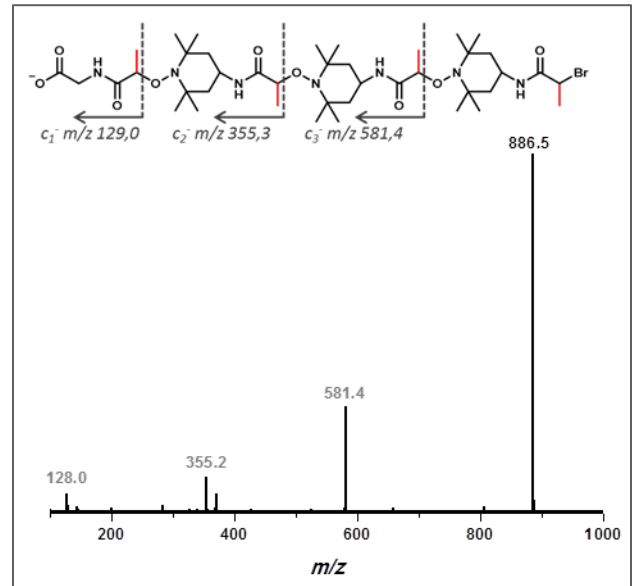


Figure 140: Spectre MS/MS du pic (2').

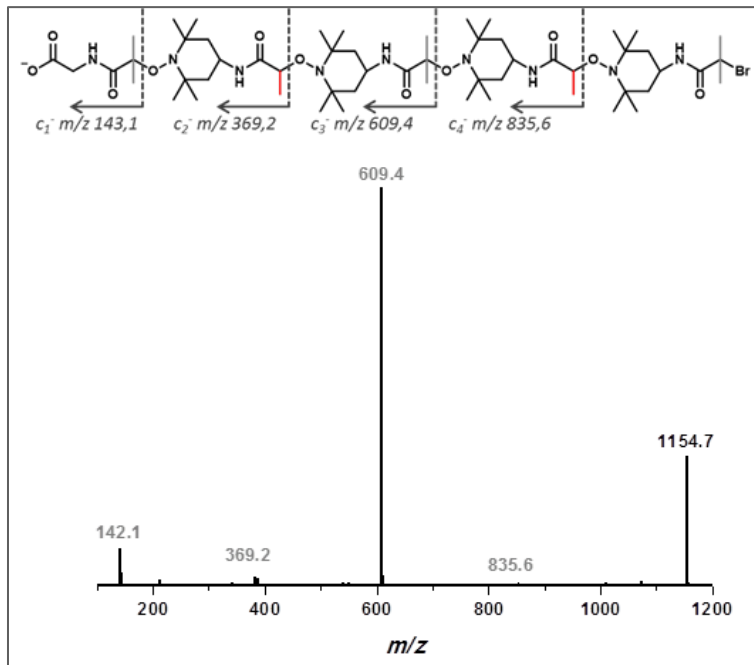


Figure 141 : Spectre MS/MS du pic (3').

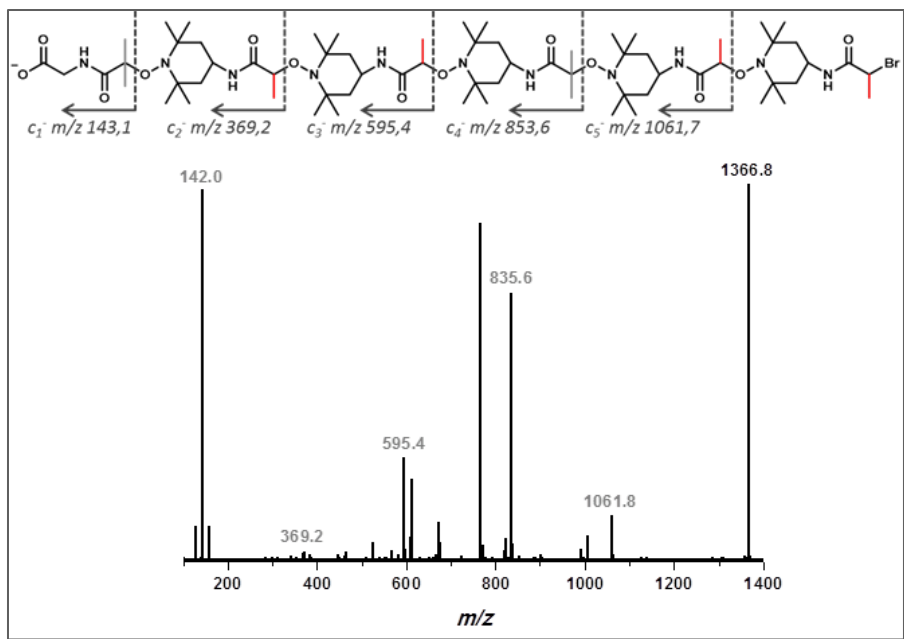


Figure 142 : Spectre MS/MS du pic (4').

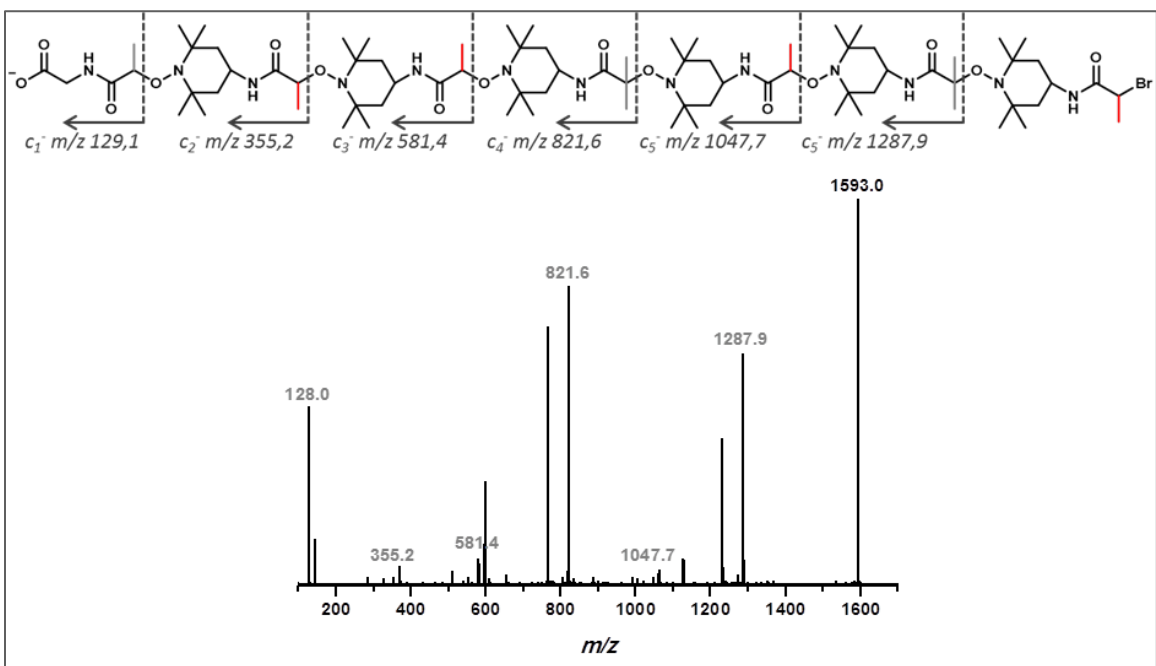
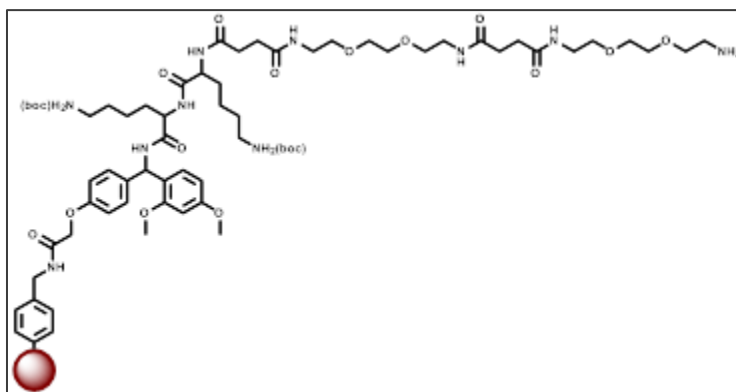


Figure 143 : Spectre MS/MS du pic (5').

### 3.2.4 Synthèse avec capping partiel sur support $R_{RA}$

La synthèse du composé **II-4-1** codant pour [11100] a été réalisée sur 71mg de résine  $R_{RA}$  avec un loading de  $0,59 \text{ mmol.g}^{-1}$ . La résine a été modifiée par l'équipe de Hans Börner à l'université de Berlin ; la structure est représentée **Figure 144**. La synthèse s'est déroulée selon la stratégie décrite ci-après. Les étapes 1 et 2 ont été alternées pour finir sur une étape 1 d'ajout d'anhydride bromé, puis l'étape 3 de clivage a été réalisée.



**Figure 144** : Structure de la résine  $R_{RA}$  reçue modifiée.

#### **Etape 1 : Ajout de l'unité codante**

Cette étape est effectuée dans les mêmes conditions que sur résine  $R_{GW}$ , correspondant à l'étape 2 pour l'ajout de l'anhydride codant pour 1, et à l'étape 3 pour l'ajout de l'anhydride codant pour 0.

#### **Etape 2 : Couplage radicalaire**

A la résine sont ajoutés 38 mg (5,3 eq.) de TEMPO-NH<sub>2</sub>, 4,5 mg (0,7 eq.) de TEMPO, et 35,8  $\mu\text{L}$  (3,2 eq.) de Me<sub>6</sub>TREN dans 5 mL de DMSO anhydre. Le milieu est purgé 15 minutes sous argon. Puis 18 mg (3 eq.) de CuBr sont introduits rapidement. L'agitation se tient sous argon pendant 40 minutes.

A partir du troisième couplage radicalaire, la réaction se tient pendant 90 minutes au micro-onde à 40°C.

#### **Etape 3 : Clivage**

A la résine est ajouté une solution de TFA/DCM (3 mL/3 mL), avec 4% de triéthylsilane. Le milieu est agité pendant 2 heures puis les billes de résine sont filtrées. Le filtrat est reconcentré puis précipité dans l'éther.

