



HAL
open science

Polymères à empreintes moléculaires biodégradables : synthèse de nouveaux monomères fonctionnels et agents réticulants à base de sucres

Gilbert Duhirwe

► To cite this version:

Gilbert Duhirwe. Polymères à empreintes moléculaires biodégradables : synthèse de nouveaux monomères fonctionnels et agents réticulants à base de sucres. Autre. Université de Picardie Jules Verne, 2017. Français. NNT : 2017AMIE0008 . tel-03692919

HAL Id: tel-03692919

<https://theses.hal.science/tel-03692919>

Submitted on 10 Jun 2022

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.

Thèse de Doctorat

*Mention Chimie
Spécialité Chimie organique - Sucrochimie*

présentée à *l'Ecole Doctorale en Sciences Technologie et Santé (ED 585)*

de l'Université de Picardie Jules Verne

par

Gilbert Duhirwe

pour obtenir le grade de Docteur de l'Université de Picardie Jules Verne

*Polymères à empreintes moléculaires biodégradables :
synthèse de nouveaux monomères fonctionnels et agents
réticulants à base de sucres*

Soutenue le 27 Janvier 2017, après avis des rapporteurs, devant le jury d'examen :

M. Vincent Ferrières, Professeur

Mme Nadège Lubin-Germain, Professeur

Mme Véronique Bonnet, Maître de Conférences, HDR

Mme Aude Falcimaigne-Cordin, Maître de Conférences

M. José Kovensky, Professeur

M. Eric Grand, Maître de Conférences, HDR

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Directeur de thèse

Co-Encadrant

Remerciements

Je remercie le Conseil Régional de Picardie pour le financement et l'intérêt porté sur ces travaux.

Je remercie les membres du jury, Pr Vincent FERRIÈRES (Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes), Pr Nadège LUBIN-GERMAIN (Université de Cergy-Pontoise), en tant que rapporteurs et Dr Aude FALCIMAIGNE-CORDIN (Université de Technologie de Compiègne), examinatrice, d'avoir accepté de juger ces travaux de thèse.

Ce travail doctoral de 3 ans s'est effectué dans le Laboratoire de Glycochimie, des Antimicrobiens et des Agroressources (LG2A) UMR 7378, sous la direction du Professeur José KOVENSKY et du Docteur Eric GRAND. Je vous adresse mes remerciements pour m'avoir accueilli et fait totalement confiance pour accomplir ces recherches.

Cette thèse s'est faite en collaboration avec les partenaires de l'UTC au laboratoire de Génie Enzymatique et Cellulaire dirigé par le Professeur Karsten HAUPT. Je le remercie pour l'accueil au sein de son laboratoire. Merci également au Docteur Aude FALCIMAIGNE-CORDIN pour m'avoir intégré dans son équipe du GEC et m'avoir formé et donné les clés essentielles pour mieux comprendre les polymères à empreintes moléculaires. La contribution des Docteurs, Yi ZHAO et Mira DAOUD ATTIEH ainsi que de Mme Cassandra SIMON a été essentielle et indispensable à la réalisation du travail.

Ces recherches doctorales ont été menées à bout grâce notamment à la participation de plusieurs personnes : aux Docteurs David LESUR et Dominique CAILLEU, j'adresse un merci spécial respectivement pour les analyses de spectrométrie de masse et de LC-MS, et pour les analyses de résonance magnétique nucléaire.

En général, je remercie les permanents (dont Elodie et Carole) du LG2A et de la plateforme analytique avec qui j'ai interagi tout au long de ces trois années. Merci également à toute personne qui a contribué de loin ou de près à l'aboutissement de ce modeste travail.

Ah comment ne pas revenir sur Carole ?! Du premier jour jusqu'au dernier jour, tu as été là pour moi quand j'avais besoin de toi. Les grandes discussions, la découverte du monde au travers de tes voyages, de tes cartes accrochées au mur, de tes animaux sur le bureau me manqueront. Je pense que je t'appellerai quotidiennement pour me mettre à jour. Je te

Remerciements

remercie pour tout ce que tu as fait pour moi, pour ta disponibilité et pour ta gentillesse sans pareil.

Je ne pouvais continuer sans parler de mes « GARS SURS ». C'est fou ce que trois ans passent vite parmi vous. Aux futurs (si Dieu le veut et si je donne mon approbation) Docteurs Mehdi (verrouillé), Hubert (verrouillé), Estefania (verrouillée) et évidemment au DOCTEUR Benjamin (bientôt bien verrouillé), trop de souvenirs emmagasinés et (hihihi) de dossiers sulfureux. J'espère que notre accord de confidentialité, approuvé par le Ministère compétent et confirmé par le Tribunal de Grande Instance de Singapour, sera toujours respecté. Mon secrétaire, localisé aux îles Tonga, vous avisera de nouveau dans 5 ans à propos de ce que vous savez en ce qui concerne le dossier dont on parlait le jour où ce qui s'est passé entre les protagonistes que vous connaissez. Au fait sur ma nationalité, j'ai reçu mon nouveau passeport après une discussion à Genève entre trois puissances mondiales : je suis cambelgandais ou belcamdais ou rwalginais. J'espère que vous êtes satisfait. Ce fut trois ans d'âpres (pardon Grand Frère Hubert, j'ai utilisé un mot trop raffiné pour toi) négociations sous la férule (pardon encore Grand Frère Hubert) de l'ONU et de la Banque Mondiale (le pourcentage de PIB que je représente dans chaque pays est classé. Seuls les mandatés du Ministre sont au courant).

Docteurs et Papas de métisses Jacques et Cédric, faites attention les gars ! Je suis de retour dans 16 ans. Vous savez même pourquoi ! On fait comme on a convenu quand un de mes gars sûrs a subitement commencé à travailler uniquement et exclusivement au labo 008 sans explication... À moins qu'il y'en ait une... En tout cas, nos discussions de complotistes me manqueront.

Les frères, les sœurs, les cousins, les cousines, les tantes, les oncles, etc. d'Amiens, ce fut trois années intenses avec vous et j'espère vous revoir très vite !

Chers Gilles, Gilson, Gildas, Serge, Delphine, Germain, Clarisse, Violette, Ange-Raïssa, Moudome (ou Mudom, je n'ai jamais su), Flora, Céline, Sandrine, Kwizera, Nadège, Christel, Famille Nzanana, Famille Aimable, Famille Laurent, Famille JC, Famille JPM, etc. et très Chère famille proche, je vous remercie du soutien, oh grand important, que vous m'avez donné ces dernières années.

Remerciements

A mes parents, **Joseph HAKIZIMANA** et **Alphonsine ICYTEGETSE**, je vous remercie de la confiance infaillible que vous m'avez témoignée depuis la première année de ma scolarité jusqu'à maintenant. Ceci est également l'aboutissement de mon éducation que j'ai reçue. C'est avec honneur et profonde modestie que je vous adresse le fruit final de mes études... grâce à Vous.

A ma Chère et Idyllique Diane. Les années se suivent, mais ne se ressemblent pas. Ta présence tout au long de ces trois années fut la pierre angulaire de ma réussite. Dieu seul sait à quel point tes encouragements, ton soutien, m'ont aidé pendant toutes ces heures passées. Tu es l'ossature sur laquelle ma motivation s'est ancrée. Maintenant, on peut penser à autre chose... « *Si la distance brise les rêves, mon rêve à moi, pur et sincère, résistera aux assauts du temps* ». **Merci Deyès Mwen !**



I.	INTRODUCTION GENERALE.....	1
I.1	GÉNÉRALITÉS SUR LA RECONNAISSANCE MOLÉCULAIRE	3
II.	POLYMERES A EMPREINTES MOLECULAIRES : CONTEXTE SCIENTIFIQUE	6
II.1	PRÉLIMINAIRES DES POLYMÈRES À EMPREINTES MOLÉCULAIRES.....	8
II.2	PRINCIPE DES POLYMÈRES À EMPREINTES MOLÉCULAIRES.....	11
II.2.1	<i>Influence des réactifs et du milieu réactionnel.....</i>	<i>12</i>
II.2.1.1	<i>Influence de la molécule cible.....</i>	<i>12</i>
II.2.1.2	<i>Influence des monomères fonctionnels.....</i>	<i>13</i>
II.2.1.3	<i>Influence des agents réticulants</i>	<i>14</i>
II.2.1.4	<i>Influence de l'initiateur de polymérisation</i>	<i>14</i>
II.2.1.5	<i>Influence du solvant.....</i>	<i>15</i>
II.2.2	<i>Différents modes de polymérisation</i>	<i>16</i>
II.2.2.1	<i>Polymérisation en masse</i>	<i>17</i>
II.2.2.2	<i>Polymérisation par précipitation.....</i>	<i>17</i>
II.2.2.3	<i>Polymérisation en émulsion.....</i>	<i>18</i>
II.2.2.4	<i>Polymérisation en suspension.....</i>	<i>19</i>
II.2.2.5	<i>Polymérisation pour la synthèse de micro- et nanogels</i>	<i>20</i>
II.2.3	<i>Elimination de la molécule cible.....</i>	<i>21</i>
II.2.4	<i>Différents modes d'impressions moléculaires.....</i>	<i>21</i>
II.2.4.1	<i>Impression moléculaire par l'approche covalente.....</i>	<i>21</i>
II.2.4.2	<i>Impression moléculaire par l'approche non covalente.....</i>	<i>23</i>
II.2.4.3	<i>Impression moléculaire par l'approche semi-covalente</i>	<i>25</i>
II.3	DIFFÉRENTES APPLICATIONS DES POLYMÈRES À EMPREINTES MOLÉCULAIRES	26
II.3.1	<i>Utilisation des polymères à empreintes moléculaires pour des applications biomédicales</i> <i>28</i>	
II.3.2	<i>Limitations de l'utilisation des polymères à empreintes moléculaires pour les</i> <i>applications cliniques.....</i>	<i>31</i>
III.	POLYMERES A EMPREINTES MOLECULAIRES BIODEGRADABLES : CONTEXTE SCIENTIFIQUE....	33
III.1	POLYMÈRES BIODÉGRADABLES.....	35
III.2	POLYMÈRES À EMPREINTES MOLÉCULAIRES BIODÉGRADABLES	38
III.2.1	<i>Polymères imprimés à base de réactifs issus de la pétrochimie.....</i>	<i>38</i>
III.2.2	<i>Polymères imprimés à base de réactifs issus de la biotechnologie</i>	<i>40</i>
III.2.3	<i>Polymères imprimés à base d'un polymère issu des microorganismes.....</i>	<i>40</i>
III.2.4	<i>Polymères imprimés à base de polymères issus de la biomasse</i>	<i>41</i>
III.2.4.1	<i>Polymères imprimés à base de mono- et disaccharides fonctionnalisés</i>	<i>41</i>
III.2.4.2	<i>Utilisation de polysaccharides dans la synthèse de polymères imprimés.....</i>	<i>43</i>
III.2.4.2.1	<i>Chitosane</i>	<i>43</i>
III.2.4.2.2	<i>Autres polysaccharides</i>	<i>45</i>

Sommaire

III.2.4.3	Utilisation d'oligosaccharides dans la synthèse de polymères imprimés : Cas des cyclodextrines	45
III.2.4.4	Membranes à empreintes moléculaires	47
IV.	CONCLUSION SUR LE CONTEXTE SCIENTIFIQUE DES POLYMERES A EMPREINTES MOLECULAIRES	50
IV.1	CONCLUSION	52
V.	OBJECTIFS ET STRATEGIES DE SYNTHESE	54
V.1	PROBLÉMATIQUES DE L'UTILISATION DES POLYMÈRES À EMPREINTES MOLÉCULAIRES COMME VECTEURS POUR DES APPLICATIONS CLINIQUES.	56
V.2	APPROCHE SCIENTIFIQUE : SYNTHÈSE DE NOUVEAUX MONOMÈRES FONCTIONNELS ET AGENTS RÉTICULANTS BIODÉGRADABLES ET BIOCOMPATIBLES.	57
V.2.1	<i>Etude de la dégradation enzymatique des nouveaux monomères fonctionnels et agents réticulants</i>	58
V.2.2	<i>Etude de la synthèse et de la dégradation de polymères à empreintes moléculaires biodégradables et biocompatibles</i>	59
VI.	RESULTATS ET DISCUSSION : SYNTHÈSE DE NOUVEAUX MONOMERES FONCTIONNELS ET AGENTS RETICULANTS A PARTIR DE SUCRES	60
VI.1	GÉNÉRALITÉS SUR LES DÉRIVÉS DE SUCRES PORTANT DES ACRYLATES OU DES MÉTHACRYLATES	62
VI.2	SYNTHÈSES DE NOUVEAUX MONOMÈRES ET AGENTS RÉTICULANTS À PARTIR DU TRÉHALOSE ET DU MALTOSE	65
VI.2.1	<i>Synthèses de dérivés d'esters méthacryliques par la réaction de Mitsunobu</i>	65
VI.2.1.1.1	Rappel sur la réaction de Mitsunobu	65
VI.2.1.2	Optimisation des conditions expérimentales de la réaction de Mitsunobu	66
VI.2.2	<i>Synthèses de dérivés contenant des liaisons autres que les esters</i>	73
VI.2.2.1	Synthèse d'un agent réticulant contenant des méthacrylamides à partir de tréhalose	73
VI.2.2.2	Synthèse d'agents réticulants contenant des triazoles à partir de tréhalose et de maltose	77
VI.2.3	<i>Synthèse d'un nouvel agent réticulant à partir de maltotriose</i>	81
VI.2.4	<i>Synthèses de nouveaux agents réticulants à partir des malto hexa-, hepta- et octasaccharides</i>	86
VI.2.5	<i>Synthèse d'un nouvel agent réticulant dérivé du maltose fonctionnalisé avec un fluorophore</i>	91
VII.	RESULTATS ET DISCUSSION : ETUDE IN VITRO DE LA DEGRADATION ENZYMATIQUE DES NOUVEAUX MONOMERES FONCTIONNELS ET AGENTS RETICULANTS A BASE DE SUCRES	93
VII.1	GÉNÉRALITÉS SUR LA DÉGRADATION ENZYMATIQUE DE MOLÉCULES POLYMÉRISABLES	95
VII.2	DÉGRADATION ENZYMATIQUE DE DÉRIVÉS DE TRÉHALOSE	96
VII.3	DÉGRADATION ENZYMATIQUE DE DÉRIVÉS DE MALTOSE	98
VII.4	DÉGRADATION ENZYMATIQUE DE DÉRIVÉ DE MALTOTRIOSE	100

Sommaire

VII.5	DÉGRADATION ENZYMATIQUE DE DÉRIVÉS DES MALTOHEPTA- ET OCTA- SACCHARIDES	101
VIII.	RESULTATS ET DISCUSSION : ETUDE DE LA SYNTHÈSE DES POLYMERES A EMPREINTES MOLECULAIRES A BASE DE SUCRES	103
VIII.1.1	<i>Films de copolymères non imprimés à base de monomère et d'agents réticulants dérivés de sucres.</i>	105
VIII.1.2	<i>Synthèse de film de copolymère non imprimé à partir du monomère fonctionnel 5 dérivé du tréhalose</i>	105
VIII.1.3	<i>Synthèse de films de copolymère à partir d'agent réticulant à base de sucres</i>	107
VIII.2	NANOPARTICULES DE POLYMÈRES À BASE D'AGENTS RÉTICULANTS DÉRIVÉS DE SUCRES.....	115
VIII.2.1	<i>Synthèse de polymères non imprimés et réticulés par des dérivés de sucres</i>	115
VIII.3	ELABORATION DE POLYMÈRES IMPRIMÉS AVEC LE 5-FLUOROURACILE À BASE D'AGENTS RÉTICULANTS DÉRIVÉS DE SUCRES	117
VIII.3.1	<i>Synthèse de nanoparticules imprimées avec le 5-fluorouracile à base d'agents réticulants dérivés de sucres.....</i>	117
VIII.3.2	<i>Etude de l'adsorption du 5-fluorouracile par les nanoparticules imprimées à base d'agents réticulants dérivés de sucres</i>	119
IX.	CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	121
X.	PARTIE EXPERIMENTALE.....	126
X.1	GENERAL REMARKS	128
X.1.1	<i>Chemicals products and solvents</i>	128
X.1.2	<i>Chromatography.....</i>	128
X.1.3	<i>Characterization methods.....</i>	129
X.2	COUMPOUNDS DESCRIPTION.....	131
X.3	SPECTRA OF DERIVATIVE 13.....	164
X.4	ENZYMATIC DEGRADATION	168
X.4.1	<i>Experimental conditions.....</i>	168
X.4.1.1	Enzymatic assay of trehalase from porcine kidney	168
X.4.1.1.1	Reagents	168
X.4.1.1.2	Procedure	168
X.4.1.2	Enzymatic assay of α -glycosidase from <i>Aspergillus niger</i>	168
X.4.1.2.1	Reagents	168
X.4.1.2.2	Procedure	168
X.4.2	<i>Chromatograms</i>	169
X.4.2.1	Degradation using trehalase	169
X.4.2.2	Degradation using α -glycosidase from <i>Aspergillus niger</i>	170
X.5	SYNTHESES OF POLYMERS.....	174
X.5.1	<i>Synthesis of polymer films based on cross-linking agents of sugars.....</i>	174