Le composé **II-4-1** a été analysé par MALDI-TOF (**Figure 145**).

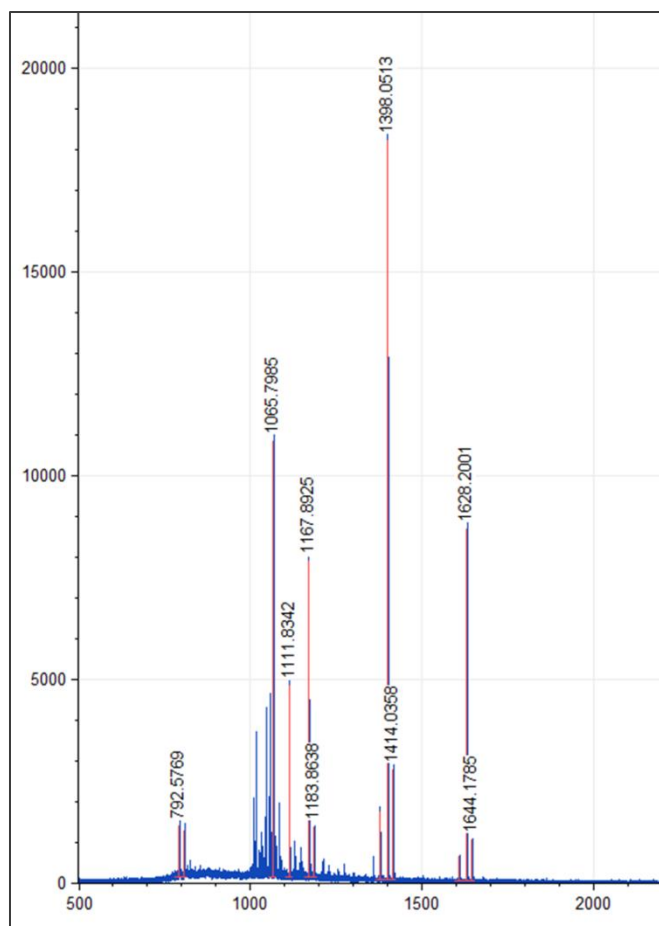


Figure 145 : Spectre MALDI-TOF du composé II-4-1.

### 3.2.5 Synthèse avec capping partiel sur support $R_{GW}$

Le composé II-4-2 a été synthétisé sur 200mg de résine  $R_{GW}$ , en suivant la stratégie décrite ci-après.

#### **Etape 1 : Déprotection de la résine $R_{GW}$**

0.2 g de résine  $R_{GW}$  sont placés dans un tube SPE, puis la résine est gonflée en agitant dans le  $CH_2Cl_2$  pendant 30 minutes. Puis, une solution pipéridine/  $CH_2Cl_2$  (3 mL/3 mL) est introduite au milieu. L'agitation se tient pendant 20 minutes, puis une nouvelle solution pipéridine/  $CH_2Cl_2$  (3 mL/3 mL) est introduite, pour une seconde agitation de 20 minutes afin de s'assurer de la déprotection de tous les sites. La résine est ensuite lavée au  $CH_2Cl_2$ .

#### **Etape 2 : Ajout de la lysine**

0,67 g (10eq.) de Fmoc-Lys(Boc)-OH et 0,73 g (10eq.) de PyBOP sont dissouts dans 6 mL de NMP. La solution ainsi que 0,48 mL (20 eq.) de DIPEA sont ajoutés aux billes de résine. Le milieu est agité pendant 60 minutes puis la résine est lavée au NMP.

### **Etape 3 : Déprotection de la lysine**

Une solution DCM/pipéridine (4,8 mL/1,2 mL) est ajoutée au milieu. L'agitation se tient pendant 10 minutes puis la résine est lavée au DCM. Cette étape de déprotection est répétée 2 fois supplémentaires.

Les étapes 2 et 3 sont répétées une fois supplémentaire.

### **Etape 4 : Ajout de la glycine**

0,42 g (10 eq.) de Fmoc-Gly-OH et 0,73 g (10 eq.) de PyBOP sont dissouts dans 6mL de NMP. La solution ainsi que 0,48 mL (20 eq.) de DIPEA sont ajoutés aux billes de résine. Le milieu est agité pendant 60 minutes puis la résine est lavée au NMP.

### **Etape 5 : Déprotection de la glycine**

Idem étape 3.

### **Etape 6 : Ajout de l'anhydride codant**

Cette étape est effectuée dans les mêmes conditions que sur résine  $R_{GW}$ , correspondant à l'étape 2 pour l'ajout de l'anhydride codant pour **1**, et à l'étape 3 pour l'ajout de l'anhydride codant pour **0**.

### **Etape 7 : Couplage radicalaire**

A la résine sont ajoutés 0,127 g (5,3 eq.) de TEMPO-NH<sub>2</sub>, 0,015 mg (0,7 eq.) de TEMPO, et 0,12 mL (3,2 eq.) de Me<sub>6</sub>TREN dans 5mL de DMSO anhydre. Le milieu est purgé 15 minutes sous argon. Puis 0,06 g (3 eq.) de CuBr sont introduits rapidement. L'agitation se tient sous argon pendant 40 minutes.

A partir du troisième couplage radicalaire, la réaction se tient pendant 90 minutes au micro-onde à 40°C.

Les étapes 6 et 7 sont répétées le nombre de fois choisies, en terminant par une étape 6.

### **Etape 8 : Clivage**

A la résine est ajoutée une solution de TFA/DCM (3 mL/3 mL), avec 4% de triéthylsilane. Le milieu est agité pendant 2 heures puis les billes de résine sont filtrées. Le filtrat est reconcentré puis précipité dans l'éther.

Le composé **II-4-2** a été analysé par ESI-HRMS (**Figure 146**).

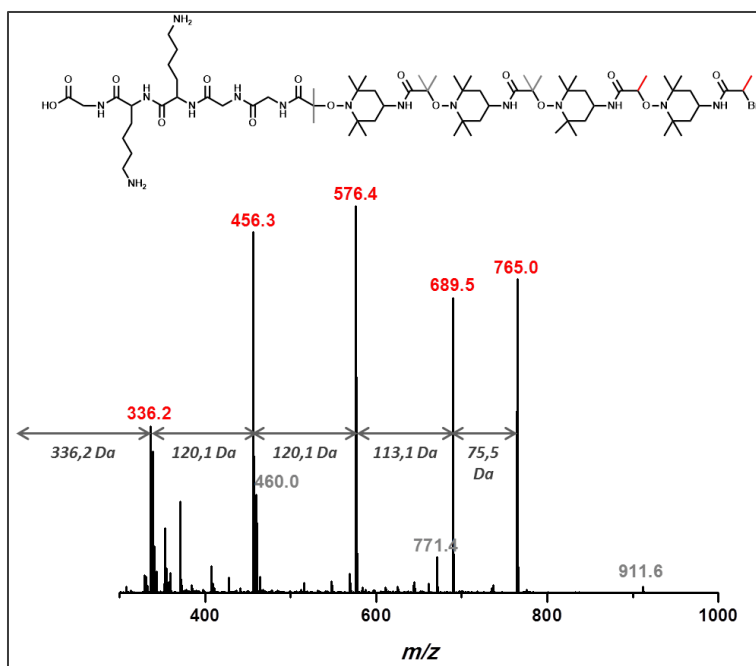
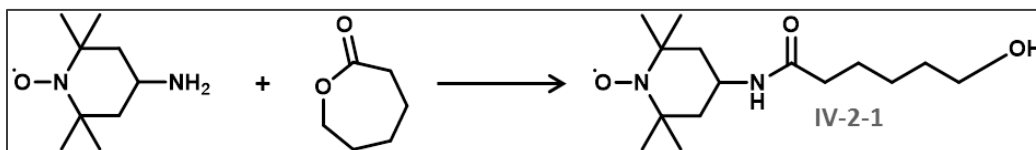


Figure 146 : Spectre ESI-HRMS du composé II-4-2.

### 3.3 Synthèses du Chapitre IV

#### 3.3.1 Synthèse du TEMPO-N<sub>3</sub>

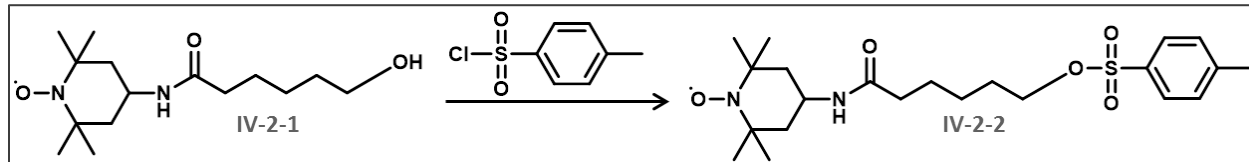
##### Etape 1 : Ouverture de l' $\epsilon$ -caprolactone



0.8 g (1 eq.) de TEMPO-NH<sub>2</sub> et 1,6 g (3 eq.) d' $\epsilon$ -caprolactone sont introduits dans un ballon. Le milieu est port » à reflux pendant 2 heures. Un suivi CCM est effectué et la réaction est stoppée lors de l'apparition de produits secondaires. A la fin de la réaction, le milieu est concentré et le produit est purifié sur colonne de silice en éluant au CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (95/5). Le produit est isolé avec un rendement de 66%.

ESI-HRMS : [M+H]<sup>+</sup> m/z<sub>calc</sub> 286.2251, m/z<sub>exp</sub> 286.2252

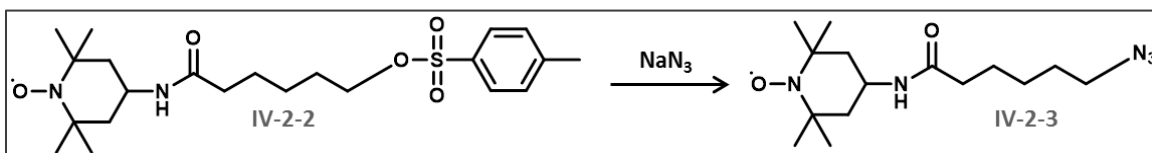
### Etape 2 : Tosylation



1 eq. du composé **IV-2-1** (0.880 g) est introduit dans un ballon (1 eq.) avec 1,8 eq. de triéthylamine, dans 30 mL de DCM anhydre. Le ballon est plongé dans un bain d'eau glacée puis 1,2 eq. de chlorure de tosylo sont ajoutées. Le milieu est mis à agiter pendant 2,5 heures à température ambiante. A la fin de la réaction, le composé **IV-2-2** est extrait au DCM puis lavé à l'eau. Il est ensuite purifié sur colonne de silice en éluant au DCM/MeOH (95/5). Le produit est obtenu avec un rendement de 70%.

ESI-HRMS :  $[M+H]^+$   $m/z_{\text{calc}}$  440.2339,  $m/z_{\text{exp}}$  440.2346

### Etape 3 : Ajout de l'unité azoture

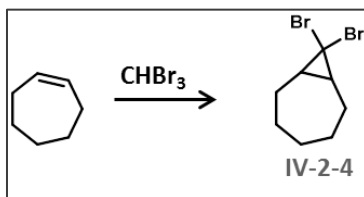


2 eq. (0.830 g) de NaN<sub>3</sub> sont ajoutés à 1 eq. du composé **IV-2-2** dans l'éthanol absolu. Le milieu est mis à agiter toute la nuit. A la fin de la réaction, le composé **IV-2-3** est extrait au DCM, lavé à l'eau, puis séché sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Il est obtenu avec un rendement quantitatif.

ESI-HRMS :  $[M+H]^+$   $m/z_{\text{calc}}$  311.2316,  $m/z_{\text{exp}}$  311.2312

## 3.3.2 Synthèse du 2(cyclooct-2-yne-1-yloxy)ethyl-2-bromo-2-méthylpropanoate

### Etape 1 : Synthèse du 8,8-dibromobicyclo[5.1.0]octane

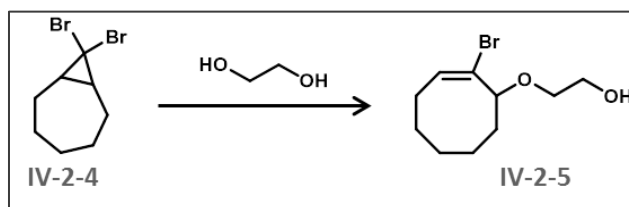


Dans un ballon sous argon sont introduits 4,4 mL (1 eq.) de cycloheptène, 7,6 mL (2 eq.) de *tert*-butoxyde de potassium, et 50 mL de pentane anhydre. Le milieu est refroidi à -10°C à l'aide d'un bain eau/acétone, puis 5,0 mL (1,5 eq.) de bromoforme sont ajoutés goutte à goutte. La réaction se tient toute la nuit à température ambiante. A la fin de la réaction, 50 mL d'eau sont ajoutés et le milieu est

acidifié à pH 1-2 par ajout d'acide chlorhydrique. Le composé **IV-2-4** est extrait à l'acétate d'éthyle, lavé à l'eau puis séché sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Le produit est isolé avec un rendement de 84%.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) : 2.33-2.21 (m, 2H), 1.94-1.78 (m, 3H), 1.77-1.66 (m, 2H), 1.43-1.31 (m, 2H), 1.24-1.09 (m, 3H).

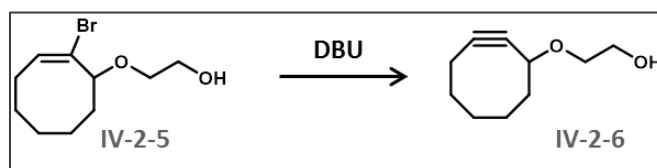
**Etape 2 : Synthèse du 2-((2-bromocyclooct-2-ène-1-yle)oxy)éthan-1-ol**



1 eq. du composé **II-2-4** (3.5 g) et 2 eq. d'éthane-1,2-diol anhydre sont dissouts dans 50 mL d'acétone anhydre dans un milieu placé sus argon. A l'exclusion de la lumière, 3 eq. de perchlorate d'argent anhydre sont ajoutés. Le milieu est agité à l'abri de la lumière pendant 1 heure à température ambiante. A la fin de la réaction, 100 mL d'acétate d'éthyle sont ajoutés au milieu qui est filtré. Une solution d'acide chlorhydrique à 1M est ajouté au milieu. Le composé **IV-2-5** est extrait à l'acétate d'éthyle puis lavé avec une solution d'acide chlorhydrique à 1M, puis à la saumure. Il est séché sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et obtenu avec un rendement de 44%.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) : 1.23-1.34(m, 2H), 1.43-1.55 (m, 2H), 1.67-1.80 (m, 2H), 1.67-1.76 (m, 2H), 2.27-2.34 (m, 2H), 3.46-3.49 (m, 1H), 3.61-3.66 (m, 1H), 3.80 (t, 2H), 3.92 (dd, 1H), 6.20 (dd, 1H).

**Etape 3 : Formation de la cyclooctyne**

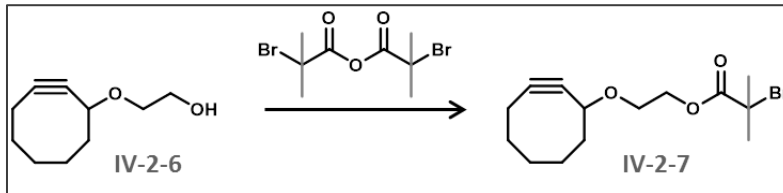


1eq. du composé **IV-2-5** (0.7 g) est dissout dans 20 mL de DMSO, puis chauffé à 60°C. Un premier ajout de DBU (2 eq.) est effectué puis le milieu est agité pendant 15 minutes. Un second ajout de DBU (8 eq.) est effectué puis le milieu est agité à température ambiante toute la nuit. A la fin de la réaction, le composé **IV-2-6** est extrait à l'acétate d'éthyle puis lavé à l'eau. Le produit est ensuite purifié sur colonne de silice en éluant au pentane/acétate d'éthyle (9/1). Le produit est obtenu avec un rendement de 21%.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ : 1.42-1.5 0(m, 1H), 1.60-1.72 (m, 2H), 1.88-1.95 (m, 2H), 1.91-2.00 (m, 2H), 2.12-2.35 (m, 3H), 3.44-3.52 (m, 2H), 3.65-3.71 (m, 1H), 3.72-3.77 (m, 2H), 4.20-4.24(m, 1H).



#### Etape 4 : Estérification



1 eq. du composé **IV-2-6** (0.1 g), 3 eq. d'HBTU, 3 eq. de DMAP et 3eq. d'anhydride 2-bromo-2-méthylpropanoïque sont dissouts dans 10 mL de THF. Le milieu est chauffé au micro-onde à 40°C pendant 90 minutes. A la fin de la réaction, le milieu est filtré et le filtrat est concentré. Le composé **IV-2-7** est purifié sur colonne de silice en éluant au CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> et obtenu avec un rendement de 50%.

ESI-MS

[M+H]<sup>+</sup> : m/z<sub>calc</sub> 304.19, m/z<sub>exp</sub> 304.16

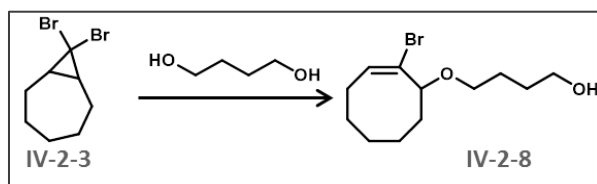
[M+Na]<sup>+</sup> : m/z<sub>calc</sub> 327.19, m/z<sub>exp</sub> 358.17

### 3.3.3 Synthèse du 2(cyclooct-2-yne-1-yloxy)butyl-2-bromo-2-méthylpropanoate

#### Etape 1 : Synthèse du 8,8-dibromobicyclo[5.1.0]octane

Idem à l'étape 1 du 3.3.2.

#### Etape 2 : Synthèse du 4-((2-bromocyclooct-2-ène-1-yle)oxy)butan-1-ol



1 eq. du composé **IV-2-3** (1 g) est dissout sous argon dans 2mL de toluène anhydre et 2,7mL de pyridine anhydre, dans un bicol équipé d'un reflux. Une suspension agitée de 3 eq. de perchlorate d'argent anhydre dans 30 eq. de 1,4-butanediol et 2,7 mL de toluène est ajoutée au milieu. Ce dernier est chauffé à reflux, pendant 4 heures, à l'abri de la lumière. A la fin de la réaction, le mélange réactionnel est filtré, puis extrait à l'éther en présence de saumure. La phase organique est lavée à l'eau, séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pour obtenir le composé **IV-2-8** avec un rendement de 70%.

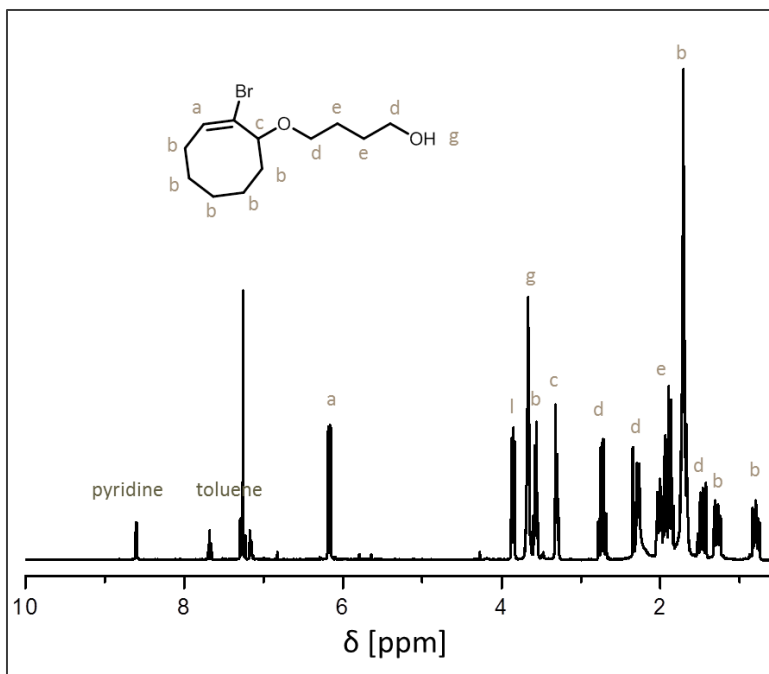
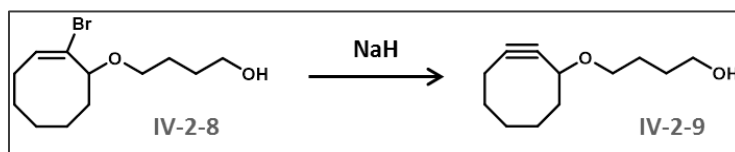


Figure 147 : RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) du composé IV-2-8.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 6.18 (dd,1H), 3.85-3.88 (q, 1H), 3.56-3.72 (m, 3H), 3.29-3.34 (m, 1H), 2.69-2.79 (m, 1H), 2.25-2.32 (m, 2H), 1.85-2.05 (m, 4H), 1.67-1.76 (m, 5H), 1.42-1.53 (m, 1H), 1.24-1.32 (m, 1H), 0.75-0.85 (m, 1H).