Sommaire

X.5.2	<i>Synthesis of polymer films based on 6-O-methacryloyl-α,α-trehalose 5.....</i>	174
X.5.3	<i>Syntheses of molecularly imprinted and non-imprinted nanoparticles.....</i>	174
XI.	BIBLIOGRAPHIE	175

Figure 1: Illustration de biomolécules (a) Anticorps ; (b) Enzyme (insuline protéase) ; (c) Récepteur (A2a de l'adénosine).....	4
Figure 2 : Nombre de publications sur les polymères à empreintes moléculaires entre 1960 et 2015 (données Scifinder® au 04 juillet 2016).....	10
Figure 3: Monomères fonctionnels communément utilisés pour la synthèse des polymères à empreintes moléculaires.	13
Figure 4: Agents réticulants généralement utilisés pour la synthèse des polymères à empreintes moléculaires.	14
Figure 5: Initiateurs radicalaires usuels pour la synthèse de polymères à empreintes moléculaires. .	15
Figure 6 : Représentation des principales applications des polymères imprimés (schéma adapté). ...	26
Figure 7 : Structures chimiques de la théophylline et de la caféine.	39
Figure 8 : Structure chimique de l'olanzapine.....	43
Figure 9 : Structures chimiques des différentes cyclodextrines, (a) α -CD ; (b) β -CD ; (c) γ -CD.....	46
Figure 10 : Evolution du nombre de publications sur les membranes à empreintes moléculaires entre 1990 et 2015 (données Scifinder® au 10 juillet 2016).....	48
Figure 11 : Perte de masse de polymères de poly(triméthylène carbonate) (TMC) dégradés dans des solutions de lipases à 37 °C. N100 : polymère linéaire ; N100-1 : polymère réticulé.	57
Figure 12 : Exemple de polymères à base de galactose et utilisés pour des applications biomédicales:	63
Figure 13 : Spectre RMN ^1H (300 MHz, MeOD, 25°C) et ^{13}C (75 MHz, CD ₃ OD, 25°C) du composé 16 . .	75
Figure 14 : Spectre RMN ^1H du 6,6'-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-6,6'-didésoxy-maltose (600 MHz, D ₂ O, 25°C).....	79
Figure 15 : Spectre RMN ^{13}C du 6,6'-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-6,6'-didésoxy-maltose (600 MHz, D ₂ O, 25°C).....	80
Figure 16 : Structure probable du dimère généré.....	84
Figure 17 : Spectre RMN ^1H de l'agent réticulant 43 dérivé du maltoheptaose (600 MHz, D ₂ O, 25°C).	90
Figure 18 : Spectre RMN ^{13}C de l'agent réticulant 43 dérivé du maltoheptaose (600 MHz, D ₂ O, 25°C).	90
Figure 19 : Représentation générale de la dégradation des polymères à empreintes moléculaires à base de sucres.	96
Figure 20 : Représentation générale de la diminution de la réticulation par dégradation enzymatique.	100
Figure 21 : 6- <i>O</i> -méthacryloyl- α,α -tréhalose 5	106

Figure 22 : Images ESEM de l'évolution en fonction du temps de la condensation de gouttelettes d'eau sur des films de copolymère à base de TEGDMA et de différents monomères fonctionnels (6- <i>O</i> -méthacryloyl- α,α -tréhalose 5 , HEMA, MMA) (8 mm = 100 μ m).....	106
Figure 23 : Images AFM des films de copolymère à base de TEGDMA et de différents monomères fonctionnels (6- <i>O</i> -méthacryloyl- α,α -tréhalose 5 , HEMA).	107
Figure 24 : Agents réticulants utilisés pour la production de films de copolymère.....	108
Figure 25 : Images ESEM de l'évolution en fonction du temps de la condensation de gouttelettes d'eau sur des films de copolymère à base de HEMA et des agents réticulants TEGDMA, de tréhalose (4 , 13 , 19) et de maltose (8 , et 21) (8 mm = 100 μ m).	110
Figure 26 : Images AFM des films de copolymère à base de HEMA et des agents réticulants TEGDMA, 13 , 19 , 8 et 21	112
Figure 27 : Images AFM de dégradations avant et après incubation des films de copolymère à base de HEMA et des agents réticulants TEGDMA, 4 , 13 , 19 , 8 et 21 dans un tampon phosphate 0.025 M à pH 7.2 et 37°C, sans (contrôle) et avec (test) enzyme (α -glycosidase de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>).	115
Figure 28 : Agents réticulants utilisés pour l'étude de la synthèse des polymères non imprimés.....	115
Figure 29 : Structure chimique du 5-fluorouracile.....	117
Figure 30 : Images MEB des nanoparticules synthétisées à partir des agents réticulants 4 , 8 et EGDMA	118
Figure 31 : Adsorption du 5-fluorouracile (5-FU) par les MIPs et les NIPs dans agents réticulants 4 (a), 8 (b) et EGDMA (c).....	120
Figure 32 : Exemple de diméthacryloyl-dipeptide envisagée.	125

Schéma 1: Action du système « clé-serrure » de l'enzyme : (a) Complémentarités structurales et fonctionnelles entre le substrat et l'enzyme (b) Association spontanée menant à la formation d'un complexe enzyme substrat.....	3
Schéma 2: Empreinte moléculaire à base de silice comportant l'orange de propyle comme molécule cible.....	9
Schéma 3 : Exemple de liaisons non covalentes utilisées dans les polymères imprimés.	10
Schéma 4: Synthèse générale des polymères à empreintes moléculaires.	11
Schéma 5 : Approche covalente par les esters boroniques (schéma adapté) : 1. Formation du complexe par liaisons covalentes, 2. Polymérisation 3. Extraction de la cible par hydrolyse.....	22
Schéma 6 : Approche non covalente à partir d'un dipeptide (schéma adapté) : 1. Formation du complexe par des liaisons non covalentes et polymérisation 2. Extraction de la molécule cible.	23
Schéma 7 : Impression du cholestérol par approche semi-covalente (schéma adapté) : 1. Formation du complexe par liaison covalente, 2. Polymérisation, 3. Extraction de la molécule cible 4. Reconnaissance du cholestérol par des interactions non covalentes.....	25
Schéma 8 : Classification des principaux polymères biodégradables (schéma adapté).	37
Schéma 9 : Synthèse de la poly(ϵ -caprolactone) à partir de l' ϵ -caprolactone.....	39
Schéma 10 : Synthèse du copolymère PLA-PEG-PLA à partir de PEG et de D,L-lactide.....	40
Schéma 11 : Synthèse du copolymère à partir de PHB et de 1,4-butanediol.	41
Schéma 12 : Fonctionnalisation du saccharose et du α -D-glucopyranoside de méthyle par estérification enzymatique avec l'acrylate de vinyle.....	42
Schéma 13 : Synthèse de l'agent réticulant à partir du fructose.	43
Schéma 14 : Réaction de désacétylation de la chitine pour obtenir le chitosane.	44
Schéma 15 : Représentation générale de la synthèse de monomères fonctionnels et d'agents réticulants à partir de sucres.	58
Schéma 16 : Représentation de la dégradation enzymatique des nouveaux monomères fonctionnels et agents réticulants dérivés de sucres.	59
Schéma 17 : Synthèse du 3-O-méthacryloyl-D-glucose et du 6-O-méthacryloyl-D-galactose par déprotection acide.....	62
Schéma 18 : Synthèse du 6'-O-méthacryloyl-D-maltose à partir du maltose.	64
Schéma 19 : Synthèse générale de la réaction de Mitsunobu et son mécanisme.....	66
Schéma 20 : Synthèse du 6,6'-di-O-méthacryloyl- α,α -tréhalose.	67
Schéma 21 : Mécanisme de la réaction de Mitsunobu à partir d'acide carboxylique et la réaction secondaire de dégradation.....	68
Schéma 22 : Synthèses du 6-O-méthacryloyl- α,α -tréhalose et du 6,6'-di-O-méthacryloyl- α,α -tréhalose.....	70

Schéma 23 : Synthèse du β -maltoside de méthyle	71
Schéma 24 : Synthèses du 6,6'-di- <i>O</i> -méthacryloyl- β -maltoside de méthyle et des 6'- <i>O</i> -méthacryloyl- β -maltoside de méthyle et 6- <i>O</i> -méthacryloyl- β -maltoside de méthyle	72
Schéma 25 : Stratégie de synthèse de -6,6'-didésoxy-6,6'-diméthacrylamido- α,α -tréhalose.....	73
Schéma 26 : Essai de synthèse du 6,6'-didésoxy-6,6'-diméthacrylamido- α,α -tréhalose.	74
Schéma 27 : Nouvelle stratégie de synthèse du 6,6'-didésoxy-6,6'-diméthacrylamido- α,α -tréhalose.	76
Schéma 28 : Synthèse du 6,6'-didésoxy-6,6'-diméthacrylamido- α,α -tréhalose.....	77
Schéma 29 : Synthèse du 6,6'-didésoxy-6,6'-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)- α,α -tréhalose.....	78
Schéma 30 : Synthèse du 6,6'-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-6,6'-didésoxy-maltose.	78
Schéma 31 : Stratégie de synthèse du 1,6''-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-1,6''-didésoxy- β -maltotriose.....	82
Schéma 32 : Azidation sélective du maltotriose.	82
Schéma 33 : Essai de synthèse du 1,6''-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-1,6''-didésoxy- β -maltotriose.....	83
Schéma 34 : Nouvelle stratégie de synthèse du 1,6''-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-1,6''-didésoxy- β -maltotriose.	84
Schéma 35 : Synthèse du 1,6''-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-1,6''-didésoxy- β -maltotriose.	85
Schéma 36 : Stratégie de synthèse des agents réticulants à partir des malto hexa-, hepta- et octasaccharides.	86
Schéma 37 : Synthèse des intermédiaires maltohepta- et octaoses.	87
Schéma 38 : Synthèses de 43 et 44	89
Schéma 39 : Stratégie de synthèse du dérivé 51	91
Schéma 40 : Synthèse de l'agent réticulant 51 greffé au fluorophore.	92
Schéma 41 : Dégradation du 6,6'-di- <i>O</i> -méthacryloyl- α,α -tréhalose par la tréhalase à 37 °C pendant 4h30, pH 5.7.....	97
Schéma 42 : Dégradation du 6,6'-didésoxy-6,6'-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)- α,α -tréhalose par la tréhalase à 37 °C pendant 4h30, pH 5.7.....	98
Schéma 43 : Dégradation du 6,6'-di- <i>O</i> -méthacryloyl- β -maltoside de méthyle par α -glycosidase d' <i>Aspergillus niger</i> à 37 °C pendant 48 h, pH 4.0.	99
Schéma 44 : Dégradation du précurseur 50 de l'agent réticulant portant un bras espaceur par α -glycosidase d' <i>Aspergillus niger</i> à 37 °C pendant 48 h, pH 4.0.	99

Liste des Schémas

Schéma 45 : Dégradation du 21 par α -glycosidase d' <i>Aspergillus niger</i> à 37 °C pendant 48 h, pH 4.0.	100
Schéma 46 : Dégradation 32 par α -glycosidase d' <i>Aspergillus niger</i> à 37 °C pendant 48 h, pH 4.0.....	101
Schéma 47 : Dégradation des agents réticulants 43 et 44 issus des hepta- et octasaccharides par α -glycosidase d' <i>Aspergillus niger</i> à 37 °C pendant 48 h, pH 4.0.	102

Tableau 1 : Comparaison des énergies des différents types d'interactions et liaisons chimiques.....	24
Tableau 2 : Représentation d'hydrogels récemment décrits dans la littérature. MAA (acide méthacrylique), EGDMA (éthylène glycol diméthacrylate), HEMA (hydroxyéthylméthacrylate), DMA (diméthylamino)éthylméthacrylate), TRIS (3-méthacryloxypropyltris(triméthylsiloxy)silane), MBAAm (<i>N,N'</i> -méthylènebisacrylamide), TEMED (<i>N,N,N',N'</i> -tétraméthyléthylènediamine), EHA (2-ethylhexyl acrylate), HEA (2-hydroxyéthylacrylate), St (styrène), NIPAAM (<i>N</i> -isopropylacrylamide). *Taille obtenue après tamisage du polymère moulu.	30
Tableau 3 : Comparaison entre les caractéristiques des anticorps et des polymères imprimés.....	52
Tableau 4 : Optimisation de la réaction de Mitsunobu par activation aux microondes.....	68
Tableau 5 : Optimisation de la réaction de Mitsunobu par variation des quantités de réactifs.	69
Tableau 6 : Essais de déprotection sélective du 1 ¹ -azido-1 ¹ -deoxy-4 ^{VIII} - <i>O</i> -acetyl-2 ^{1-VIII} ,3 ^{1-VIII} ,6 ^{1-VIII} -tetracos- <i>O</i> -benzoyl-β-maltooctaose 38 . *Dégradation de 38 ; **Mélange de 38 et de sous-produits.....	88
Tableau 7 : Angles de contact d'une goutte d'eau sur des films de copolymère à base de TEGDMA et de différents monomères fonctionnels (6- <i>O</i> -méthacryloyl-α,α-tréhalose 5 , HEMA, MMA).	107
Tableau 8 : Angles de contact d'une goutte d'eau sur des films de films de copolymère à base de HEMA et des agents réticulants TEGDMA, 4 , 13 , 19 , 8 , 21	111
Tableau 9 : Rendement des synthèses de polymères non imprimés dans le diméthylsulfoxyde réticulés à 83%.	116
Tableau 10 : Rendement des synthèses de polymères non imprimés réticulés à 83% dans acétonitrile:diméthylsulfoxyde (4:1).	116
Tableau 11 : Rendements et tailles de la synthèse de polymères non imprimés (NIP) réticulés.	117
Tableau 12 : Rendements et tailles des nanoparticules de polymères imprimé et non imprimé synthétisés dans l'acétonitrile et réticulés à 83%.	118
Tableau 13 : Facteurs d'impression des nanoparticules imprimées et non imprimées (1 mg.mL ⁻¹) à base des agents réticulants 4 , 8 et EGDMA.....	120

Abréviations

5-FU : 5-fluorouracile	MALDI : Matrix Assisted Laser Desorption Ionization
5-TAMRA : 5-carboxytétraméthylrhodamine propargylamide	MBAAm : <i>N,N'</i> -méthylènebisacrylamide
ABDV : acide 4,4'-azo-bis-(4-cyanovaléroïque)	MEB : Microscopie Electronique à Balayage
AFM : Atomic Force Microscopy	MIPS : Molecularly Imprinted Polymers
AIBN : Azobisisobutyronitrile	MMA : méthacrylate de méthyle
APTS : Acide <i>Para</i> -ToluèneSulfonique	Mp : Melting Point
CD : Cyclodextrine	NIPAAM : <i>N</i> -isopropylacrylamide
COSY : COrrélation Spectroscopy	nm : nanomètre
Da : Dalton	NMR : Nuclear Magnetic Resonance
DLS : Dynamic Light Scattering	PDMS : Polydiméthylsiloxane
DMA : (diméthylamino)éthylméthacrylate	PHB : Poly(3-hydroxybutyrate)
DMF : <i>N,N</i> -Diméthylformamide	PLA : Acide polylactique
DMSO : Diméthylsulfoxyde	ppm : Partie Par Million/Parts Per Million
DPAP : 2,2-Diméthoxy-2-phénylacétophénone	PTSA : <i>Para</i> -ToluèneSulfonic Acid
DSDMA : Bis(2-méthacryloyl)oxyethyl disulfide	R_f : Rapport Frontal
EGDMA : éthylène glycol diméthacrylate	RMN : Résonance Magnétique Nucléaire
EHA : 2-éthylhexyl acrylate	RT : Room Temperature
ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay	St : styrène
Eq : Equivalent	TA : Température Ambiante
ESI : Electrospray Ionisation	TEMED : <i>N,N,N',N'</i> -tétraméthyléthylènediamine
ESEM : Environmental scanning electron Microscopy	TEGDMA : triéthylène glycol diméthacrylate
FT-IR : Fourier Transform Infrared Spectroscopy	TRIS : 3-méthacryloxypropyltris (triméthylsiloxyl)silane
HEA : 2-hydroxy éthylacrylate	UV : Ultra-Violet
HEMA : hydroxyéthylméthacrylate	v:v : rapport volumique
HPLC : High Performance Liquid Chromatography	
HRMS : High Resolution Mass Spectrometry	
HSQC : Heteronuclear Single Quantum Correlation	
Lit. : Literature	
MAA : acide méthacrylique	

Les polymères à empreintes moléculaires (MIPs) sont des matériaux synthétiques dans lesquels des sites récepteurs spécifiques d'une molécule cible ont été créés. Leur structure leur confère des propriétés de reconnaissance moléculaire semblables aux récepteurs naturels comme les enzymes ou les anticorps. Ils peuvent de ce fait être utilisés pour quantifier ou détecter une molécule d'intérêt. En raison de leur meilleure stabilité chimique et mécanique ainsi que leur faible coût de production par rapport aux systèmes de reconnaissance naturels, les MIPs sont de bons matériaux alternatifs dans des domaines tels que les sciences séparatives, les biocapteurs, les tests immunologiques, la synthèse et la catalyse. Cependant, l'utilisation de ces matériaux dans les systèmes de libération contrôlée de principes actifs pour des applications cliniques reste encore très limitée à cause de la non-dégradation et l'incompatibilité de leur structure avec l'organisme humain. Ces limitations sont dues principalement à l'utilisation à l'heure actuelle de monomères et d'agents réticulants issus de la pétrochimie et difficilement biodégradables.