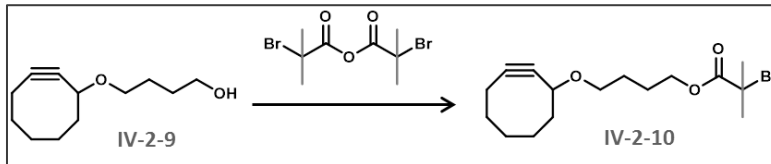
### Etape 3 : Formation de la cyclooctyne



Dans un ballon sous argon, 1eq. du composé IV-2-8 (0.7 g) est dissout dans une solution DMF anhydre/THF distillé (20 mL/20 mL). 7,3 eq. d'hydrure de sodium sont rapidement ajoutés au milieu sous flux d'argon. La réaction se tient pendant 5 heures à température ambiante. A la fin de la réaction, le milieu est refroidit à  $0^\circ\text{C}$ , puis neutralisé par ajout lent d'une solution d'acide chlorhydrique à 1 M. Le composé IV-2-9 est ensuite extrait à l'acétate d'éthyle, lavé à l'eau, puis séché sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Le résidu est ensuite purifié sur colonne de silice en éluant au DCM/acétone (95/5), pour obtenir le composé IV-2-9 avec un rendement de 58%.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 4.15-4.19 (m,1H), 3.60-3.66 (m,3H), 3.31-3.38 (m, 1H), 2.41 (br s, 1H), 2.08-2.34 (m, 3H), 1.78-2.00 (m, 4H), 1.61-1.69 (m, 6H), 1.45-1.50 (m, 1H).

#### Etape 4 : Estérification



1 eq. du composé **IV-2-9** (0.3 g) est dissout dans 5 mL de DCM, avec 4 eq. d'anhydride 2-bromo-2-méthylpropanoïque codant pour 1, 4 eq. de DCC et 2 eq. de DMAP. Le milieu est mis à agiter pendant 24 heures à température ambiante. A la fin de la réaction, le milieu est filtré et le filtrat est concentré. Le composé **IV-2-10** est purifié sur colonne de silice en éluant au cyclohexane/acétate d'éthyle (95/5), et obtenu avec un rendement quantitatif.

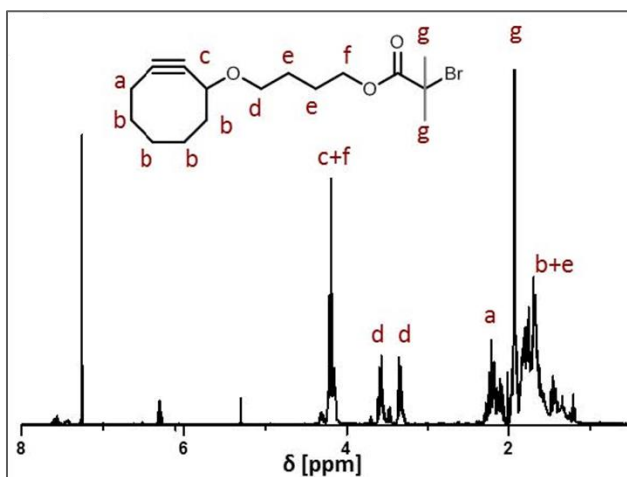


Figure 148 : RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) du composé IV-2-10.

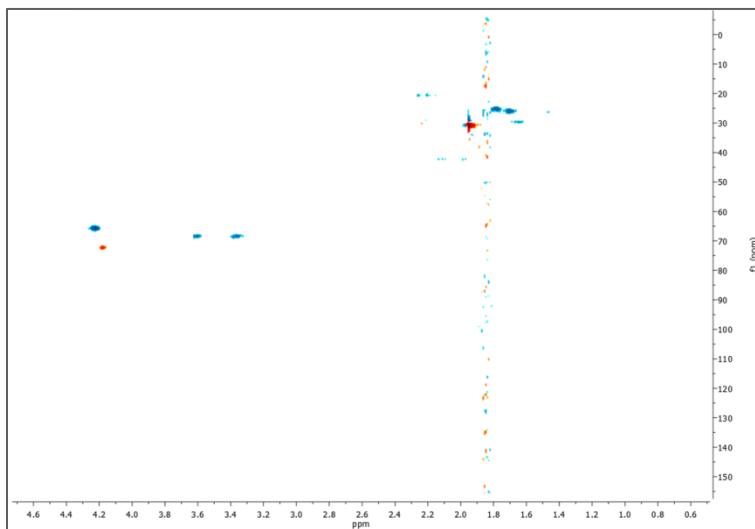


Figure 149 : Analyse RMN <sup>1</sup>H couplée <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) du composé IV-2-10.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 4.26-4.16 (m, 3H), 3.64-3.56 (m, 1H), 3.40-3.33 (m, 1H), 2.32-1.99 (m, 2H), 1.95 (s, 6H), 1.89-1.21 (m, 12H)

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 171.86, 99.65, 93.23, 72.60, 68.79, 66.07, 56.1, 42.51, 34.45, 30.95, 29.93, 26.53, 25.50, 20.86

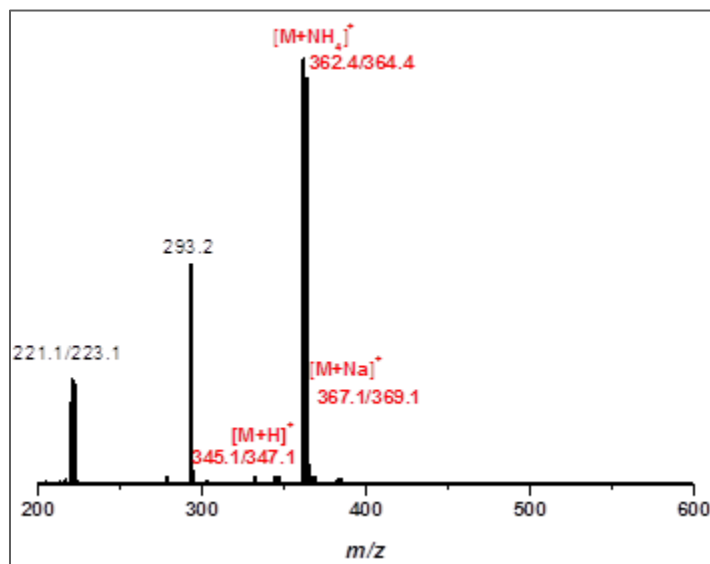
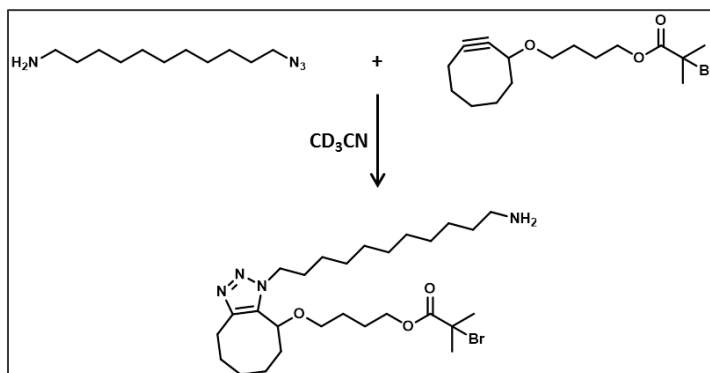


Figure 150 : ESI-HRMS du composé IV-2-10.

### 3.3.4 Réactions modèles dans un tube RMN

#### Réaction 1



0.01 g (1 eq.) de 11-azoture-1-aminodécane sont dissouts dans 0.5mL de  $\text{CD}_3\text{CN}$ , puis 0.03 g (2 eq.) du composé **IV-2-10** sont dissouts dans 0.5mL de  $\text{CD}_3\text{CN}$ . Les deux solutions sont mélangées à  $t_0$  dans un tube RMN, puis un suivi de la réaction est effectué par RMN  $^1\text{H}$ .