Dans le cadre de cette thèse, nous nous sommes intéressés à l'étude de monomères fonctionnels et agents réticulants à base de sucres pour l'élaboration de MIPs biodégradables par voie enzymatique et biocompatibles.

Nous avons dans un premier temps étudié la synthèse de di-, tri-, et oligosaccharides substitués sélectivement par des fonctions polymérisables liées par des esters, des amides et des cycles triazole. Nous avons ainsi synthétisé neuf agents réticulants et trois monomères fonctionnels à base de tréhalose, de maltose, de maltotriose et de maltohepta- et octaoses.

Dans un second temps, nous avons entrepris des études de dégradation enzymatique de ces molécules. Pour tous les dérivés de maltose, de maltotriose et de tréhalose portant des triazoles, nous avons observé uniquement l'hydrolyse des fonctions ester. En revanche, pour les molécules dérivées de maltohepta- et octaoses, nous avons relevé une coupure des liaisons glycosidiques en plus du clivage des esters. Enfin, les monomères fonctionnels et agents réticulants synthétisés ont été utilisés dans des études préliminaires de polymérisation. Nous avons pu montrer que nos composés permettent de synthétiser des polymères hydrosolubles et sensibles aux dégradations enzymatiques.

Molecularly imprinted polymers (MIPs) are synthetic biomimetic materials, capable of recognizing and specifically binding target molecule in a similar way to the natural receptors (antibodies, enzymes, hormone receptors). The formed artificial and specific sites impart molecular recognition properties similar to natural receptors and they can therefore be used to quantify or detect given molecules. Considering their screening ability, their mechanical and chemical stability and their weak production cost compared to conventional biomolecules, these materials are used in separative, bioreceptors, synthesis and catalysis fields. However, the use of these materials in controlled drug delivery for clinical applications is still limited due to their lack of biodegradation and biocompatibility. The main drawback lies in the use of monomers and cross-linking agents based on petrochemical products.

In this work, we have studied the use of functional monomers and cross-linking agents based on sugars for the development of biodegradable and biocompatible MIPs.

These molecules derived from biomass resources are potentially cleavable by enzymes. Firstly, our study focused on selective modification in order to graft polymerisable functions through ester, amide and triazole groups of derivatives based on di-, tri-, and oligosaccharides. Nine cross-linking agents and three functional monomers from trehalose, maltose, maltotriose and maltohepta- and octasaccharides have been prepared.

We then studied their degradation under enzymatic conditions. We found that the molecules derived from maltose, maltotriose and one from trehalose containing triazole cycles were only cleaved at their ester bonds. For molecules derived from maltohepta- and octasaccharides, the cleavage of glycosidic bonds was also observed and verified.

We finally began a preliminary study of polymerization with these new molecules. Our first results showed that our compounds allowed obtaining hydrophilic polymers which are degradable under enzymatic conditions.

I. INTRODUCTION GENERALE

« Si nous prenons la nature pour guide, nous ne nous égarerons jamais. »

Cicéron

I.1 Généralités sur la reconnaissance moléculaire

La Nature se développe grâce aux nombreux processus essentiels qui ont lieu dans les organismes vivants. Ces mécanismes biologiques se basent sur des phénomènes de reconnaissance moléculaire qui agissent par exemple dans la communication cellulaire, les systèmes de défense contre les corps inconnus ainsi que dans la transcription. La reconnaissance moléculaire s'appuie sur la formation d'un complexe moléculaire entre deux molécules, le récepteur (hôte) et le substrat (invité) qui se lient spontanément. Cette association est sélective, elle est conditionnée par des complémentarités structurales et des fonctions chimiques qui sont indispensables à la reconnaissance.

C'est sur cette base qu'en 1894 Emil Fisher décrit en premier le concept « clé-serrure » : une enzyme comme la serrure pouvant accueillir une clé se présentant comme le substrat¹ (Schéma 1). En général, l'invité se lie à l'hôte par le biais d'interactions intermoléculaires plus ou moins fortes, le plus souvent par des liaisons non covalentes telles que les liaisons hydrogène, les interactions de Van der Waals, ioniques, hydrophobes.

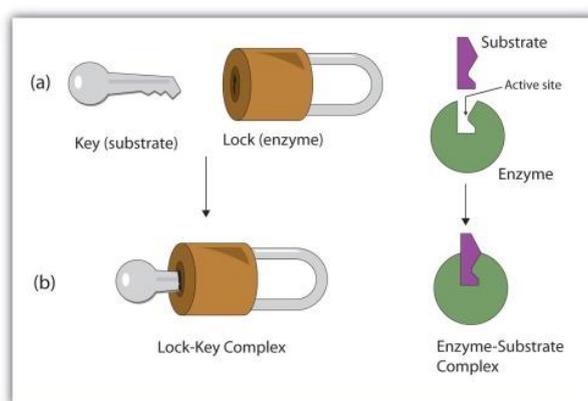


Schéma 1: Action du système « clé-serrure » de l'enzyme² :

- (a) Complémentarités structurales et fonctionnelles entre le substrat et l'enzyme
- (b) Association spontanée menant à la formation d'un complexe enzyme substrat.

Du fait de leur multiplication et de leur localisation spatiale, ces interactions très sélectives induisent le phénomène de reconnaissance moléculaire. Il n'est donc pas étonnant de le voir intervenir dans la majorité des processus biologiques des organismes vivants : les interactions récepteur-ligand, anticorps-antigène, enzyme-substrat.

¹ Fischer, E. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1894**, 27 (3), 2985–2993.

² Ball, D.; Hill, J.; Scott, R. In *The Basics of General, Organic, and Biological Chemistry*; Flat World Knowledge, **2012**; pp 1049–1050.

L'efficacité de ces systèmes de reconnaissances biologiques a d'ailleurs attiré l'attention du monde scientifique. En effet, durant ces dernières années, plusieurs groupes y ont vu un moyen de développer des technologies pouvant détecter et quantifier des molécules cibles avec une grande sensibilité. Cet engouement a conduit à la mise au point de méthodes et d'instruments d'analyse basés principalement autour de trois familles de biomolécules : les anticorps, les enzymes, les récepteurs biologiques (Figure 1).

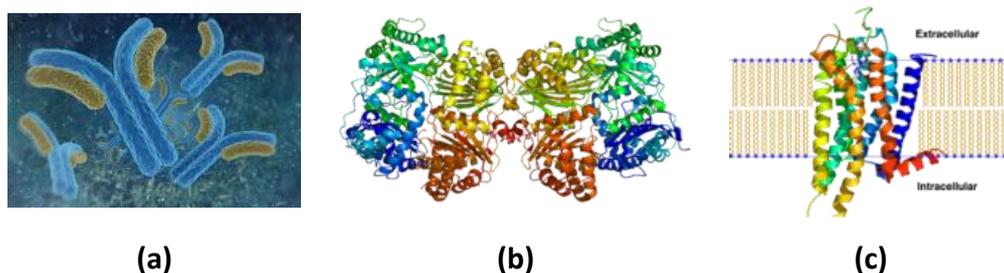


Figure 1: Illustration de biomolécules
(a) Anticorps³ ; (b) Enzyme (insuline protéase⁴) ; (c) Récepteur (A2a de l'adénosine⁵).

Bien au-delà du monde académique, leur utilisation a été également adoptée par les industries chimique et pharmaceutique en raison des avantages que ces biomolécules présentent. En effet, les groupements fonctionnels des biomolécules ainsi que leurs structures tridimensionnelles leur confèrent des propriétés de régio-, chimio- et stéréosélectivités. Elles ont offert ainsi des perspectives dans des applications de pointes dans les domaines des biocapteurs, de chromatographie d'affinité ainsi que d'immunoanalyses^{6,7,8,9,10,11}.

Néanmoins, ces biomolécules présentent de nombreux désavantages qui restreignent leurs applications. En effet, d'un point de vue purement commercial, elles

³ vitstudio. Digital Illustration Antibodies - 168068714 : Shutterstock <http://www.shutterstock.com/fr/pic-168068714/stock-photo-digital-illustration-antibodies.html?src=sIPDwEP5dGVv9nua55VQIA-1-2>.

⁴ Shen, Y.; Joachimiak, A.; Rosner, M. R.; Tang, W.-J. *Nature* **2006**, *443* (7113), 870–874.

⁵ Xu, F.; Wu, H.; Katritch, V.; Han, G. W.; Jacobson, K. a; Gao, Z.-G.; Cherezov, V.; Stevens, R. C. *Science* **2011**, *332* (6027), 322–327.

⁶ Mulchandani, A. In *Enzyme and Microbial Biosensors*; Humana Press: New Jersey, **1998**; Vol. 6, pp 3–14.

⁷ Hage, D. S. *Clin. Chem.* **1999**, *45* (5), 593–615.

⁸ Marazuela, M.; Moreno-Bondi, M. *Anal. Bioanal. Chem.* **2002**, *372* (5-6), 664–682.

⁹ Lequin, R. M. *Clin. Chem.* **2005**, *51* (12), 2415–2418.

¹⁰ De Jong, L. A. A.; Uges, D. R. A.; Franke, J. P.; Bischoff, R. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2005**, *829* (1-2), 1–25.

¹¹ Vaillant AA, J.; Na, M. *J. Chromatogr. Sep. Tech.* **2015**, *06* (07), 6–7.

présentent un coût de production très élevé et leur utilisation *in vitro* induit également des problèmes de stabilité. Ces biomolécules ne sont actives que dans des conditions expérimentales se rapprochant des conditions naturelles (risque de dénaturation par la température, le pH, les solvants organiques, hydrolyse en présence d'acide). Certaines enzymes nécessitent en plus un cofacteur ou coenzyme nécessaire à leur activité.

Il est très vite apparu aux yeux des chimistes le besoin de trouver des solutions afin de se libérer de toutes ces limitations. La recherche s'est basée sur la confection de matériaux synthétiques pouvant d'une part, mimer les systèmes naturels et d'autre part, présenter les avantages d'être stables et moins coûteux tout en étant aussi sélectifs que leurs homologues naturels. C'est dans ce contexte que l'une des approches les plus prometteuses a émergé : la confection d'un matériau portant des sites artificiels complémentaires d'une molécule cible. Ces matériaux synthétiques sont les polymères à empreintes moléculaires. Un bref historique de ces matériaux sera présenté dans les pages suivantes.

II. POLYMERES A EMPREINTES MOLECULAIRES : CONTEXTE SCIENTIFIQUE

« La science remplace du visible compliqué par de l'invisible simple. »

Jean Perrin

II.1 Prémices des polymères à empreintes moléculaires

Aussi loin qu'on puisse remonter dans la littérature, c'est en 1931 que Polyakov¹² a créé pour la première fois une « empreinte » sur un polymère. Par le biais d'un nouveau matériau créé à partir de silice, il a étudié les effets de la présence de différents solvants aromatiques (toluène, xylène, benzène) sur la structure des pores de la silice lors du séchage de celui-ci. De plus, il a mis en exergue une corrélation entre les masses moléculaires des différents solvants utilisés et la capacité d'adsorption du matériau à base de silice. En 1949, Dickey¹³ a opté pour la même technique dans l'optique d'immobiliser l'hélianthine (méthyle orange) et ses dérivés (éthyle, *n*-propyle, et *n*-butyle orange) dans une matrice polymérique à base de silice. Il qualifie la haute sélectivité obtenue pour ces agents comme étant le résultat d'une « adsorption spécifique », qui sera plus tard référencée comme « empreinte moléculaire ». De nombreux groupes^{14,15,16} se sont inspirés de la méthode de Dickey pour concevoir des matériaux sélectifs essentiellement pour des molécules aromatiques. Des intérêts commerciaux se sont également révélés de la part du groupe Merck en 1965 au travers d'un brevet¹⁷ dans lequel est décrit le concept d'un matériau de silice imprimé avec de la nicotine et agissant ainsi comme un filtre à utiliser dans les produits contenant du tabac.

Cependant, malgré la sélectivité de ces polymères à base de silice, cette méthode présente un désavantage induit par le fait que le matériau ne propose que deux différents sites de liaison : d'une part, la fonction siloxane permettant d'avoir des interactions hydrophobes et d'autre part, la fonction silanol favorisant des interactions polaires¹⁸ (Schéma 2). Ce manque de diversité des interactions moléculaires limite *de facto* les variétés de molécules pouvant être ciblées, donnant ainsi une vision assez fermée de l'utilité de ces polymères.

¹² Polyakov, M. V. *Zh. Fiz. Khim.* **1931**, *2*, 799–805.

¹³ Dickey, F. H. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1949**, *35* (5), 227–229.

¹⁴ Curti, R.; Colombo, U. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74* (15), 3961–3961.

¹⁵ Beckett, A. H.; Anderson, P. *Nature* **1957**, *179* (4569), 1074–1075.

¹⁶ Erlenmeyer, H.; Bartels, H. *Helv. Chim. Acta* **1964**, *47* (1), 46–51.

¹⁷ Hans, E. Silica gel filter for removing nicotine from tobacco smoke, **1965**.

¹⁸ Wulff, G. *Microchim. Acta* **2013**, *180* (15-16), 1359–1370.

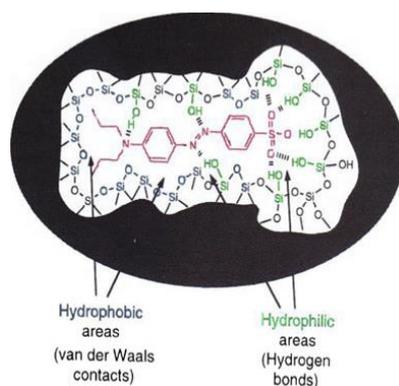


Schéma 2: Empreinte moléculaire à base de silice comportant l'orange de propyle comme molécule cible¹⁸.

En réponse à ces limitations, l'équipe de Wulff¹⁹ élabore en 1972 des polymères à base de divinylbenzène ayant une structure semblable à celles des enzymes et ciblant sélectivement les énantiomères D dérivés de l'acide glycérique. Il produit ainsi un polymère capable de faire des résolutions de mélanges racémiques. Dans la même année, Klotz²⁰ publie la préparation de polymères réticulés de poly(éthylèneimine) imprimés avec de l'hélianthine et ayant une bonne adsorption en milieu aqueux. Mais il a fallu attendre les travaux du groupe de Mosbach^{21,22,23} pour que le concept de polymères à empreintes moléculaires éclore totalement avec une nouvelle approche pour la conception de ces matériaux : contrairement aux travaux précédents qui utilisaient des liaisons covalentes pour immobiliser la molécule cible, Mosbach introduit l'approche non covalente (Schéma 3). Le nombre de publications sur les polymères à empreintes moléculaires n'a alors cessé de croître à une allure exponentielle (Figure 2).

¹⁹ Wulff, G.; Sarhan, A. *Angew. Chem. - Int. Ed.* **1972**, *11*, 341.

²⁰ Takacishi, T.; Klotz, I. M. **1972**, *11* (1), 4–3.

²¹ Arshady, R.; Mosbach, K. *Die Makromol. Chemie* **1981**, *182* (2), 687–692.

²² Andersson, L.; Sellergren, B.; Mosbach, K. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25* (45), 5211–5214.

²³ Glad, M.; Norrlov, O.; Sellergren, B.; Siegbahn, N.; Mosbach, K. *J. Chromatogr. Elsevier Sci. Publ. B.V* **1985**, *347* (17), 11–23.

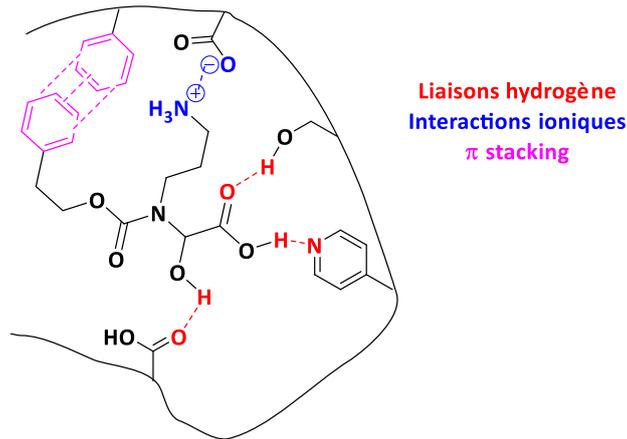


Schéma 3 : Exemple de liaisons non covalentes utilisées dans les polymères imprimés.

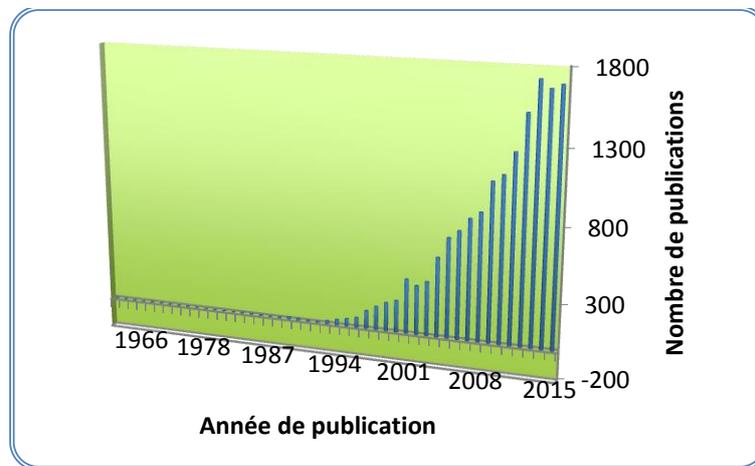


Figure 2 : Nombre de publications sur les polymères à empreintes moléculaires entre 1960 et 2015 (données Scifinder® au 04 juillet 2016).

Comme on a pu l'observer dans cette brève introduction, la technique des empreintes moléculaires a débuté par des matériaux à base de polymères de silice avant de trouver son développement et ses fondations définitives avec les polymères organiques synthétiques. La méthode d'impression moléculaire n'a cessé de prendre de l'importance, car elle est devenue simple à mettre en œuvre et efficace. Sa capacité à fournir des matériaux sélectifs pour des molécules complexes permet d'avoir accès à une grande diversité d'applications. La synthèse et les applications de ces polymères seront décrites dans les lignes suivantes.

II.2 Principe des polymères à empreintes moléculaires

Les polymères à empreintes moléculaires (MIPs) se définissent comme des matériaux synthétiques dans lesquels sont présents des sites récepteurs artificiels d'une molécule cible. Ils sont facilement synthétisables à partir d'un mélange contenant des monomères fonctionnels, des agents réticulants, une molécule cible, un initiateur chimique dans un solvant porogène (Schéma 4) :

- (1) A partir du mélange précité, la première étape consiste en la formation d'un complexe entre les monomères fonctionnels et la molécule cible, le plus souvent par des interactions non covalentes.
- (2) Une polymérisation est ensuite initiée. En présence d'agents réticulants, elle conduit à la formation d'une matrice polymérique rigide contenant la molécule cible.
- (3) Après extraction de la molécule cible dans des conditions favorisant la rupture de ses interactions moléculaires avec les monomères fonctionnels, un polymère ayant les sites complémentaires à la molécule cible est obtenu.

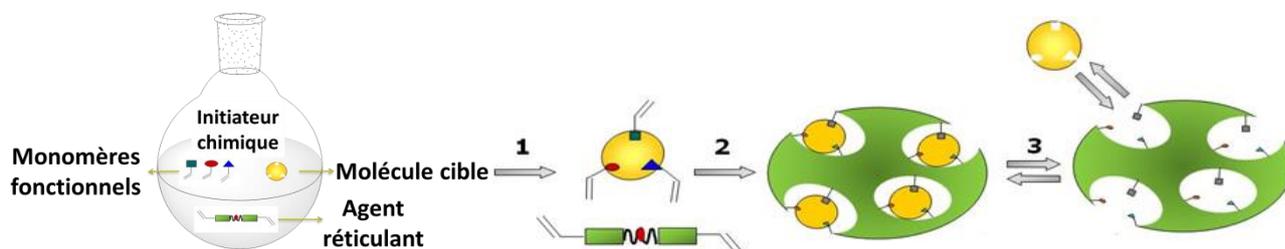


Schéma 4: Synthèse générale des polymères à empreintes moléculaires.

Ces matériaux taillés sur mesure offrent plusieurs avantages indéniables. D'abord, ils présentent de hautes affinité et sélectivité envers la molécule cible utilisée lors de l'impression. Ensuite, ils se distinguent des systèmes biologiques par leur grande stabilité chimique (résistance aux acides et bases, aux températures élevées, conservation durant des années sans aucune précaution particulière) et outre ces aspects purement physiques et chimiques, ils s'avèrent moins chers que leurs analogues naturels (enzymes, anticorps, récepteurs biologiques).

Bien que le principe d'impression moléculaire soit connu et facile à mettre en œuvre, il est essentiel de choisir correctement les différents réactifs de synthèse selon l'application

visée. En effet, la structure de la molécule cible, les monomères fonctionnels ainsi que les agents réticulants influencent énormément la structure tridimensionnelle du matériau selon les interactions intermoléculaires possibles entre les différentes fonctions chimiques présentes. De plus, le solvant et la technique de polymérisation employée ont également un effet sur ses performances.

II.2.1 Influence des réactifs et du milieu réactionnel

II.2.1.1 Influence de la molécule cible

Idéalement, la molécule ciblée doit être parfaitement soluble dans le solvant de réaction et être inerte aux conditions de polymérisation utilisées, ce qui signifie implicitement qu'elle ne doit pas engendrer de réactions secondaires, ni le cas échéant inhiber la polymérisation. Par ailleurs, la cible a une importance capitale lors de l'élaboration du polymère à empreinte moléculaire. En effet, ce sont les différentes fonctions chimiques présentes sur elle qui conditionneront le choix des monomères fonctionnels, car leur organisation spatiale autour de la molécule cible permettra de créer la structure tridimensionnelle complémentaire.

En dépit de toutes ces contraintes, l'impression moléculaire a pu être appliquée à un large panel de molécules. Parmi celles-ci, on peut citer des principes actifs pharmaceutiques^{24,25}, des sucres^{26,27}, des pesticides^{28,29,30}, des biomolécules (acides aminés, hormones, bases nucléotides, protéines, coenzymes)^{31,32,33,34}.

²⁴ Mattos Dos Santos, P.; Hall, A. J.; Manesiotis, P. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* **2016**, *1021*, 197–203.

²⁵ Pellizzoni, E.; Tommasini, M.; Marangon, E.; Rizzolio, F.; Saito, G.; Benedetti, F.; Toffoli, G.; Resmini, M.; Berti, F. *Biosens. Bioelectron.* **2016**, *86*, 913–919.

²⁶ Awino, J. K.; Gunasekara, R. W.; Zhao, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138* (31), 9759–9762.

²⁷ Nestora, S.; Merlier, F.; Prost, E.; Haupt, K.; Rossi, C.; Tse Sum Bui, B. *J. Chromatogr. A* **2016**, *1465*, 47–54.

²⁸ Amitha Rani, B.; Singh, K.; Pasha, A. *Chronicles Young Sci.* **2013**, *4* (1), 46.

²⁹ Wang, Q.; Zhang, X.; Xu, Z.; Gao, H. *Food Anal. Methods* **2015**, *8* (8), 2044–2051.

³⁰ Khadem, M.; Faridbod, F.; Norouzi, P.; Foroushani, A. R.; Ganjali, M. R.; Shahtaheri, S. J. *J. Iran. Chem. Soc.* **2016**, *13* (11), 2077–2084.

³¹ Stevenson, D.; Reddy, S. M. *Bioanalysis* **2016**, *8* (21), 2255–2263.

³² Nezhadali, A.; Es'haghi, Z.; Khatibi, A. *Anal. Methods* **2016**, *8* (8), 1813–1827.

³³ Li, S.; Cao, S.; Whitcombe, M. J.; Piletsky, S. A. *Prog. Polym. Sci.* **2014**, *39* (1), 145–163.

³⁴ Scorrano, S.; Mergola, L.; del Sole, R.; Vasapollo, G. *Int. J. Mol. Sci.* **2011**, *12* (3), 1735–1743.

II.2.1.2 Influence des monomères fonctionnels

Le monomère fonctionnel joue un rôle dans la formation des sites de reconnaissance. En présence de la molécule cible, il doit pouvoir établir un maximum d'interactions moléculaires (covalentes ou non covalentes) afin de former le complexe le plus stable possible. Le monomère est mis en excès dans la majorité des expériences pour favoriser ces interactions. Ses fonctions polymérisables doivent également réagir facilement avec celles des agents réticulants. Plusieurs types de monomères ont été employés et sont disponibles dans le commerce (Figure 3). Ce sont des dérivés d'acides acryliques/méthacryliques et de vinyliques pouvant présenter des caractères acide, basique, polaire ou hydrophobe donnant lieu à des interactions intermoléculaires avec la molécule cible. On observe notamment une utilisation intensive de l'acide méthacrylique, due à sa double capacité de former des liaisons hydrogène et d'être un donneur de proton. Dans l'optique d'améliorer les interactions moléculaires, d'autres types de monomères fonctionnels ont été développés d'une part à partir d'urée et d'amidine³⁵ et d'autre part en utilisant les interactions par coordination à un métal³⁶.

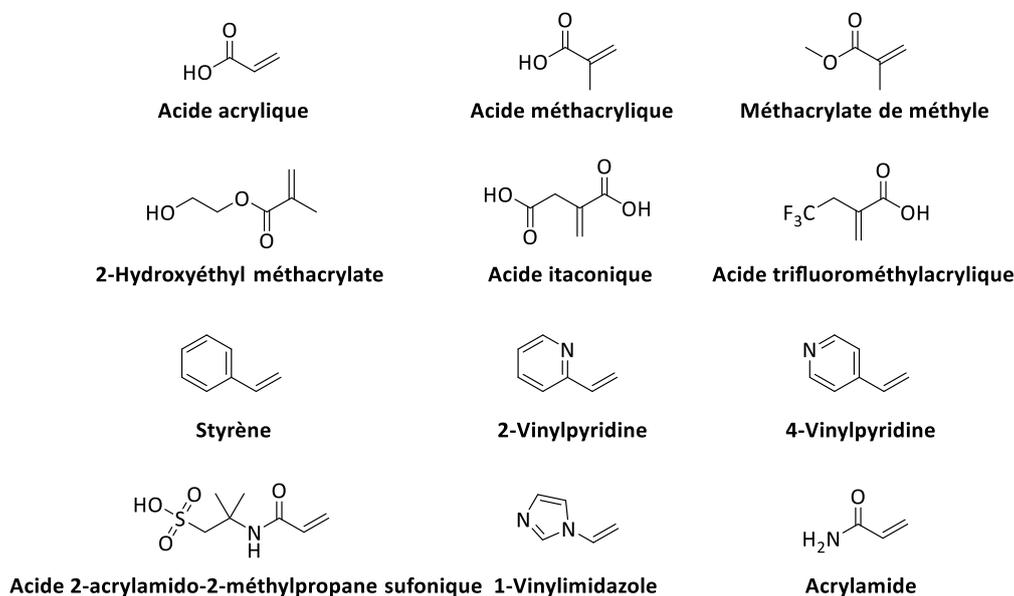


Figure 3: Monomères fonctionnels communément utilisés pour la synthèse des polymères à empreintes moléculaires.

³⁵ Urraca, J. L.; Hall, A. J.; Moreno-Bondi, M. C.; Sellergren, B. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2006**, 45 (31), 5158–5161.

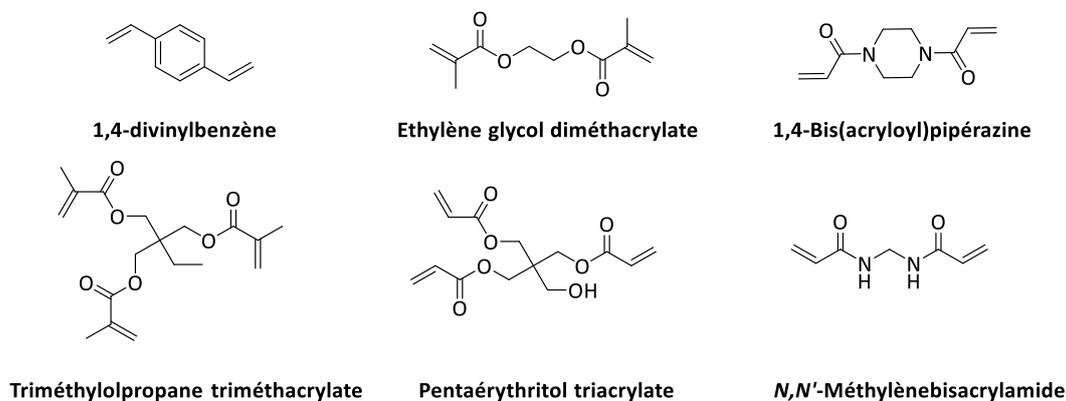
³⁶ Çetin, K.; Denizli, A. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2015**, 126, 401–406.

II.2.1.3 Influence des agents réticulants

L'agent réticulant remplit de nombreuses fonctionnalités lors de l'étape de polymérisation :

- Il permet de contrôler la morphologie de la matrice polymérique en jouant sur sa rigidité finale.
- Il participe à la stabilisation de la structure tridimensionnelle des cavités des empreintes moléculaires et confère une stabilité mécanique à cette matrice afin de conserver le pouvoir de reconnaissance.
- Il contribue, selon sa structure chimique, à augmenter les interactions moléculaires non covalentes avec la molécule cible.

A cet effet, différents agents réticulants ont été conçus et sont largement utilisés dans les synthèses de MIPs ([Figure 4](#)).



[Figure 4](#): Agents réticulants généralement utilisés pour la synthèse des polymères à empreintes moléculaires.

II.2.1.4 Influence de l'initiateur de polymérisation

Bien que la polycondensation soit reportée dans la littérature^{37,38}, c'est la polymérisation par voie radicalaire qui est la plus souvent utilisée, étant donné qu'elle est simple à mettre en œuvre et qu'elle se réalise dans des conditions relativement douces. De

³⁷ Neto, J. D. R. M.; Santos, W. D. J. R.; Lima, P. R.; Tanaka, S. M. C. N.; Tanaka, A. A.; Kubota, L. T. *Sensors Actuators B Chem.* **2011**, 152 (2), 220–225.

³⁸ Lofgreen, J. E. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, 43 (3), 911–933.

plus, elle est facilement adaptable aux différentes structures chimiques des autres solutés utilisés lors de l'impression moléculaire.

Pour amorcer cette polymérisation radicalaire, des azoinitiateurs (Figure 5) sont utilisés dans la majorité des cas, spécialement l'AIBN (Azobisisobutyronitrile) dont la réaction de décomposition est déclenchée à 65 °C. Mais vu l'instabilité de certains composés quand ils sont exposés à une forte température, il existe d'autres initiateurs comme le peroxyde de benzoyle ou l'ABDV (acide 4,4'-azo-bis-(4-cyanovaléroïque)) qui a une température de décomposition de 40 °C et aussi utilisable par voie photochimique. Cependant, cette dernière semble mieux adaptée aux molécules sensibles thermiquement comme en attestent certaines publications^{39,40}.