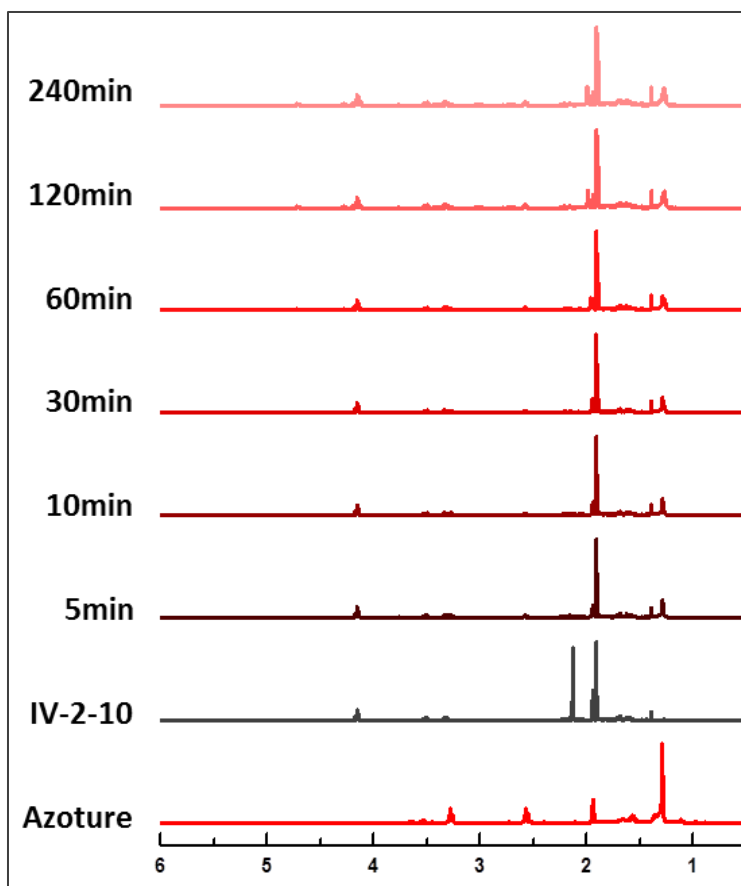
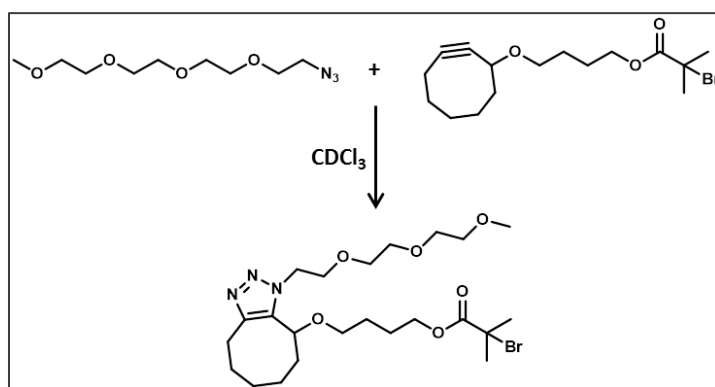


Figure 151 : Suivi cinétique par RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{CN}$ ) de la réaction 1.

### Réaction 2



0.004 g (1 eq.) de 13-azido-2,5,8,11-tetraoxatridecane sont dissouts dans 0.3 mL de  $\text{CDCl}_3$ , puis 0.012 g (2 eq.) du composé **IV-2-10** sont dissouts dans 0.3 mL de  $\text{CDCl}_3$ . Les deux solutions sont mélangées à  $t_0$  dans un tube RMN, puis un suivi de la réaction est effectué par RMN  $^1\text{H}$ .

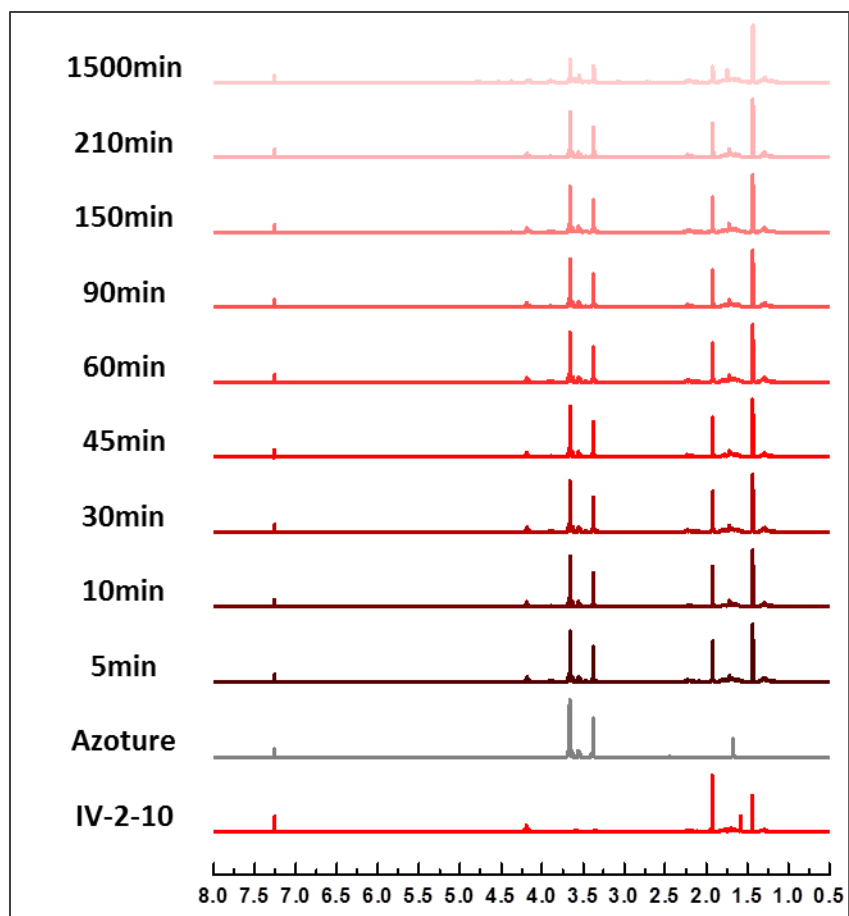
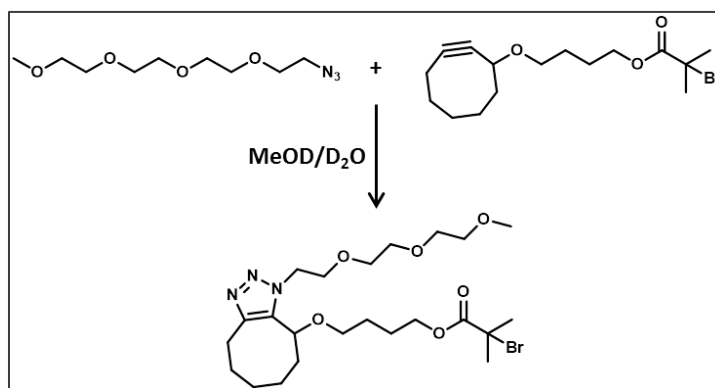


Figure 152 : Suivi cinétique par RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) de la réaction 2.

### Réaction 3



0.004 g (1 eq.) de 13-azido-2,5,8,11-tetraoxatridecane sont dissouts dans 0.3 mL du mélange MeOD/ $\text{D}_2\text{O}$  (80/20). 0.012 g (2 eq.) du composé **IV-2-10** sont dissouts dans 0.3 mL du mélange MeOD/ $\text{D}_2\text{O}$  (80/20). Les solutions sont mélangées à  $t_0$  dans un tube RMN, puis un suivi de la réaction est effectué par RMN  $^1\text{H}$ .

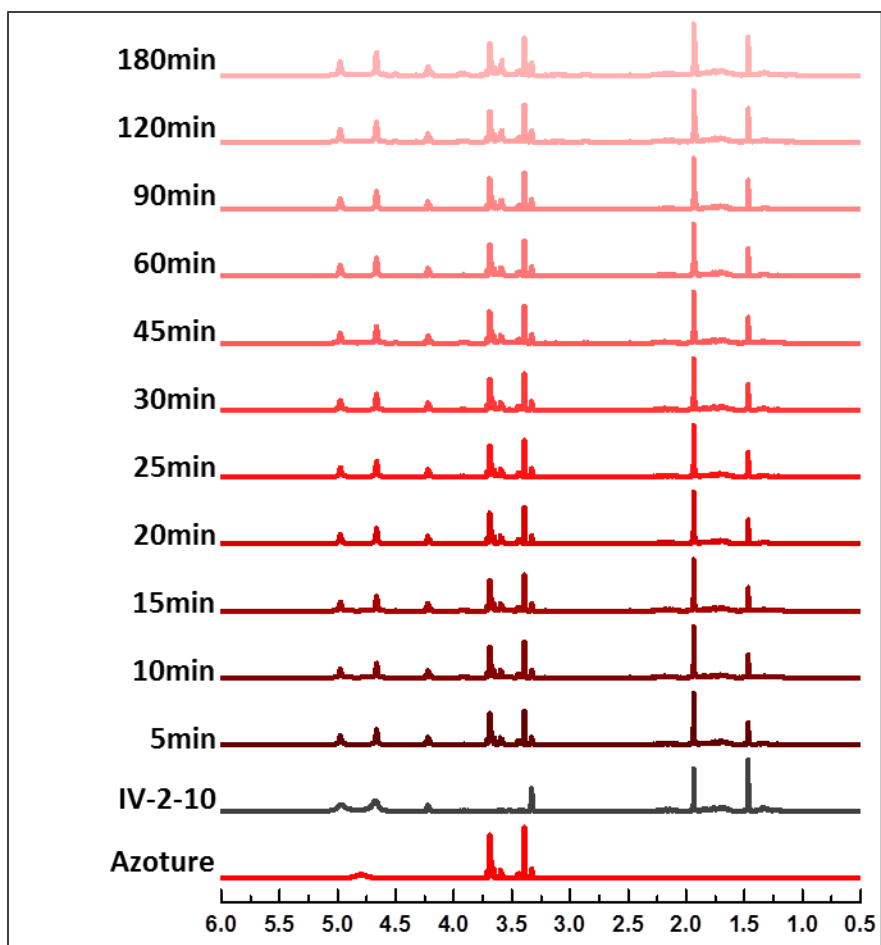


Figure 153 : Suivi cinétique par RMN  $^1\text{H}$  (MeOD/D $_2\text{O}$  ; 80/20) de la réaction 3.

### 3.3.5 Synthèse d'un oligo(alcoxyamine triazole) sur support $R_{GW}$ à température ambiante

La synthèse du composé **IV-3-4** codant pour [111] a été effectuée sur 50mg de support  $R_{GW}$  en suivant la stratégie décrite ci-après.

#### **Etape 1 : Déprotection de la résine**

Idem Etape 1 du 3.1.3

#### **Etape 2 : Ajout de l'anhydride codant**

Idem Etape 2 du 3.1.3 pour l'ajout de l'anhydride 1. Idem Etape 3 du 3.1.3 pour l'ajout de l'anhydride **0**.

#### **Etape 3 : Ajout du TEMPO- $N_3$**

0.065 g (6 eq.) de TEMPO- $N_3$  et 0.030 mL (3.2 eq.) de Me $_6$ TREN sont dissouts dans 1 mL de DMSO anhydre, et le mélange est introduit au tube SPE. Ce dernier est fermé à l'aide un septum, puis purgé à l'argon se pendant environ 15 minutes. 0.015 g (3 eq.) de CuBr sont rapidement ajoutés au milieu. L'agitation se tient pendant 40 minutes sous atmosphère inerte, puis les billes de résine sont lavées au THF.

#### **Etape 4 : SpAAC**

0.036 g (5 eq.) du composé **IV-2-10** sont ajoutés aux billes de résine dans 1 mL d'une solution MeOH/H<sub>2</sub>O (80/20). Le milieu est agité pendant 90 minutes puis les billes de résine sont lavées au méthanol et au THF.

Les étapes 3 et 4 sont répétées une fois supplémentaire.

#### **Etape 5 : Clivage**

Idem Etape 5 du 3.1.3

ESI-HRMS

$[M+2H^+]^{2+}$  :  $m/z_{\text{calc}}$  687.9041,  $m/z_{\text{exp}}$  687.9037

$[M+H^+]^+$  :  $m/z_{\text{calc}}$  1374.79,  $m/z_{\text{exp}}$  1374.8

### **3.3.6 Synthèse d'un oligo(alcoxyamine triazole) sur support $R_{GW}$ avec utilisation du micro-onde**

La synthèse du composé **IV-3-5** codant pour **[111]** a été effectuée sur 50 mg de support  $R_{GW}$ . Elle a été réalisée dans les mêmes conditions que 3.3.5. Pour les étapes 3 et 4, l'agitation a cependant été effectuée au micro-onde, en chauffant à 40°C.

ESI-HRMS

$[M+2H^+]^{2+}$  :  $m/z_{\text{calc}}$  687.9041,  $m/z_{\text{exp}}$  687.9049





# Références

---

- [1] A. J. Lopes, R. Pineda, *Procedia Computer Science* **2013**, *16*, 678.
- [2] H. Colquhoun, J.-F. Lutz, *Nat Chem* **2014**, *6*, 455.
- [3] M. N. Baibich, J. M. Broto, A. Fert, F. N. Van Dau, F. Petroff, P. Etienne, G. Creuzet, A. Friederich, J. Chazelas, *Phys. Rev. Lett.* **1988**, *61*, 2472.
- [4] G. Binasch, P. Grünberg, F. Saurenbach, W. Zinn, *Phys. Rev. B* **1989**, *39*, 4828.
- [5] D. M. Eigler, E. K. Schweizer, *Nature* **1990**, *344*, 524.
- [6] F. E. Kalff, M. P. Rebergen, E. Fahrenfort, J. Girovsky, R. Toskovic, J. L. Lado, J. Fernández Rossier, A. F. Otte, *Nat Nano* **2016**, *11*, 926.
- [7] J.-F. Lutz, M. Ouchi, D. R. Liu, M. Sawamoto, *Science* **2013**, *341*.
- [8] V. Zhirnov, R. M. Zadegan, G. S. Sandhu, G. M. Church, W. L. Hughes, *Nat Mater* **2016**, *15*, 366.
- [9] G. M. Church, Y. Gao, S. Kosuri, *Science* **2012**, *337*, 1628.
- [10] N. Goldman, P. Bertone, S. Chen, C. Dessimoz, E. M. LeProust, B. Sipos, E. Birney, *Nature* **2013**, *494*, 77.
- [11] Y. Erlich, D. Zielinski, *Science* **2017**, *355*, 950.
- [12] J.-F. Lutz, J.-M. Lehn, E. W. Meijer, K. Matyjaszewski, *Nat. Rev. Mat.* **2016**, *1*, 16024.
- [13] W. H. Carothers, *T. Faraday. Soc.* **1936**, *32*, 39.
- [14] N. Hadjichristidis, M. Pitsikalis, S. Pispas, H. Iatrou, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3747.
- [15] C. J. Hawker, A. W. Bosman, E. Harth, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3661.
- [16] K. Matyjaszewski, J. Xia, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2921.
- [17] M. Ouchi, T. Terashima, M. Sawamoto, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 4963.
- [18] G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, *Polymer* **2008**, *49*, 1079.
- [19] K. Matyjaszewski, N. V. Tsarevsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 6513.
- [20] R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2149.
- [21] T. T. Trinh, C. Laure, J.-F. Lutz, *Macromol. Chem. Phys.* **2015**, *216*, 1498.
- [22] R. K. Roy, A. Meszynska, C. Laure, L. Charles, C. Verchin, J.-F. Lutz, *Nature Communications* **2015**, *6*, 7237.
- [23] L. Charles, C. Laure, J.-F. Lutz, R. K. Roy, *Macromolecules* **2015**, *48*, 4319.
- [24] R. K. Roy, C. Laure, D. Fischer-Krauser, L. Charles, J.-F. Lutz, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 15677.
- [25] C. Laure, D. Karamessini, O. Milenkovic, L. Charles, J.-F. Lutz, *Angew. Chem. Int. Edit.* **2016**, *55*, 10722.
- [26] I. H. G. S. Consortium, *Nature* **2001**, *409*, 934.
- [27] U. Jinbo, T. Kato, M. Ito, *Entomological Science* **2011**, *14*, 107.
- [28] I. S. Reed, G. Solomon, *J. Soc. Ind. Appl. Math.* **1960**, *8*, 300.
- [29] R. N. Grass, R. Heckel, M. Puddu, D. Paunescu, W. J. Stark, *Angew. Chem. Int. Edit.* **2015**, *54*, 2552.
- [30] S. L. Shipman, J. Nivala, J. D. Macklis, G. M. Church, *Nature* **2017**, 23017.
- [31] J. M. Urban, J. Bliss, C. E. Lawrence, S. A. Gerbi, *bioRxiv* **2015**.
- [32] R. Merritt, *EE Times* **2014**, *6*.
- [33] M. D. Schulz, K. B. Wagener, *Macromol. Chem. and Phys.* **2014**, *215*, 1936.
- [34] R. Huisgen, *Angew. Chem. Int. Edit.* **1963**, *2*, 565.
- [35] K. Satoh, M. Mizutani, M. Kamigaito, *Chem. Commun.* **2007**, 1260.
- [36] G. Natta, G. Dall'Asta, G. Mazzanti, *Angew. Chem. Int. Edit.* **1964**, *3*, 723.
- [37] M. Lindmark-Hamberg, K. Wagener, *Macromolecules* **1987**, *20*, 2949.
- [38] K. Wagener, J. Boncella, J. Nel, *Macromolecules* **1991**, *24*, 2649.
- [39] J. E. O'Gara, K. B. Wagener, S. F. Hahn, *Macromol. Rapid Commun.* **1993**, *14*, 657.

- [40] Z.-L. Li, L. Li, X.-X. Deng, L.-J. Zhang, B.-T. Dong, F.-S. Du, Z.-C. Li, *Macromolecules* **2012**, *45*, 4590.
- [41] N. V. Tsarevsky, B. S. Sumerlin, K. Matyjaszewski, *Macromolecules* **2005**, *38*, 3558.
- [42] M.-A. Berthet, Z. Zarafshani, S. Pfeifer, J.-F. o. Lutz, *Macromolecules* **2009**, *43*, 44.
- [43] M. Mizutani, K. Satoh, M. Kamigaito, *Macromolecules* **2008**, *42*, 472.
- [44] J. Iqbal, B. Bhatia, N. K. Nayyar, *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 519.
- [45] K. Satoh, S. Ozawa, M. Mizutani, K. Nagai, M. Kamigaito, *Nat Commun.* **2010**, *1*, 6.
- [46] M. Minoda, M. Sawamoto, T. Higashimura, *Macromolecules* **1990**, *23*, 4889.
- [47] J. Vandenberg, G. Reekmans, P. Adriaensens, T. Junkers, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 10358.
- [48] L. Zeng, L. Burton, K. Yung, B. Shushan, D. Kassel, *J. Chromatogr. A.* **1998**, *794*, 3.
- [49] S. Ida, T. Terashima, M. Ouchi, M. Sawamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 10808.
- [50] S. Ida, M. Ouchi, M. Sawamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 14748.
- [51] Y. Hibi, M. Ouchi, M. Sawamoto, *Nat Commun.* **2016**, *7*.
- [52] D. Oh, M. Ouchi, T. Nakanishi, H. Ono, M. Sawamoto, *ACS Macro Lett.* **2016**, *5*, 745.
- [53] J. M. G. Cowie, in *Alternating Copolymers*, P. Press, Ed., Springer US, Boston, MA, 1985.
- [54] D. Benoit, C. J. Hawker, E. E. Huang, Z. Lin, T. P. Russell, *Macromolecules* **2000**, *33*, 1505.
- [55] S. Pfeifer, J.-F. Lutz, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 9542.
- [56] S. Pfeifer, J. F. Lutz, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 10949.
- [57] S. Srichan, L. Oswald, M. Zamfir, J.-F. Lutz, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 1517.
- [58] N. Baradel, S. Fort, S. Halila, N. Badi, J. F. Lutz, *Angew. Chem. Int. Edit.* **2013**, *52*, 2335.
- [59] C. R. Becer, *Macromol. Rapid Commun.* **2012**, *33*, 742.
- [60] D. Chan-Seng, M. Zamfir, J.-F. Lutz, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2012**, *51*, 12254.
- [61] B. V. K. J. Schmidt, N. Fechler, J. Falkenhagen, J.-F. Lutz, *Nat Chem* **2011**, *3*, 234.
- [62] G. Gody, T. Maschmeyer, P. B. Zetterlund, S. Perrier, *Nat Commun.* **2013**, *4*, 2505.
- [63] A. Anastasaki, V. Nikolaou, G. S. Pappas, Q. Zhang, C. Wan, P. Wilson, T. P. Davis, M. R. Whittaker, D. M. Haddleton, *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 3536.
- [64] H. Park, T.-L. Choi, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 7270.
- [65] W. R. Gutekunst, C. J. Hawker, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 8038.
- [66] T. R. Hoye, C. S. Jeffrey, M. A. Tennakoon, J. Wang, H. Zhao, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10210.
- [67] V. Du Vigneaud, *Science* **1956**, *123*, 967.
- [68] V. d. Vigneaud, C. Ressler, C. J. M. Swan, C. W. Roberts, P. G. Katsoyannis, S. Gordon, *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 4879.
- [69] R. B. Merrifield, *Angew. Chem. Int. Edit.* **1985**, *24*, 799.
- [70] R. Merrifield, *Science* **1965**, *150*, 178.
- [71] L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 4427.
- [72] V. Mäde, S. Els-Heindl, A. G. Beck-Sickinger, *Beilstein J. Org. Chem.* **2014**, *10*, 1197.
- [73] R. Eritja, *Int. J. Pept. Res. Ther.* **2007**, *13*, 53.
- [74] R. L. Letsinger, V. Mahadevan, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 3526.
- [75] S. L. Beaucage, R. P. Iyer, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 2223.
- [76] N. Badi, J.-F. Lutz, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 3383.
- [77] J.-F. Lutz, H. G. Börner, *Prog. Polym. Sci.* **2008**, *33*, 1.
- [78] H. G. Börner, *Prog. Polym. Sci.* **2009**, *34*, 811.
- [79] T. G. Edwardson, K. M. Carneiro, C. J. Serpell, H. F. Sleiman, *Angew. Chem. Int. Edit.* **2014**, *53*, 4567.
- [80] J. Hentschel, E. Krause, H. G. Börner, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7722.
- [81] H.-A. Klok, *Macromolecules* **2009**, *42*, 7990.
- [82] J. K. Young, J. C. Nelson, J. S. Moore, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 10841.
- [83] E. L. Elliott, C. R. Ray, S. Kraft, J. R. Atkins, J. S. Moore, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 5282.
- [84] A. Al Ouahabi, L. Charles, J.-F. Lutz, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 5629.
- [85] S. Beaucage, M. Caruthers, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 1859.