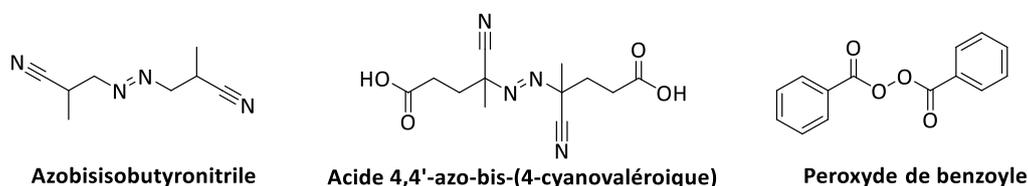


Figure 5: Initiateurs radicalaires usuels pour la synthèse de polymères à empreintes moléculaires.

Toutefois, ce genre d'initiateur présente un inconvénient majeur : la présence d'oxygène dans le milieu réactionnel inhibe les radicaux produits après décomposition. Il est de ce fait nécessaire de purger et de confiner le milieu de réaction sous atmosphère inerte.

Par ailleurs, d'autres approches d'amorçages moins conventionnels sont utilisées comme la polymérisation par voie enzymatique⁴¹ ou la décomposition par oxydoréductions⁴², mais leur mise en œuvre plus difficile limite leur utilisation.

II.2.1.5 Influence du solvant

Le solvant influence principalement la structure poreuse du matériau : il est dit alors porogène. Cette porosité va favoriser la diffusion des substrats, phénomène difficile en absence de solvant porogène, car l'accès aux sites de reconnaissances serait réduit suite à la

³⁹ Singh, M.; Kumar, A.; Tarannum, N. *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, 405 (12), 4245–4252.

⁴⁰ Athikomrattanakul, U.; Katterle, M.; Gajovic-Eichelmann, N.; Scheller, F. W. *Biosens. Bioelectron.* **2009**, 25 (1), 82–87.

⁴¹ Kobayashi, S.; Makino, A. *Chem. Rev.* **2009**, 109 (11), 5288–5353.

⁴² Haginaka, J.; Takehira, H.; Hosoya, K.; Tanaka, N. *J. Chromatogr. A* **1998**, 816 (2), 113–121.

forte densité des polymères obtenus⁴³. De manière générale, cette exigence implique que les solvants trop volatils sont à éviter, car ils induisent la formation de polymères non poreux. De la nature et de la quantité du solvant dépendent aussi les caractéristiques physiques des polymères. En effet, le choix affecte la taille des particules ainsi que la composition intrinsèque du polymère. De plus, le solvant choisi doit favoriser la formation du complexe monomère fonctionnel-molécule cible. L'utilisation de solvants polaires est ainsi à proscrire quand des interactions non covalentes sont en jeu ; la préférence se porte subséquemment sur les solvants ayant une faible constante diélectrique comme le toluène, le chloroforme ou même l'acétonitrile (solvant aprotique qui interfère peu dans la formation de liaisons hydrogène)⁴⁴. Cependant, si des interactions hydrophobes sont engagées dans le processus de complexation ou si des composés polaires sont insolubles à cause de leur forte polarité, la synthèse des MIPs dans des solvants polaires, comme le diméthylformamide et même l'eau, s'avère souvent nécessaire^{45,46}. Toutefois, la littérature offre des exemples où l'impression moléculaire a été faite en présence de molécules cibles polaires, de monomère fonctionnel polaire dans des mélanges contenant de l'eau et un autre solvant polaire (par exemple méthanol)^{47,48}.

II.2.2 Différents modes de polymérisation

Plusieurs méthodes de polymérisation ont été développées pour accéder à des polymères à empreintes moléculaires ayant des propriétés spécifiques. On dénombre dans la littérature des techniques diverses comme la polymérisation en masse, par précipitation, en émulsion, en suspension ou d'autres méthodes spécifiques pour l'obtention de gels. Selon l'application finale, le polymère pourra être sous une forme précise : particules, sphériques ou non sphériques, microfilms, nanofilms, etc.

⁴³ Schmidt, R. H.; Belmont, A.-S.; Haupt, K. *Anal. Chim. Acta* **2005**, 542 (1), 118–124.

⁴⁴ Ma, Y.; Pan, G.; Zhang, Y.; Guo, X.; Zhang, H. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2013**, 52 (5), 1511–1514.

⁴⁵ Scorrano, S.; Longo, L.; Vasapollo, G. *Anal. Chim. Acta* **2010**, 659 (1-2), 167–171.

⁴⁶ Van Royen, G.; Dubruel, P.; Daeseleire, E. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, 62 (35), 8814–8821.

⁴⁷ Ma, Y.; Pan, G.; Zhang, Y.; Guo, X.; Zhang, H. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2013**, 52 (5), 1511–1514.

⁴⁸ Zheng, M. M.; Gong, R.; Zhao, X.; Feng, Y. Q. *J. Chromatogr. A* **2010**, 1217 (14), 2075–2081.

II.2.2.1 Polymérisation en masse

Cette polymérisation est la plus conventionnelle pour la préparation des MIPs de par la simplicité de sa mise en œuvre. Elle repose en effet sur une simple mixtion de tous les éléments (molécule cible, monomère fonctionnel, agent réticulant, solvant porogène, initiateur de radicaux). Après initiation de la polymérisation par voie thermique ou photochimique, des polymères en bloc sont obtenus, broyés et tamisés pour mener à des microparticules dont les dimensions sont normalisées selon l'application voulue. Bien que la réaction de polymérisation soit rapide, le broyage des particules est fastidieux, lent et conduit à des formes et tailles de particules irrégulières. De surcroît, une partie des sites accueillant la molécule d'intérêt sont détruits lors de cette procédure, rendant moins performant le pouvoir de reconnaissance dudit polymère et limitant ainsi ses domaines d'application. Pour surmonter ces obstacles, des méthodes alternatives offrant une meilleure efficacité que la polymérisation en masse ont été élaborées⁴⁹.

II.2.2.2 Polymérisation par précipitation

Cette technique, largement reprise dans la littérature⁵⁰ et rapportée notamment par Mosbach^{51,52}, permet d'obtenir des particules sphériques uniformes de tailles micrométrique et nanométrique⁵³. Tout comme la polymérisation en masse, tous les composants sont solubilisés dans un solvant organique, mélange qui est ensuite ajouté à un solvant non miscible au précédent. Pendant la polymérisation, les particules croissent pour atteindre une taille critique, finissent par devenir insolubles dans le mélange réactionnel, et précipitent. Le rendement de polymérisation est élevé et leur pouvoir de reconnaissance est meilleur que celui des polymères imprimés obtenus par polymérisation en masse^{54,55}.

Cette technique comporte un handicap non négligeable. Elle emploie une grande quantité de solvant et une faible quantité de monomères fonctionnels, ce qui impacte la

⁴⁹ Yoshimatsu, K.; Reimhult, K.; Krozer, A.; Mosbach, K.; Sode, K.; Ye, L. *Anal. Chim. Acta* **2007**, *584* (1), 112–121.

⁵⁰ Poma, A.; Turner, A. P. F.; Piletsky, S. A. *Trends Biotechnol.* **2010**, *28* (12), 629–637.

⁵¹ Ye, L.; Cormack, P. a. G.; Mosbach, K. *Anal. Commun.* **1999**, *36* (2), 35–38.

⁵² Ye, L.; Mosbach, K. *React. Funct. Polym.* **2001**, *48* (1-3), 149–157.

⁵³ Cacho, C.; Turiel, E.; Martin-Esteban, A.; Pérez-Conde, C.; Cámara, C. *J. Chromatogr. B* **2004**, *802* (2), 347–353.

⁵⁴ Brüggemann, O.; Haupt, K.; Ye, L.; Yilmaz, E.; Mosbach, K. *J. Chromatogr. A* **2000**, *889* (1), 15–24.

⁵⁵ Tamayo, F. G.; Casillas, J. L.; Martin-Esteban, A. *J. Chromatogr. A* **2005**, *1069* (2), 173–181.

complexation de la molécule cible par ceux-ci. Cependant, une association réfléchie des monomères et de la molécule permet de limiter l'impact de cet inconvénient⁵⁶ même si certaines caractéristiques finales (taille des particules, dispersité) dépendent beaucoup des conditions expérimentales^{57,58}.

II.2.2.3 Polymérisation en émulsion

La polymérisation en émulsion permet d'avoir des particules sphériques nanométriques. La polymérisation consiste à la mise en contact de deux solvants non miscibles dont l'un contient le monomère fonctionnel, l'agent réticulant et l'initiateur de radicaux. Des tensioactifs sont incorporés pour pouvoir former des micelles, stabilisant par conséquent les gouttelettes dispersées. Cette stabilisation limite la croissance des particules, permettant d'obtenir des tailles homogènes variant entre 10 et 100 nanomètres. Cette technique a été rapportée dans la littérature sous différentes conditions :

- **Polymérisation en mini-émulsion**^{59,60,61} : cette première variante consiste à utiliser un solvant organique solubilisant la molécule cible, des monomères fonctionnels et des agents réticulants. Une phase aqueuse contenant un tensioactif comme le dodécylsulfate de sodium va être ajoutée à ce mélange qui, après forte agitation, crée une émulsion. La polymérisation est ensuite initiée pour obtenir le MIP.
- **Polymérisation en micro-émulsion**^{62,63} : basée sur le même principe que la précédente, cette polymérisation implique l'ajout supplémentaire d'un « cotensioactif », souvent un alcool de structure courte (3 à 8 carbones). Cette addition induit la formation de particules encore plus petites, de 1 à 100

⁵⁶ Boonpangrak, S.; Prachayasittikul, V.; Bülow, L.; Ye, L. *J. Appl. Polym. Sci.* **2006**, *99* (4), 1390–1398.

⁵⁷ Li, P.; Rong, F.; Yuan, C. *Polym. Int.* **2003**, *52* (12), 1799–1806.

⁵⁸ Lai, J.-P.; Yang, M.-L.; Niessner, R.; Knopp, D. *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, *389* (2), 405–412.

⁵⁹ Sari, E.; Üzek, R.; Duman, M.; Denizli, A. *Talanta* **2016**, *150*, 607–614.

⁶⁰ Uzun, L.; Uzek, R.; Şenel, S.; Say, R.; Denizli, A. *Mater. Sci. Eng. C* **2013**, *33* (6), 3432–3439.

⁶¹ Esfandyari-Manesh, M.; Darvishi, B.; Ishkuh, F. A.; Shahmoradi, E.; Mohammadi, A.; Javanbakht, M.; Dinarvand, R.; Atyabi, F. *Mater. Sci. Eng. C* **2016**, *62*, 626–633.

⁶² Capek, I. *Adv. Colloid Interface Sci.* **1999**, *80* (2), 85–149.

⁶³ Dvorakova, G.; Haschick, R.; Klapper, M.; Müllen, K.; Biffis, A. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2013**, *51* (2), 267–274.

microns, invisibles à l'œil nu et rendant transparent le mélange des deux liquides non miscibles.

- **Polymérisation en émulsion inverse**^{64,65} : elle repose sur la solubilisation de la molécule cible, des monomères fonctionnels et des agents réticulants en phase aqueuse. L'incorporation d'un tensioactif dissous préalablement dans la phase organique est alors nécessaire pour créer l'émulsion.
- **Polymérisation en émulsion « shell core »**^{66,67,68} : aussi appelée « two stage swelling », cette méthode implique donc deux étapes consécutives où des supports composés de particules de polystyrène sont utilisés. D'abord, ces dernières sont placées en suspension, agitées et gonflent sous l'action des différents solvants. Ensuite, elles sont mises en contact avec les composants habituels de l'impression moléculaire pour enfin engager la polymérisation.

II.2.2.4 Polymérisation en suspension

Dans ce procédé, la polymérisation a lieu en phase hétérogène : une phase organique, contenant le mélange réactionnel, dispersée sous forme de gouttelettes dans une phase aqueuse ou hydrophile perpétuellement agitée. Contrairement à une vraie émulsion, les gouttelettes de monomères sont plus larges et sont polymérisées pendant que la dispersion est maintenue par une agitation continue⁶⁹. Par ailleurs, la phase dispersante hydrophile, pouvant interférer dans les interactions entre la molécule cible et les monomères fonctionnels, des solvants perfluorés⁷⁰ ont été utilisés malgré leur coût élevé. Cependant, le recyclage facile de ces solvants par distillation et l'existence d'autres liquides dispersants (huile de silicone⁷¹, huile minérale⁷²) couplés au fait que les MIPs élaborés par ce

⁶⁴ Zeng, Z.; Hoshino, Y.; Rodriguez, A.; Yoo, H.; Shea, K. J. *ACS Nano* **2010**, *4* (1), 199–204.

⁶⁵ Luo, X.; Zhan, Y.; Huang, Y.; Yang, L.; Tu, X.; Luo, S. *J. Hazard. Mater.* **2011**, *187* (1-3), 274–282.

⁶⁶ Lin, M.; Li, X.; Zhang, W.; Ying, X. *J. Appl. Polym. Sci.* **2013**, *127* (3), 2067–2073.

⁶⁷ Zhang, Z.; Chen, L. X.; Yang, F. F.; Li, J. H. *Rsc Adv.* **2014**, *4* (60), 31507–31514.

⁶⁸ Murase, N.; Taniguchi, S. I.; Takano, E.; Kitayama, Y.; Takeuchi, T. *Macromol. Chem. Phys.* **2015**, *216* (13), 1396–1404.

⁶⁹ Yu, P.; Sun, Q.; Tan, Z.; Meng, M.; Pan, J.; Yan, Y.; Li, C. *Adsorpt. Sci. Technol.* **2015**, *33* (3), 321–336.

⁷⁰ Jaiswal, L.; Rakkit, S.; Pochin, K.; Jaisamut, P.; Tanthana, C.; Tanmanee, N.; Srichana, T.; Suedee, R. *Process Biochem.* **2015**, *50* (12), 2035–2050.

⁷¹ Alizadeh, T.; Ganjali, M. R.; Alizadeh, H. *Microchim. Acta* **2015**, *182* (5–6), 1205–1212.

⁷² Meouche, W.; Branger, C.; Beurroies, I.; Denoyel, R.; Margailan, A. *Macromol. Rapid Commun.* **2012**, *33* (10), 928–932.

système soient plus efficaces que leurs équivalents obtenus par polymérisation en masse⁷³, rendent cette méthode de polymérisation attractive.

II.2.2.5 Polymérisation pour la synthèse de micro- et nanogels

Les nanogels sont caractérisés par leur propriété à former des solutions colloïdales homogènes en présence d'un solvant donné. Ce comportement a permis d'envisager des applications dans les domaines des capteurs, des séparations et plus singulièrement pour les solvants aqueux dans le domaine biomédical. Ils peuvent être préparés par plusieurs méthodes : post-dilution, « early termination », ou par forte dilution.

En plus d'avoir un rendement de polymérisation élevé, les nanogels obtenus par la technique de post-dilution mesurent 10 à 20 nm⁷⁴. Cependant, la mise en œuvre de cette synthèse n'est pas simple, car le mélange réactionnel doit être dilué quand le degré de réticulation atteint son maximum juste avant la macrogélification, phénomène intervenant en forte concentration d'agent réticulant. Cet inconvénient peut être évité en utilisant la méthode « early termination » qui consiste à arrêter la polymérisation avant la macrogélification du système^{74,75}. Les nanogels préparés ont une masse de 90-100 kDa, une sélectivité élevée⁷⁵, cependant ils sont obtenus avec un faible rendement⁷⁶. La stratégie la plus répandue pour la synthèse de micro- et nanogels est la polymérisation par forte dilution. Les gels sont moins denses, ont des sites de fixations moins rigides entraînant l'obtention de polymères à empreintes moléculaires moins efficaces, moins sélectifs avec de surcroît un plus faible rendement que ceux décrits précédemment. Malgré ces désavantages, ils ont été utilisés pour l'impression de biomolécules hydrosolubles telles que les protéines et les enzymes^{77,78,79} car la méthode par forte dilution est facile à mettre en œuvre.

⁷³ Wolska, J.; Bryjak, M. *Sep. Sci. Technol.* **2014**, *49* (11), 1643–1653.

⁷⁴ Wulff, G.; Chong, B. O.; Kolb, U. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2006**, *45* (18), 2955–2958.

⁷⁵ Çakir, P.; Cutivet, A.; Resmini, M.; Bui, B. T. S.; Haupt, K. *Adv. Mater.* **2013**, *25* (7), 1048–1051.

⁷⁶ Guerreiro, A. R.; Chianella, I.; Piletska, E.; Whitcombe, M. J.; Piletsky, S. A. *Biosens. Bioelectron.* **2009**, *24* (8), 2740–2743.

⁷⁷ Cutivet, A.; Schembri, C.; Kovensky, J.; Haupt, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (41), 14699–14702.

⁷⁸ Chen, H.; Yuan, D.; Li, Y.; Dong, M.; Chai, Z.; Kong, J.; Fu, G. *Anal. Chim. Acta* **2013**, *779*, 82–89.

⁷⁹ Chen, H.; Kong, J.; Yuan, D.; Fu, G. *Biosens. Bioelectron.* **2014**, *53*, 5–11

II.2.3 Elimination de la molécule cible

Commune à toutes les procédures de polymérisation vues précédemment, cette phase est nécessaire pour libérer les sites de reconnaissance complémentaires de la molécule cible. Son extraction de la matrice polymérique n'est pas simple : il faut utiliser des solvants qui limitent les interactions molécule cible-polymère et qui favorisent le gonflement du polymère. Les solvants généralement employés sont ceux qui présentent une forte polarité tels que le méthanol ou l'acétonitrile couplés parfois à l'acide acétique, supprimant ainsi les liaisons hydrogène. Malgré tout, l'extraction n'est jamais totale, mais un lavage intensif de la matrice polymérique permet d'éviter au mieux le relargage possible de la molécule cible lors des tests de reconnaissance. La difficulté de l'extraction varie également selon le mode d'impression moléculaire.

II.2.4 Différents modes d'impressions moléculaires.

Les polymères imprimés sont préparés selon trois approches : covalente, semi-covalente et non covalente. Chacune de ces techniques met en jeu des interactions différentes entre la molécule cible et les fonctions polymérisables et par conséquent des interactions différentes lors de la fixation de la cible par le polymère.

II.2.4.1 Impression moléculaire par l'approche covalente

Développée par Wulff^{19,80,81}, l'approche covalente nécessite la création de liaisons covalentes entre la molécule cible et le monomère fonctionnel, la grande stabilité du produit issu de la réaction permettant d'utiliser un large panel de méthodes de polymérisation. L'empreinte est obtenue en clivant chaque point d'ancrage entre le réseau polymérique et la cible (Schéma 5). Pour faciliter l'extraction, des liaisons covalentes réversibles sont utilisées notamment des bases de Schiff, des acétals, des cétals et des esters boroniques. Elles ont permis la synthèse de polymères imprimés à partir d'alcools⁸², de cétones⁸³, d'aldéhydes⁸⁴, d'acides aminés⁸⁵, de sucres^{86,87}, d'acides carboxyliques¹⁹ ou même de stéroïdes^{88,89}.

⁸⁰ Wulff, G. *Pure Appl. Chem.* **1982**, 54 (11), 2093–2102.

⁸¹ Wulff, G.; Biffis, A. In *Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*; **2000**; Vol. 23, pp 71–111.

⁸² Dubey, L.; Chianella, I.; Dubey, I.; Piletska, E.; Whitcombe, M. J.; Piletsky, S. *Open Anal. Chem. J.* **2012**, 6 (1), 15–21.

⁸³ Shea, K. J.; Sasaki, D. Y.; Stoddard, G. J. *Macromolecules* **1989**, 22 (4), 1722–1730.

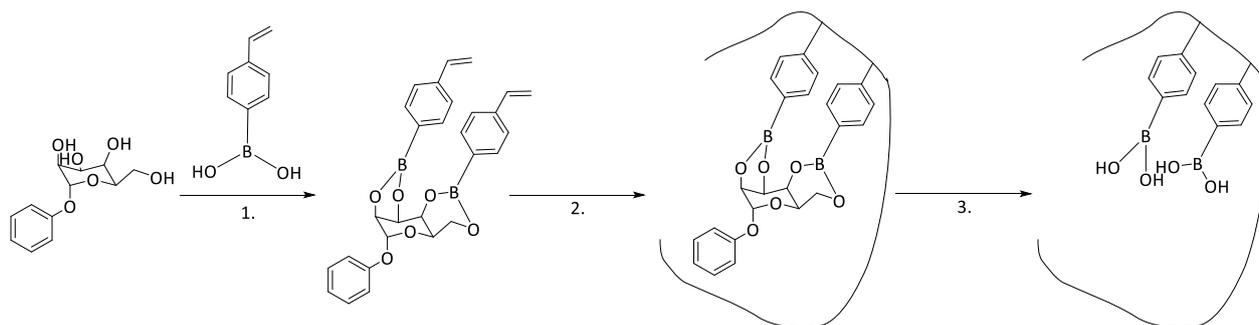


Schéma 5 : Approche covalente par les esters boroniques (schéma adapté^{90,91}) :

1. Formation du complexe par liaisons covalentes,
2. Polymérisation
3. Extraction de la cible par hydrolyse

Cette approche offre une multitude de bénéfices :

- La molécule interagit uniquement avec le monomère fonctionnel
- Une homogénéité des cavités de fixation de la molécule cible est obtenue grâce à la stabilité des interactions covalentes
- L'impression efficace offre un nombre de cavités de fixation élevé par rapport à la quantité de molécule cible engagée⁹².

Pendant, ce mode d'impression présente quelques désavantages :

- Les conditions de clivage des liaisons covalentes peuvent être assez dures et rendre le processus d'extraction difficile. Des réactions secondaires peuvent être induites *in situ* conduisant à l'affaiblissement du pouvoir de reconnaissance.
- Il existe un nombre réduit de liaisons covalentes réversibles pouvant être utilisés par cette approche.

⁸⁴ Mohamad Yusof, N. N.; Tanioka, E.; Kobayashi, T. *Sep. Purif. Technol.* **2014**, *122*, 341–349.

⁸⁵ Burri, H. V. R.; Yu, D. *J. Biomed. Sci. Eng.* **2015**, *8* (12), 805–814.

⁸⁶ Shen, F.; Ren, X. *RSC Adv.* **2014**, *4* (25), 13123.

⁸⁷ Yang, W. L.; Huang, S. M.; Wu, Q. Z.; He, J. F. *J. Polym. Res.* **2014**, *21* (4), 383.

⁸⁸ Li, X.; Tong, Y.; Jia, L.; Guan, H. *Monatshefte für Chemie* **2015**, *146* (3), 423–430.

⁸⁹ Hashim, S. N. N. S.; Boysen, R. I.; Schwarz, L. J.; Danylec, B.; Hearn, M. T. W. *J. Chromatogr. A* **2014**, *1359*, 35–43.

⁹⁰ Ye, L. In *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*; **2015**; Vol. 150, pp 1–24.

⁹¹ Wulff, Gün.; Minarik, M. *J. Liq. Chromatogr.* **1990**, *13* (15), 2987–3000.

⁹² Haupt, K.; Mosbach, K. *Chem. Rev.* **2000**, *100* (7), 2495–2504.

- Les constantes de cinétiques d'extraction et de fixation de la molécule cible sont lentes⁹³.

II.2.4.2 Impression moléculaire par l'approche non covalente

Ce mode d'impression repose sur des interactions non covalentes entre la molécule cible et les monomères fonctionnels (Schéma 6). Ce sont les mêmes interactions qui régissent les systèmes de reconnaissance biologique : les liaisons hydrogène, les forces de Van der Waals, les liaisons ioniques, les interactions hydrophobes et enfin ceux induits par la coordination autour d'un métal.

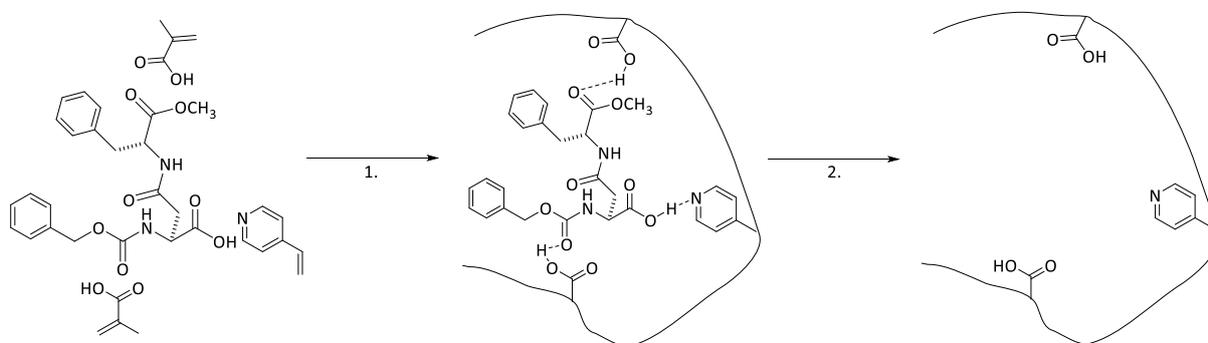


Schéma 6 : Approche non covalente à partir d'un dipeptide (schéma adapté⁹⁰) :
1. Formation du complexe par des liaisons non covalentes et polymérisation
2. Extraction de la molécule cible.

Les avantages de cette méthode sont nombreux :

- Le polymère imprimé mime au mieux les systèmes biologiques homologues.
- L'extraction de la molécule cible ne nécessite pas de conditions dures : des lavages intensifs avec un (des) solvant(s) ou des solutions tampons permettent de l'extraire.
- Les cinétiques de reconnaissance sont rapides par comparaison à celles de l'approche covalente.
- La mise en œuvre est simplifiée : un mélange de tous les composants sans réaction chimique préalable.

⁹³ Komiyama, M.; Takeuchi, T.; Mukawa, T.; Asanuma, H. In *Molecular Imprinting*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, FRG, **2003**; pp 9–19.

Il n'est alors pas étonnant que cette méthode soit devenue la plus couramment utilisée dans le domaine des MIPs, permettant l'impression d'une diversité de molécules cibles telles que des stéroïdes⁹⁴, des peptides⁹⁵, des nucléotides⁹⁶ ou des sucres⁹⁷.

Cependant, le complexe de prépolymérisation molécule cible-monomère fonctionnel formé est moins stable, car les interactions non covalentes qui le maintiennent sont faibles (Tableau 1). Néanmoins une bonne pré-évaluation par des méthodes analytiques^{98,99,100,101} du trio solvant-molécule cible-monomère fonctionnel, ainsi qu'un ajout en excès de ce dernier permet de favoriser cette complexation en agrémentant les sites d'interaction. Le polymère imprimé obtenu a néanmoins une reconnaissance plus faible de la cible à cause d'une hétérogénéité des sites de fixation¹⁰².

Types de liaisons chimiques et d'interactions	Gamme d'énergie de liaison (kJ.mol ⁻¹)
Van der Waals	0.4-15
Hydrophobe	10-20
Hydrogène	12-30
Ionique	20-70
Coordination via un métal	200-300
Covalente	300-1000

Tableau 1 : Comparaison des énergies des différents types d'interactions et liaisons chimiques¹⁰³.

⁹⁴ Inanan, T.; Tüzmen, N.; Akgöl, S.; Denizli, A. *Int. J. Biol. Macromol.* **2016**, *92*, 451–460.

⁹⁵ Rossetti, C.; Abdel Qader, A.; Halvorsen, T. G.; Sellergren, B.; Reubsæet, L. *Anal. Chem.* **2014**, *86* (24), 12291–12298.

⁹⁶ Krstulja, A.; De Schutter, C.; Favetta, P.; Manesiotis, P.; Agrofoglio, L. A. *J. Chromatogr. A* **2014**, *1365*, 12–18.

⁹⁷ Henry, N.; Favetta, P.; Delépée, R.; Seigneuret, J. M.; Agrofoglio, L. A. *Int. J. Cosmet. Sci.* **2015**, *37* (2), 196–206.

⁹⁸ Sellergren, B.; Lepisto, M.; Mosbach, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *1* (c), 5853–5860.

⁹⁹ Duffy, D. J.; Das, K.; Hsu, S. L.; Penelle, J.; Rotello, V. M.; Stidham, H. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124* (28), 8290–8296.

¹⁰⁰ Svenson, J.; Karlsson, J. G.; Nicholls, I. A. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1024* (1-2), 39–44.

¹⁰¹ Karim, K.; Breton, F.; Rouillon, R.; Piletska, E. V.; Guerreiro, A.; Chianella, I.; Piletsky, S. A. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2005**, *57* (12), 1795–1808.

¹⁰² Vasapollo, G.; Sole, R. Del; Mergola, L.; Lazoi, M. R.; Scardino, A.; Scorrano, S.; Mele, G. *Int. J. Mol. Sci.* **2011**, *12* (9), 5908–5945.

¹⁰³ Zandanel, C. Préparation de polymères imprimés de sucres par mini-émulsion 'one pot' et l'approche semi-covalente en surface, Thèse doctorale, Université de Strasbourg, **2009**.

II.2.4.3 Impression moléculaire par l'approche semi-covalente

Le mode d'impression semi-covalent est une hybridation des deux approches précédemment décrites et a été rapporté pour la première fois par Sellegren¹⁰⁴ et Whitcombe¹⁰⁵. En effet, il implique la formation de liaison covalente pour former le complexe entre la molécule cible et les monomères fonctionnels alors que la reconnaissance se base sur des interactions non covalentes entre ces deux composants (Schéma 7). L'incorporation de liaisons covalentes permet d'obtenir des sites de reconnaissance homogènes et une distribution contrôlée¹⁰⁶. Malgré de nombreux exemples^{107,108,109,110} publiés dans la littérature, l'approche semi-covalente reste faiblement employée.

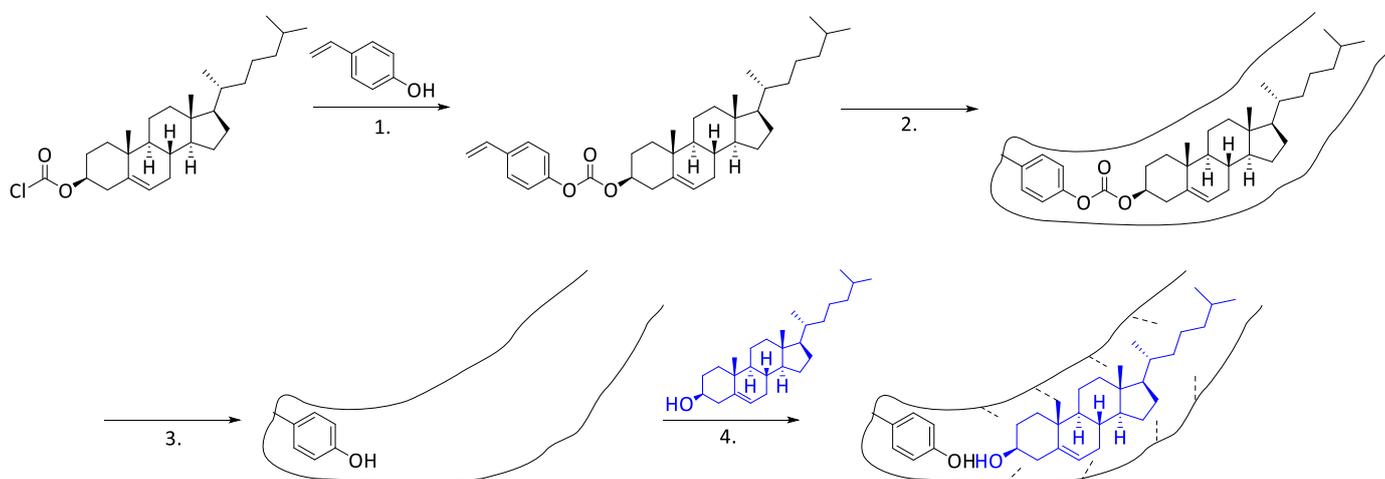


Schéma 7 : Impression du cholestérol par approche semi-covalente (schéma adapté⁹⁰) :

1. Formation du complexe par liaison covalente, 2. Polymérisation, 3. Extraction de la molécule cible
4. Reconnaissance du cholestérol par des interactions non covalentes.

¹⁰⁴ Sellegren, B.; Andersson, L. *J. Org. Chem.* **1990**, *55* (2), 3381–3383.

¹⁰⁵ Whitcombe, M. J.; Rodriguez, M. E.; Villar, P.; Vulfson, E. N. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117* (27), 7105–7111.

¹⁰⁶ Caro, E.; Masqué, N.; Marcé, R. M.; Borrull, F.; Cormack, P. A.; Sherrington, D. C. *J. Chromatogr. A* **2002**, *963* (1-2), 169–178.

¹⁰⁷ Taguchi, H.; Sunayama, H.; Takano, E.; Kitayama, Y.; Takeuchi, T. *Analyst* **2015**, *140* (5), 1448–1452.

¹⁰⁸ Soares da Silva, M.; Viveiros, R.; Aguiar-Ricardo, A.; Bonifácio, V. D. B.; Casimiro, T. *RSC Adv.* **2012**, *2* (12), 5075.