- [86] A. Al Ouahabi, M. Kotera, L. Charles, J.-F. Lutz, *ACS Macro Lett.* **2015**, *4*, 1077.
- [87] S. Pfeifer, J.-F. Lutz, *Macromol. Chem. and Phys.* **2010**, *211*, 940.
- [88] S.-S. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 1328.
- [89] E. Bayer, M. Mutter, *Nature* **1972**, *237*, 512.
- [90] A. Meszynska, N. Badi, H. G. Börner, J.-F. Lutz, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 3887.
- [91] R. Szweda, C. Chendo, L. Charles, P. N. Baxter, J.-F. Lutz, in *Chem. Commun.*, 2017.
- [92] P. R. L. Malenfant, J. M. J. Fréchet, *Chem. Commun.* **1998**, 2657.
- [93] O. Renaudet, J.-L. Reymond, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 397.
- [94] K. Rose, J. Vizzavona, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7034.
- [95] L. Hartmann, E. Krause, M. Antonietti, H. G. Börner, *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 1239.
- [96] L. Hartmann, H. G. Börner, *Adv. Mater.* **2009**, *21*, 3425.
- [97] L. Hartmann, S. Häfele, R. Peschka-Süss, M. Antonietti, H. G. Börner, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 2025.
- [98] L. Hartmann, *Macromol. Chem. Phys.* **2011**, *212*, 8.
- [99] R. N. Zuckermann, J. M. Kerr, S. B. H. Kent, W. H. Moos, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10646.
- [100] J. Sun, R. N. Zuckermann, *ACS Nano* **2013**, *7*, 4715.
- [101] A. M. Rosales, R. A. Segalman, R. N. Zuckermann, *Soft Matter* **2013**, *9*, 8400.
- [102] R. Luxenhofer, C. Fetsch, A. Grossmann, *J. Polym. Sci. Part A, Polym. Sci.* **2013**, *51*, 2731.
- [103] R. J. Simon, R. S. Kania, R. N. Zuckermann, V. D. Huebner, D. A. Jewell, S. Banville, S. Ng, L. Wang, S. Rosenberg, C. K. Marlowe, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1992**, *89*, 9367.
- [104] S. Pfeifer, Z. Zarafshani, N. Badi, J.-F. Lutz, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 9195.
- [105] T. T. Trinh, L. Oswald, D. Chan-Seng, J.-F. Lutz, *Macromol. Rapid Commun.* **2014**, *35*, 141.
- [106] G. Fiers, D. Chouikhi, L. Oswald, A. Al Ouahabi, D. Chan-Seng, L. Charles, J. F. Lutz, *Chem-Eur. J.* **2016**, *22*, 17945.
- [107] R. K. Roy, A. Meszynska, C. Laure, L. Charles, C. Verchin, J.-F. Lutz, *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 7237.
- [108] U. S. Gunay, B. E. Petit, D. Karamessini, A. Al Ouahabi, J.-A. Amalian, C. Chendo, M. Bouquey, D. Gigmes, L. Charles, J.-F. Lutz, *Chem* **2016**, *1*, 114.
- [109] A. K. Ghosh, T. T. Doung, S. P. McKee, W. J. Thompson, *Tetrahedron. Lett.* **1992**, *33*, 2781.
- [110] G. Cavallo, A. Al Ouahabi, L. Oswald, L. Charles, J.-F. Lutz, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 9417.
- [111] L. Charles, G. Cavallo, V. Monnier, L. Oswald, R. Szweda, J.-F. Lutz, *J. Am. Soc. Mass. Spectr.* **2017**, *28*, 1149.
- [112] P. Espeel, L. L. G. Carrette, K. Bury, S. Capenberghs, J. C. Martins, F. E. Du Prez, A. Madder, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2013**, *52*, 13261.
- [113] S. Martens, J. Van den Begin, A. Madder, F. E. Du Prez, P. Espeel, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 14182.
- [114] M. Porel, C. A. Alabi, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 13162.
- [115] W. Zhang, D. P. Curran, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 11837.
- [116] S. C. Solleder, M. A. R. Meier, *Angew. Chem., Int. Edit.* **2014**, *53*, 711.
- [117] O. E. Vercillo, C. K. Z. Andrade, L. A. Wessjohann, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 205.
- [118] S. C. Solleder, K. S. Wetzel, M. A. R. Meier, *Polym. Chem.* **2015**, 3201.
- [119] H. Mutlu, J.-F. Lutz, *Angew. Chem. Int. Edit.* **2014**, *53*, 13010.
- [120] F. Sanger, H. Tuppy, *Biochemic. J.* **1951**, *49*, 463.
- [121] J. Randall, "Polymer sequence determination: carbon-13 NMR method", Elsevier, 2012.
- [122] F. A. Bovey, P. A. Mirau, "NMR of Polymers", Academic Press, 1996.
- [123] F. Sanger, S. Nicklen, A. R. Coulson, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1977**, *74*, 5463.
- [124] K. Biemann, *Int. J. Mass Spectrom.* **2007**, *259*, 1.
- [125] K. Biemann, *Biological Mass Spectrometry* **1988**, *16*, 99.
- [126] B. T. Chait, R. Wang, R. C. Beavis, S. Kent, *Science* **1993**, *262*, 89.
- [127] F. Sanger, J. Donelson, A. Coulson, H. Kössel, D. Fischer, *Proc. Natl Acad.Sci.* **1973**, *70*, 1209.

- [128] F. Sanger, A. R. Coulson, *J. Mol. Biol.* **1975**, *94*, 441.
- [129] L. M. Smith, J. Z. Sanders, R. J. Kaiser, P. Hughes, C. Dodd, C. R. Connell, C. Heiner, S. B. Kent, L. E. Hood, *Nature* **1986**, *321*, 674.
- [130] D. C. Koboldt, K. M. Steinberg, D. E. Larson, R. K. Wilson, E. R. Mardis, *Cell* **2013**, *155*, 27.
- [131] J. J. Kasianowicz, E. Brandin, D. Branton, D. W. Deamer, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1996**, *93*, 13770.
- [132] Y. L. Ying, J. Zhang, R. Gao, Y. T. Long, *Angew. Chem. Int. Edit.* **2013**, *52*, 13154.
- [133] S. M. Bezrukov, I. Vodyanoy, R. A. Brutyan, J. J. Kasianowicz, *Macromolecules* **1996**, *29*, 8517.
- [134] G. Baaken, N. Ankri, A.-K. Schuler, J. r. Ruhe, J. C. Behrends, *Acs Nano* **2011**, *5*, 8080.
- [135] G. Baaken, I. Halimeh, L. Bacri, J. Pelta, A. Oukhaled, J. C. Behrends, *Acs Nano* **2015**, *9*, 6443.
- [136] F. Bovey, *J. Polym. Sci.* **1962**, *62*, 197.
- [137] F. Bovey, "*High resolution NMR of macromolecules*", Elsevier, 2012.
- [138] M. Zamfir, J.-F. Lutz, *Nat. Commun.* **2012**, *3*, 1138.
- [139] H. M. Colquhoun, Z. Zhu, *Angew. Chem. Int. Edit.* **2004**, *43*, 5040.
- [140] A. E. Tonelli, *Macromolecules* **2009**, *42*, 3830.
- [141] M. S. Montaudo, *Mass. Spectrom. Rev* **2002**, *21*, 108.
- [142] T. Gruending, S. Weidner, J. Falkenhagen, C. Barner-Kowollik, *Polym. Chem.* **2010**, *1*, 599.
- [143] M. G. Paulick, K. M. Hart, K. M. Brinner, M. Tjandra, D. H. Charych, R. N. Zuckermann, *J. Comb. Chem.* **2006**, *8*, 417.
- [144] A. A. Ouahabi, M. Kotera, L. Charles, J.-F. o. Lutz, *ACS Macro. Lett.* **2015**, *4*, 1077.
- [145] J. A. Amalian, A. Al Ouahabi, G. Cavallo, N. F. Knig, S. Poyer, J. F. Lutz, L. Charles, *J. Mass. Spectrom.* **2017**.
- [146] L. Charles, C. Laure, J.-F. o. Lutz, R. K. Roy, *Macromolecules* **2015**, *48*, 4319.
- [147] A. Meszynska, Université de Strasbourg, 2014.
- [148] E. stmark, S. Harrisson, K. L. Wooley, E. E. Malmström, *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 1138.
- [149] E. Rizzardo, D. H. Solomon, *Polym. Bull.* **1979**, *1*, 529.
- [150] K. Matyjaszewski, B. E. Woodworth, X. Zhang, S. G. Gaynor, Z. Metzner, *Macromolecules* **1998**, *31*, 5955.
- [151] J. Kulis, C. A. Bell, A. S. Micallef, Z. Jia, M. J. Monteiro, *Macromolecules* **2009**, *42*, 8218.
- [152] L. Marais, Z. Gallot, H. Benoît, *J. Appl. Polym. Sci.* **1977**, *21*, 1955.
- [153] A. M. Striegel, W. W. Yau, J. J. Kirkland, D. D. Bly, "Band Broadening", in *Modern Size-Exclusion Liquid Chromatography*, John Wiley & Sons, Inc., 2009, p. 49.
- [154] P. Lidstrm, J. Tierney, B. Wathey, J. Westman, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 9225.
- [155] L. M. Gaetke, C. K. Chow, *Toxicology* **2003**, *189*, 147.
- [156] G. R. Buettner, B. A. Jurkiewicz, *Radiat. Res.* **1996**, *145*, 532.
- [157] W. Jakubowski, K. Matyjaszewski, *Macromolecules* **2005**, *38*, 4139.
- [158] K. Min, W. Jakubowski, K. Matyjaszewski, *Macromol. Rapid. Commun.* **2006**, *27*, 594.
- [159] K. Matyjaszewski, H. Dong, W. Jakubowski, J. Pietrasik, A. Kusumo, *Langmuir* **2007**, *23*, 4528.
- [160] B. M. Cooper, D. Chan-Seng, D. Samanta, X. Zhang, S. Parelkar, T. Emrick, *Chem. Commun.* **2009**, 815.
- [161] A. J. Gross, R. Haddad, C. Travelet, E. Reynaud, P. Audebert, R. Borsali, S. Cosnier, *Langmuir* **2016**, *32*, 11939.
- [162] T. T. Trinh, L. Oswald, D. Chan-Seng, L. Charles, J.-F. Lutz, *Chem-Eur. J.* **2015**, *21*, 11961.
- [163] L. Oswald, A. Al Ouahabi, L. Charles, J.-F. Lutz, *Chem-Eur. J.* **2016**, *22*, 3462.
- [164] M. Matsugi, D. P. Curran, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2717.
- [165] S. Binauld, C. J. Hawker, E. Fleury, E. Drockenmuller, *Angew. Chem. Int. Edit.* **2009**, *48*, 6654.
- [166] K. Takizawa, C. Tang, C. J. Hawker, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1718.
- [167] G. M. Brooke, J. A. Hugh MacBride, S. Mohammed, M. C. Whiting, *Polymer* **2000**, *41*, 6457.
- [168] S. S. Reddy, X. Dong, R. Murgasova, A. I. Gusev, D. M. Hercules, *Macromolecules* **1999**, *32*, 1367.

- [169] T. T. Trinh, L. Oswald, D. Chan-Seng, L. Charles, J.-F. Lutz, *Chemistry – A European Journal* **2015**, *21*, 11961.
- [170] J.-F. Lutz, *Macromolecules* **2015**, *48*, 4759.
- [171] H. J. Bae, S. Bae, C. Park, S. Han, J. Kim, L. N. Kim, K. Kim, S.-H. Song, W. Park, S. Kwon, *Adv. Mater.* **2015**, *27*, 2083.
- [172] M. Ecker, T. Pretsch, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 286.
- [173] T. Sarkar, K. Selvakumar, L. Motiei, D. Margulies, *Nat. Commun.* **2016**, *7*, 11374.
- [174] X. Hou, C. Ke, C. J. Bruns, P. R. McGonigal, R. B. Pettman, J. F. Stoddart, *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 6884.
- [175] D. Paunescu, W. J. Stark, R. N. Grass, *Powder. Technol.* **2016**, *291*, 344.
- [176] J. C. Jaime, J. C. V. Sabagh, R. A. Simonetta, Google Patents, 2004.
- [177] T. T. Trinh, C. Laure, J.-F. Lutz, *Macromol. Chem. and Phys.* **2015**, *216*, 1498.
- [178] N. Cech, C. Enke, *Anal. Chem* **2001**, *73*, 4632.
- [179] J. Dommerholt, F. P. Rutjes, F. L. van Delft, *Top. Curr. Chem.* **2016**, *374*, 16.
- [180] J. F. Lutz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2182.
- [181] H. Meier, *Synthesis* **1972**, 235.
- [182] J. C. Jewett, C. R. Bertozzi, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1272.
- [183] R. B. Turner, A. Jarrett, P. Goebel, B. J. Mallon, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 790.
- [184] R. D. Bach, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5233.
- [185] C. Airoidi, S. Mourtas, F. Cardona, C. Zona, E. Sironi, G. D'Orazio, E. Markoutsas, F. Nicotra, S. G. Antimisiaris, B. La Ferla, *Eur. J. Med. Chem* **2014**, *85*, 43.
- [186] M. A. Van Dongen, J. E. Silpe, C. A. Dougherty, A. K. Kanduluru, S. K. Choi, B. G. Orr, P. S. Low, M. M. Banaszak Holl, *Mol. Pharm.* **2014**, *11*, 1696.
- [187] T. Plass, S. Milles, C. Koehler, C. Schultz, E. A. Lemke, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 3878.
- [188] I. Singh, F. Heaney, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 2706.
- [189] N. J. Agard, J. A. Prescher, C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15046.
- [190] C. G. Gordon, J. L. Mackey, J. C. Jewett, E. M. Sletten, K. Houk, C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 9199.
- [191] R. N. Butler, W. J. Cunningham, A. G. Coyne, L. A. Burke, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 11923.
- [192] J. M. Baskin, J. A. Prescher, S. T. Laughlin, N. J. Agard, P. V. Chang, I. A. Miller, A. Lo, J. A. Codelli, C. R. Bertozzi, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **2007**, *104*, 16793.



# Liste des publications

---

1. Trinh, T. T.; Laure, C.; Lutz, J.-F., Synthesis of Monodisperse Sequence-Defined Polymers Using Protecting-Group-Free Iterative Strategies. *Macromol.Chem.and Phys.* **2015**, *216* (14), 1498-1506.
2. Roy, R. K.; Meszynska, A.; Laure, C.; Charles, L.; Verchin, C.; Lutz, J.-F., Design and synthesis of digitally encoded polymers that can be decoded and erased. *Nat. Commun.*, **2015**, *6*, 7237.
3. Charles, L.; Laure, C.; Lutz, J.-F.; Roy, R. K., MS/MS Sequencing of Digitally Encoded Poly(alkoxyamine amide)s. *Macromolecules*, **2015**, *48* (13), 4319-4328.
4. Charles, L.; Laure, C.; Lutz, J.-F.; Roy, R. K., Tandem mass spectrometry sequencing in the negative ion mode to read binary information encoded in sequence-defined poly(alkoxyamine amide)s. *Rapid Commun. Mass. Sp.*, **2016**, *30* (1), 22-28.
5. Roy, R. K.; Laure, C.; Fischer-Krauser, D.; Charles, L.; Lutz, J.-F., Convergent synthesis of digitally-encoded poly(alkoxyamine amide)s. *Chem. Commun.*, **2015**, *51* (86), 15677-15680.
6. Laure, C.; Karamessini, D.; Milenkovic, O.; Charles, L.; Lutz, J.-F., Coding in 2D: Using Intentional Dispersity to Enhance the Information Capacity of Sequence-Coded Polymer Barcodes. *Angew. Chem. Int. Edit.*, **2016**, *55*, 10722-10725.





## Résumé

Des polymères à séquences contrôlées contenant de l'information numérique ont été synthétisés par voie itérative supportée, via une stratégie « AB+CD » mettant en jeu deux réactions orthogonales. Cette stratégie a permis la synthèse de poly(alcoxyamine amide)s et de poly(alcoxyamine triazole)s à séquences contrôlées isomoléculaires, sans avoir recours à des chimies de protection. Les poly(alcoxyamine amide)s ont été synthétisés sur différents supports – solides, solubles et fluorés – ainsi que par une approche convergente, tandis que les poly(alcoxyamine triazole)s ont permis l'étude de la SpAAC qui met en jeu une cyclooctyne et un azoture pour former un triazole sans utilisation de cuivre. La structure des polymères obtenus a chaque fois permis un séquençage par MS/MS, grâce à la présence de liaisons faibles, permettant de décoder le code binaire incrémenté le long des chaînes via des groupements codant pour 0 ou pour 1. De plus, les poly(alcoxyamine amide)s ont aussi été optimisés pour l'encodage de données : via la synthèse de codes-barres moléculaires pour augmenter la capacité de stockage, ainsi que via une polymolécularité induite permettant la lecture du code incrémenté sans fragmentation.

Mots-clés : Synthèse itérative, polymères numériques synthétiques, polymères à séquences contrôlées, séquençage par MS/MS.

## Résumé en anglais

Information-containing sequenced-controlled polymers were synthesized by an « AB+CD » supported iterative strategy, involving two orthogonal reactions. This approach allowed the protecting-group-free synthesis of monodisperse sequence-controlled poly(alkoxyamine amide)s and poly(alkoxyamine triazole)s. The poly(alkoxyamine amide)s were synthesized on different supports - solid, soluble, and fluorinated – and also by a convergent strategy. Besides, the synthesis of the poly(alkoxyamine triazole)s allowed studying the SpAAC, involving a cyclooctyne and an azide for a copper-free formation of a triazole. The structure of the obtained polymers also allowed an MS/MS sequencing of the binary code implemented along the chains through functional groups coding for 0 or 1, thanks to the presence of weak linkages. Furthermore, the poly(alkoxyamine amide)s were optimized for data encoding, by synthesizing molecular barcodes to increase storage capacity, and by an induced polydispersity to decode the polymers without fragmentation.

Key words : Iterative synthesis, synthetic data-encoded polymers, sequence-controlled polymers, MS/MS sequencing.