¹⁰⁹ Kou, L.-J.; Liang, R.-N.; Wang, X.-W.; Chen, Y.; Qin, W. *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, *405* (14), 4931–4936.

¹¹⁰ Qi, P.; Wang, J.; Wang, L.; Li, Y.; Jin, J.; Su, F.; Tian, Y.; Chen, J. *Polymer (Guildf)*. **2010**, *51* (23), 5417–5423.

II.3 Différentes applications des polymères à empreintes moléculaires

Au fil des années, les polymères à empreintes moléculaires sont devenus des outils de choix pour différentes applications grâce aux nombreuses propriétés qu'ils offrent. En effet, plusieurs domaines technologiques de pointe se sont appuyés sur leur pouvoir de reconnaissance à l'instar de la catalyse, la purification, les capteurs et biocapteurs, l'administration de principes actifs et tout particulièrement la séparation³⁴ (Figure 6).



Figure 6 : Représentation des principales applications des polymères imprimés (schéma adapté¹¹¹).

Dans la séparation, l'un des domaines les plus étudiés avec des applications en chromatographie^{112,113} et en extraction sur phase solide^{114,115}, des phases stationnaires

¹¹¹ Sellergren, B.; Allender, C. J. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2005**, 57 (12), 1733–1741.

¹¹² Cheong, W. J.; Yang, S. H.; Ali, F. J. *J. Sep. Sci.* **2013**, 36 (3), 609–628.

¹¹³ Wei, S.; Mizaikoff, B. *J. Sep. Sci.* **2007**, 30 (11), 1794–1805.

¹¹⁴ Turiel, E.; Díaz-Álvarez, M.; Martín-Esteban, A. *J. Chromatogr. A* **2016**, 1432, 1–6.

¹¹⁵ Lucci, P.; Moret, S.; Bettin, S.; Conte, L. *J. Sep. Sci.* **2016**.

imprimées peuvent être produites sur mesure selon la séparation à effectuer par rapport aux autres phases conventionnelles. Ces matériaux ont ainsi permis de faire face à la nécessité d'obtention de produits optiquement purs par résolution de mélanges racémiques, de purifier des solutions complexes et d'extraire sélectivement des composés individuels à partir de celles-ci^{34,116}.

L'intérêt pour les capteurs chimiques et biocapteurs a également crû ces dernières années sous l'impulsion de la demande de moyens de diagnostics cliniques, d'analyses alimentaires et environnementales^{34,117}. La synthèse d'un capteur comprend l'ancrage du polymère imprimé sur une surface reliée à un transducteur convertissant chaque interaction moléculaire entre le polymère et la molécule cible en signal physique ou chimique quantifiable¹¹⁸.

En utilisant les polymères imprimés comme mimes artificiels des enzymes et des anticorps, les chimistes ont aussi introduit de nouveaux catalyseurs plus stéréospécifiques et sélectifs que leurs analogues biologiques¹¹⁹. Cette nouvelle technologie offre également des catalyseurs mieux adaptés aux réactions chimiques, car ils sont compatibles avec la plupart des solvants organiques avec des températures élevées, des conditions basiques et acides, ou des grandes pressions¹²⁰. Des substrats et des analogues des états de transition peuvent être utilisés comme cibles pour l'empreinte moléculaire¹²¹.

Des applications pour des tests immunologiques ont également été rapportées dans la littérature et ont montré que ces matériaux pouvaient être aussi efficaces que les tests commerciaux à base d'anticorps comme ELISA^{122,123,124}. Le pouvoir de rétention et de relargage moléculaire des polymères imprimés a été mis à profit dans les secteurs

¹¹⁶ Thibert, V.; Legeay, P.; Chapuis-Hugon, F.; Pichon, V. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2014**, *949-950*, 16–23

¹¹⁷ Piletsky, S. A.; Turner, N. W.; Laitenberger, P. *Med. Eng. Phys.* **2006**, *28* (10), 971–977.

¹¹⁸ Nikesh B. Samarth, Vinayak Kamble, Prakash A. Mahanwar, A. V. R. and A. V. K. *Chem. Int.* **2015**, *4* (4), 202–210.

¹¹⁹ Li, W.; Li, S. In *Advances in Polymer Science*; Springer Berlin Heidelberg, **2007**; Vol. 206, pp 191–210.

¹²⁰ Wade, H.; Scanlan, T. S.; Bornscheuer, U. T.; Huisman, G. W.; Kazlauskas, R. J.; Lutz, S.; Moore, J. C.; Robins, K.; Toogood, H. S.; Scrutton, N. S.; Shokat, K. M.; Schultz, P. G.; Pauling, L.; Shokat, K. M.; Leumann, C. J.; Sugasawara, R.; Schultz, P. G. *Nature* **1989**, *338* (6212), 269–271.

¹²¹ Ramström, O.; Mosbach, K. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *3* (6), 759–764.

¹²² Ramström, O.; Ye, L.; Mosbach, K. *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 471–477.

¹²³ Chianella, I.; Guerreiro, A.; Moczko, E.; Caygill, J. S.; Piletska, E. V.; De Vargas Sansalvador, I. M. P.; Whitcombe, M. J.; Piletsky, S. A. *Anal. Chem.* **2013**, *85* (17), 8462–8468.

¹²⁴ Canfarotta, F.; Poma, A.; Guerreiro, A.; Piletsky, S. *Nat. Protoc.* **2016**, *11* (3), 443–455.

dermatologique et cosmétique^{125,126}. Les applications abouties s'affranchissent des controverses et de limitations liées à l'emploi de composés dont les conclusions sur leur nocivité sont douteuses, et dont leur surdosage s'est généralisé en vue d'améliorer l'efficacité^{127,128}.

Finalement, en dehors de toutes ces applications, les propriétés des polymères imprimés dans le domaine de l'administration de médicament ont intéressé plusieurs auteurs en recherche de nouvelles approches, en formulation et technologies pour le transport de principe actif^{129,130}. Les grandes avancées par l'apport de ces matériaux spécifiques font alors entrevoir plusieurs perspectives pour le monde médical.

II.3.1 Utilisation des polymères à empreintes moléculaires pour des applications biomédicales

Ces deux dernières décennies ont vu l'intérêt grandir pour des applications biomédicales, alimenté par une littérature de plus en plus riche montrant la capacité des polymères imprimés à lier spécifiquement et sélectivement les molécules bioactives^{111,131}. Bien que le contrôle du relargage et de la quantité du principe actif s'ajoute aux nombreux avantages, la conception des polymères imprimés doit se conformer à quelques conditions pour pouvoir être transposable aux applications biomédicales¹³² :

- Afin de mimer au plus près les interactions de reconnaissances biologiques, le mode d'impression moléculaire doit être préférentiellement non covalent, car l'approche covalente pourrait modifier la structure chimique des molécules cibles.

¹²⁵ Suedee, R. *Pharm. Anal. Acta* **2013**, 4 (8), 1–23.

¹²⁶ Nestora, S.; Merlier, F.; Beyazit, S.; Prost, E.; Duma, L.; Baril, B.; Greaves, A.; Haupt, K.; Tse Sum Bui, B. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2016**, 55 (21), 6252–6256.

¹²⁷ Krewski, D.; Yokel, R. a; Nieboer, E.; Borchelt, D.; Cohen, J.; Harry, J.; Kacew, S.; Lindsay, J.; Mahfouz, A. M.; Rondeau, V. *J. Toxicol. Environ. Heal. Part B* **2007**, 10 (sup1), 1–269.

¹²⁸ Api, A. M.; Basketter, D. a; Cadby, P. a; Cano, M.-F.; Ellis, G.; Gerberick, G. F.; Griem, P.; McNamee, P. M.; Ryan, C. a; Safford, R. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **2008**, 52 (1), 3–23.

¹²⁹ Tiwari, G.; Tiwari, R.; Sriwastawa, B.; Bhati, L.; Pandey, S.; Pandey, P.; Bannerjee, S. K. *Int J Pharm Investig* **2012**, 2 (1), 2–11.

¹³⁰ Luliński, P. *Acta Pol. Pharm.* **2013**, 70 (4), 601–609.

¹³¹ Cunliffe, D.; Kirby, A.; Alexander, C. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2005**, 57 (12), 1836–1853.

¹³² Puoci, F.; Cirillo, G.; Curcio, M.; Parisi, O. I.; Lemma, F.; Picci, N. *Expert Opin. Drug Deliv.* **2011**, 8 (10), 1379–1393.

- Les polymères synthétisés doivent par ailleurs être compatibles avec un milieu aqueux.
- Cette solubilité peut être également contrôlée par le degré de réticulation du polymère synthétisé. En effet, un degré de réticulation élevé confère au matériau une grande rigidité, mais il sera moins soluble dans l'eau. *A contrario*, une faible réticulation accroît la flexibilité du polymère et la solubilité dans l'eau, mais peut éventuellement diminuer le pouvoir de reconnaissance à cause d'une déformation plus prononcée des sites de fixation de la molécule cible.

Face à ces contraintes, la synthèse des polymères imprimés sous forme d'hydrogel semble être la solution : ce type de matériau se caractérise par une réticulation d'homo- ou hétéropolymères hydrophiles permettant au polymère d'absorber une grande quantité d'eau par effet de gonflement^{133,134}. Ce phénomène de gonflement ouvre la voie à plusieurs avantages :

- La molécule cible peut être relarguée de manière contrôlée par diffusion au fur et à mesure que le polymère se gonfle¹³⁵.
- La reconnaissance de la molécule cible s'en trouve améliorée grâce à un accès plus direct aux cavités de fixation¹³⁶.
- La rétention de molécules d'eau entre les chaînes de polymères permet d'apporter un degré de flexibilité comparable à celle des tissus naturels, maximisant ainsi le niveau de biocompatibilité¹³⁷.

Ainsi les polymères imprimés sous forme d'hydrogel ont été obtenus à partir de monomères dérivés de méthacrylates et appliqués à l'impression de toutes sortes de molécules cibles (Tableau 2).

¹³³ Byrne, M. E.; Park, K.; Peppas, N. A. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2002**, *54* (1), 149–161.

¹³⁴ Liu, Z.; Bucknall, D. G.; Allen, M. G. *Acta Biomater.* **2010**, *6* (6), 2003–2012.

¹³⁵ Mayes, A. G.; Whitcombe, M. J. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2005**, *57* (12), 1742–1778.

¹³⁶ Byrne, M. E.; Hilt, J. Z.; Peppas, N. A. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A* **2008**, *84* (1), 137–147.

¹³⁷ Cirillo, G.; Iemma, F.; Puoci, F.; Parisi, O. I.; Curcio, M.; Spizzirri, U. G.; Picci, N. *J. Drug Target.* **2009**, *17* (1), 72–77.

Molécule cible	Monomère fonctionnel	Agent réticulant	Initiateur catalyseur	Solvant	Taille	Réf.
Acétate de prednisolone	MAA HEMA	EGDMA	AIBN	HEMA	0.4 mm (<i>film</i>)	138
Fumarate de kétotifène	MA-PDMS-MA DMA, TRIS	EGDMA	UV	Hexanol	0.1 mm (<i>film</i>)	139
Sucres	méthacrylamide	EGDMA	AIBN	DMSO	36-75 µm (<i>particules</i>)*	140 141
Gentiobiose	méthacrylamide	EGDMA	AIBN	DMSO	< 75 µm (<i>particules</i>)*	142
Cisplatine	HEMA MAA	MBAAm	(NH ₄) ₂ S ₂ O ₈ TEMED	Eau	<i>Non déterminé</i>	143
Glucose	<i>Non déterminé</i>	DMA-EHA- HEA-St	Diphenylcétone	2-butoxyéthanol eau	60-66 nm (<i>micelles</i>)	144
Doxorubicine	NIPAAM	EGDMA	AIBN	Ethanol/eau	65-85 nm (<i>nanoparticules</i>)	145
5-fluorouracile	Hema	MBAAm	(NH ₄) ₂ S ₂ O ₈ TEMED	Eau	< 5 µm (<i>microparticules</i>)	36

Tableau 2 : Représentation d'hydrogels récemment décrits dans la littérature. MAA (acide méthacrylique), EGDMA (éthylène glycol diméthacrylate), HEMA (hydroxyéthylméthacrylate), DMA (diméthylamino)éthylméthacrylate, TRIS (3-méthacryloxypropyltris(triméthylsiloxy)silane), MBAAm (*N,N'*-méthylènebisacrylamide), TEMED (*N,N,N',N'*-tétraméthyléthylènediamine), EHA (2-éthylhexyl acrylate), HEA (2-hydroxy éthylacrylate), St (styrène), NIPAAM (*N*-isopropylacrylamide).

*Taille obtenue après tamisage du polymère moulu.

¹³⁸ Malaekheh-Nikouei, B.; Ghaeni, F. A.; Motamedshariaty, V. S.; Mohajeri, S. A. *J. Appl. Polym. Sci.* **2012**, *126* (1), 387–394.

¹³⁹ Xu, J.; Li, X.; Sun, F. *Drug Deliv.* **2011**, *18* (2), 150–158.

¹⁴⁰ Hadizadeh, F.; Zakerian, A.; Mohajeri, S. A. *J. Iran. Chem. Soc.* **2013**, *10* (2), 207–212.

¹⁴¹ Hadizadeh, F.; Hassanpour Moghadam, M.; Mohajeri, S. A. *J. Sci. Food Agric.* **2013**, *93* (2), 304–309.

¹⁴² Mohajeri, S. A.; Hosseinzadeh, H.; Keyhanfar, F.; Aghamohammadian, J. *J. Sep. Sci.* **2010**, *33* (15), 2302–2309.

¹⁴³ Singh, B.; Chauhan, N.; Sharma, V. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2011**, *50* (24), 13742–13751.

¹⁴⁴ Yang, Y.; Yi, C.; Luo, J.; Liu, R.; Liu, J.; Jiang, J.; Liu, X. *Biosens. Bioelectron.* **2011**, *26* (5), 2607–2612.

¹⁴⁵ Kaamyabi, S.; Habibi, D.; Amini, M. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26* (9), 2349–2354.

II.3.2 Limitations de l'utilisation des polymères à empreintes moléculaires pour les applications cliniques

Même si la technologie d'impression moléculaire a été énormément appliquée au domaine biomédical, il apparaît qu'elle n'a pas pu être développée similairement pour les applications cliniques. Leur introduction clinique est principalement handicapée par des considérations toxicologiques et sanitaires essentiellement dues à l'utilisation de solvants organiques et à la non-biodégradabilité de la plupart des polymères imprimés³⁴. En effet, si la synthèse en milieu organique favorise les interactions non covalentes, la présence de ces solvants pourrait aussi altérer les cellules. L'emploi de solvants hydrophiles ou d'un milieu aqueux rendrait les polymères compatibles avec un usage médical, mais les synthèses hydrocompatibles sont encore sous-développées à cause de trop nombreuses liaisons hydrogène engendrées par la présence des molécules d'eau. La polymérisation par précipitation¹³¹, les interactions par effet hydrophobe¹⁴⁶ ou par coordination à un métal¹⁴⁷ peuvent être des solutions face à ces problématiques.

La non-biodégradabilité des polymères imprimés demeure également un frein à leur développement, car les synthèses rapportées se focalisent en effet principalement sur la polymérisation avec des monomères fonctionnels et des agents réticulants issus principalement du pétrole et reconnus dans la littérature comme présentant un risque réel¹⁴⁸. L'étape d'extraction-lavage du polymère à empreintes moléculaires n'étant pas toujours efficace à 100%, la présence résiduelle de composés n'ayant pas polymérisé rendrait ces matériaux artificiels peu ou pas biocompatibles.

Malgré cela, ces polymères symbolisent une alternative sérieuse pour avoir des systèmes d'administration contrôlée ayant de nouvelles propriétés. Ils pourraient potentiellement améliorer l'efficacité du principe actif en s'appuyant sur une stratégie originale de vectorisation¹⁴⁹. En effet, leur utilisation permettrait de diminuer par exemple les doses de médicaments administrés aux patients, diminuant par conséquent les éventuels effets secondaires et réduisant le temps de guérison grâce à une libération graduelle du principe actif.

¹⁴⁶ Piletsky, S. a; Andersson, H. S.; Nicholls, I. a. *Macromolecules* **1999**, 32 (Table 1), 633–636.

¹⁴⁷ Striegler, S. *Macromolecules* **2003**, 36 (4), 1310–1317.

¹⁴⁸ Gosavi, S. S.; Gosavi, S. Y.; Alla, R. K. *Dent. Res. J. (Isfahan)*. **2010**, 7 (2), 82–87.

¹⁴⁹ Hilt, J. Z.; Byrne, M. E. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2004**, 56 (11), 1599–1620.

De ce fait, un polymère à empreintes moléculaires idéal pour des applications cliniques serait sous forme d'hydrogel, biocompatible, biodégradable et aurait en milieu aqueux les propriétés suivantes :

- Un bon maintien de la structure tridimensionnelle en absence de la molécule cible.
- Une bonne flexibilité et une bonne solubilité afin d'être bien assimilé par les tissus.
- Un relargage contrôlé de la molécule cible aux lieux et en temps voulus.
- Une résistance aux dégradations enzymatiques et chimiques non prévues, car bien que résistant à un large intervalle de pH et de température¹⁵⁰, il a été rapporté que certains agents réticulants dérivés de diméthacrylate sont susceptibles à l'hydrolyse par des estérases¹⁵¹.

¹⁵⁰ Svenson, J.; Nicholls, I. A. *Anal. Chim. Acta* **2001**, 435 (1), 19–24.

¹⁵¹ Yourtee, D. M.; Smith, R. E.; Russo, K. A.; Burmaster, S.; Cannon, J. M.; Eick, J. D.; Kostoryz, E. L. *J. Biomed. Mater. Res.* **2001**, 57 (4), 522–531.

III. POLYMERES A EMPREINTES MOLECULAIRES BIODEGRADABLES : CONTEXTE SCIENTIFIQUE

« La science doit s'accommoder à la nature. La nature ne peut s'accommoder à la science. »

Ferdinand Brunot, linguiste

III.1 Polymères biodégradables

De nos jours, la préservation de notre système écologique ne cesse de gagner de l'intérêt, surtout en ce qui concerne l'impact des polymères synthétiques provenant de la pétrochimie. Grâce à leurs caractéristiques, ce sont des matériaux idéaux pour diverses applications fondamentales comme la construction, l'emballage, les produits d'hygiène. Cependant leurs propriétés durables en font aussi leur principal inconvénient : ils sont très peu biodégradables à cause de leur résistance à la dégradation enzymatique et microbienne. De ce fait, ils sont source de pollution environnementale lorsqu'ils ne sont pas correctement recyclés. En raison des émissions toxiques produites par l'incinération des déchets à base de plastiques, le recyclage n'est toujours pas la meilleure solution, car il est limité dans certains cas par des considérations économiques et écologiques. Par ailleurs, il est aussi reconnu que les applications biomédicales et cliniques telles que la chirurgie, les produits cosmétiques et dermatologiques ne peuvent pas s'appuyer sur les propriétés de ces polymères à cause de leur manque de biodégradabilité et de biocompatibilité¹⁵².

Armé de tous ces arguments, le monde scientifique a commencé à s'intéresser à la fabrication de polymères biodégradables depuis une trentaine d'années. Plusieurs domaines comme l'environnement, l'alimentation et en particulier celui du biomédical et des systèmes de libération contrôlée, n'ont cessé de profiter de l'essor de ces matériaux biodégradables innovants et répondants notamment à des contraintes économiques, écologiques et technico-médicales^{153,154,155,156}.

Le principe de biodégradation s'appuie sur un mécanisme conditionné par l'action d'enzymes ou par un clivage chimique associé à des organismes vivants. En pratique, la longue chaîne de polymère est d'abord fractionnée en chaînes de plus petits poids moléculaires par des réactions d'hydrolyse, d'oxydation ou des réactions biotiques suivies ensuite par une bioassimilation et biominéralisation des fragments générés. Par ailleurs, la stabilité du polymère biodégradable dépend notamment de leur composition chimique, de

¹⁵² Avérous, L.; Pollet, E. In *Environmental Silicate Nano-Biocomposites*; **2012**; pp 13–39.

¹⁵³ Nair, L. S.; Laurencin, C. T. *Prog. Polym. Sci.* **2007**, *32* (8-9), 762–798.

¹⁵⁴ Luten, J.; van Nostrum, C. F.; De Smedt, S. C.; Hennink, W. E. *J. Control. Release* **2008**, *126* (2), 97–110.

¹⁵⁵ Tian, H.; Tang, Z.; Zhuang, X.; Chen, X.; Jing, X. *Prog. Polym. Sci.* **2012**, *37* (2), 237–280.

¹⁵⁶ Siracusa, V.; Rocculi, P.; Romani, S.; Rosa, M. D. *Trends Food Sci. Technol.* **2008**, *19* (12), 634–643.

la technique de production, de conservation ainsi que des conditions dans lesquelles ils sont utilisés^{157,158}. Les polymères biodégradables peuvent être répertoriés en deux catégories selon leur provenance¹⁵² (Schéma 8) :

- Les biopolymères : des monomères naturels (acide lactique par exemple) venant de la fermentation bactérienne ou des monomères synthétiques issus de la pétrochimie sont utilisés pour avoir des polymères synthétiques biodégradables¹⁵⁹. Ceux-ci comportent soit des fonctions hydrolysables comme des esters, des amides, des uréthanes, soit des chaînes carbonées dans lesquelles ont été incorporés des additifs oxydants. On utilise généralement la polymérisation par condensation ou par addition pour les obtenir même si la polymérisation radicalaire, qui conduit rarement à des polymères dégradables, a été notamment rapportée¹⁶⁰.
- Les polymères biosourcés : ce groupe est celui des polymères biodégradables obtenus à partir de ressources renouvelables qu'ils soient végétaux ou animaux. La biomasse fournit une majorité d'entre eux comme les polysaccharides, la cellulose ou des protéines comme le gluten ou la caséine. Des polyhydroxy-alkanoates (PHA) tels que les poly(hydroxybutyrate) (PHB), les poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalérate) (PHBV), sont produits par fermentation de microorganismes dans des conditions environnementales et nutritionnelles contrôlées¹⁶¹.

¹⁵⁷ Vroman, I.; Tighzert, L. *Materials (Basel)*. **2009**, 2 (2), 307–344.

¹⁵⁸ Lucas, N.; Bienaime, C.; Belloy, C.; Queneudec, M.; Silvestre, F.; Nava-Saucedo, J. E. *Chemosphere* **2008**, 73 (4), 429–442.

¹⁵⁹ Gunatillake, P.; Mayadunne, R.; Adhikari, R. *Biotechnol. Annu. Rev.* **2006**, 12, 301–347.

¹⁶⁰ Paulusse, J. M. J.; Amir, R. J.; Evans, R. A.; Hawker, C. J. J. *Am. Chem. Soc.* **2009**, 131 (28), 9805–9812.

¹⁶¹ Madison, L. L.; Huisman, G. W. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **1999**, 63 (1), 21–53.

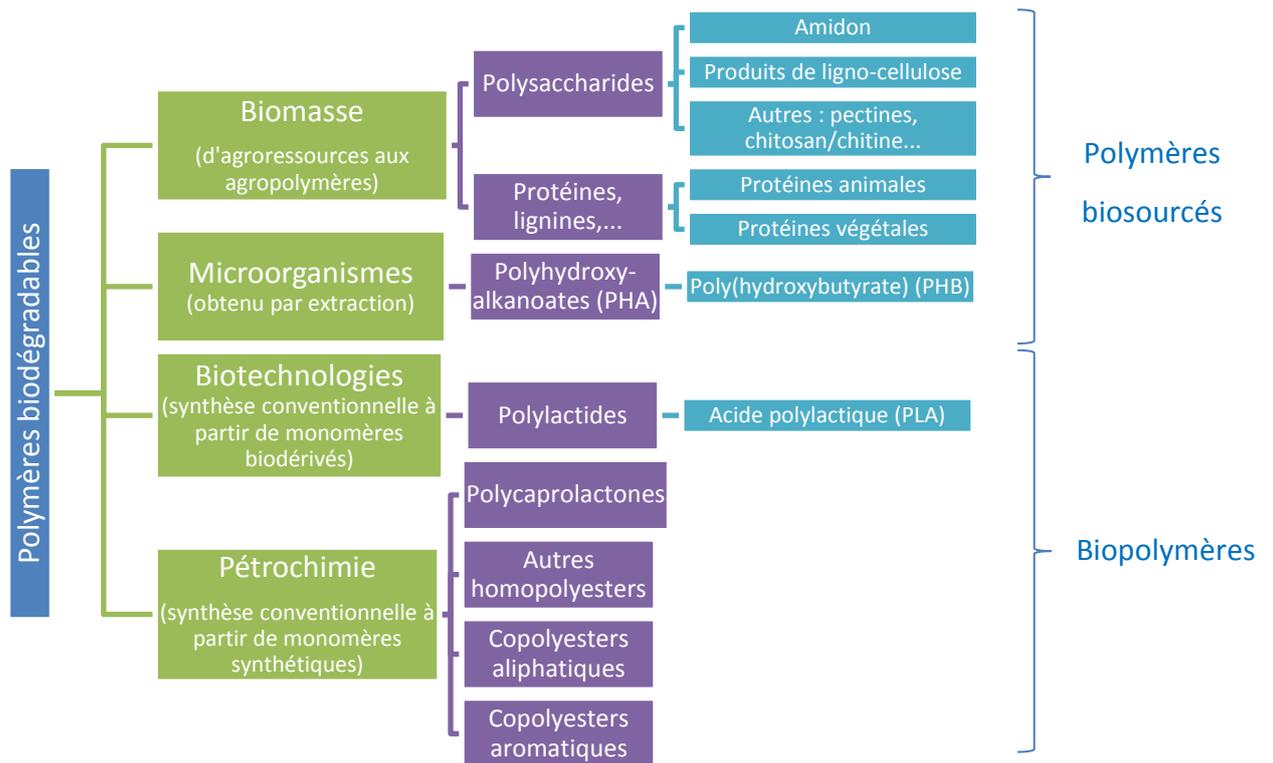


Schéma 8 : Classification des principaux polymères biodégradables (schéma adapté¹⁵²).

A l'heure actuelle, les polymères biodégradables sont utilisés dans différentes applications et sont confrontés à une demande croissante pour de nouvelles fonctionnalités dans les domaines biomédical et clinique. En effet, les biomatériaux à visée médicale doivent respecter des règles strictes concernant leur biocompatibilité tout en ayant les propriétés morphologiques et mécaniques adaptées à l'ingénierie du corps humain. Les procédés de libération de principes actifs doivent être dotés de propriétés leur permettant d'interagir avec l'environnement biologique afférent (pH, température...). Ce type de polymère peut être obtenu par le contrôle de sa dégradation ou par la modification fonctionnelle des monomères ou du polymère. C'est dans cet objectif que s'inscrivent tout particulièrement les polymères à empreintes moléculaires qui sont biodégradables, biocompatibles et possédant une bonne reconnaissance spécifique à l'égard d'une molécule cible donnée.

III.2 Polymères à empreintes moléculaires biodégradables

Récemment, la synthèse de polymères imprimés biodégradables a été développée et plusieurs groupes se sont penchés sur la mise au point de matériaux biocompatibles pour des applications médicales diverses comme la libération contrôlée de principes actifs. Différents monomères fonctionnels et agents réticulants issus de différentes sources (pétrochimie, biotechnologie, microorganismes et biomasse) ont été utilisés tels quels ou suite à une modification indispensable de leur structure chimique afin de leur octroyer une biodégradabilité. Mais malgré leur potentiel, on ne trouve dans la littérature que quelques exemples d'utilisations de ces matériaux biodégradables comme substitut à ceux qui sont synthétiques ou inorganiques, bien que la notion de bioimpression ait été rapportée depuis de nombreuses années¹⁶². Dans les prochaines lignes, nous allons passer en revue quelques exemples de polymères imprimés biodégradables et nous discuterons de leurs avantages et de leurs limites.

III.2.1 Polymères imprimés à base de réactifs issus de la pétrochimie

En pétrochimie, la synthèse des polymères biodégradables est basée sur la modification de monomères synthétiques. Un exemple d'emploi de ce type de composés a été décrit en 2007 par le groupe de Kim où il utilisait la poly(ϵ -caprolactone) pour préparer un agent réticulant^{163,164}. La poly(ϵ -caprolactone) est un polymère biocompatible¹⁶⁵ et biodégradable faisant partie des polyesters. Il est obtenu par condensation après ouverture, en présence d'un alcoolate^{166,167}, de l' ϵ -caprolactone (obtenue industriellement par réaction de Baeyer-Villiger sur le cyclohexanone¹⁶⁸) (Schéma 9).

¹⁶² Staahl, M.; Jeppsson-Wistrand, U.; Maansson, M. O.; Mosbach, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113* (24), 9366–9368.

¹⁶³ Lee, K. S.; Kim, D. S.; Kim, B. S. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **2007**, *12* (2), 152–156.

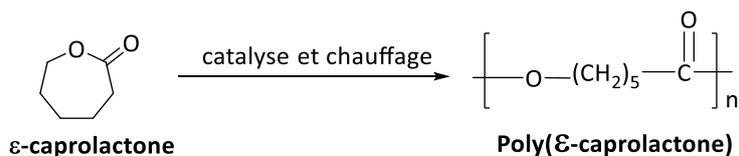
¹⁶⁴ Kim, S. H.; Lee, K. S.; Kim, Y. H.; Choi, W. J.; Kim, B. S.; Kim, E. K.; Kim, D. S. *Polym.* **2007**, *31* (2), 153–159.

¹⁶⁵ Kweon, H.; Yoo, M. K.; Park, I. K.; Kim, T. H.; Lee, H. C.; Lee, H. S.; Oh, J. S.; Akaike, T.; Cho, C. S. *Biomaterials* **2003**, *24* (5), 801–808.

¹⁶⁶ Albertsson, A.-C.; Varma, I. K. In *Degradable Aliphatic Polyesters*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2002**; pp 1–40.

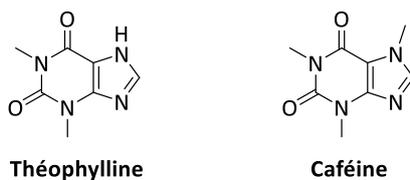
¹⁶⁷ Okada, M. *Prog. Polym. Sci.* **2002**, *27* (1), 87–133.

¹⁶⁸ ten Brink, G.-J.; Arends, I. W. C. E.; Sheldon, R. A. *Chem. Rev.* **2004**, *104* (9), 4105–4124.



[Schéma 9](#) : Synthèse de la poly(ϵ -caprolactone) à partir de l' ϵ -caprolactone.

Dans cette étude, les auteurs ont présenté pour la première fois un polymère imprimé de poly(ϵ -caprolactone) ciblant la théophylline, qui est un alcaloïde de type méthylxanthine comme la caféine et utilisé pour des traitements de maladies respiratoires ([Figure 7](#)). La poly(ϵ -caprolactone) a été préalablement fonctionnalisée en bout de chaînes par deux fonctions polymérisables de type acrylate avant d'être photopolymérisée dans le benzène en présence d'acide acrylique comme monomère fonctionnel et de la théophylline. Le polymère imprimé est ainsi obtenu réticulé.



[Figure 7](#) : Structures chimiques de la théophylline et de la caféine.

Bien que le matériau montre une meilleure reconnaissance que le polymère non imprimé (polymère de contrôle synthétisé dans les mêmes conditions, mais sans théophylline) et une meilleure sélectivité pour cette cible que pour la caféine, il présente plusieurs points négatifs. En effet, sa synthèse utilise le benzène, solvant organique reconnu comme cancérigène¹⁶⁹ et génotoxique¹⁷⁰ et les tests de biodégradabilité ont été effectués *in vitro* dans des conditions éloignées des paramètres physiologiques. De plus, alors que des enzymes et des *fungi* dégradent facilement la poly(ϵ -caprolactone)^{171,172}, seule une dégradation chimique a été réalisée sur ce polymère et les produits de dégradations n'ont pas été caractérisés.

¹⁶⁹ Scheiner, S.; Szczesniak, M. M. *Prog. Clin. Biol. Res.* **1985**, 172B, 53–63.

¹⁷⁰ Eastmond, D. A.; Rupa, D. S.; Hasegawa, L. S. *Mutat. Res. Toxicol.* **1994**, 322 (1), 9–20.

¹⁷¹ Tokiwa, Y; Suzuki, T.; Tokiwa, Y.; Suzuki, T. *Nature* **1977**, 270 (5632), 76–78.

¹⁷² Chandra, R. *Prog. Polym. Sci.* **1998**, 23 (7), 1273–1335.

III.2.2 Polymères imprimés à base de réactifs issus de la biotechnologie

En 2013, l'équipe de Kim a aussi décrit un polymère imprimé basé sur l'acide polylactique¹⁷³, synthétisé à partir d'acide lactique et pouvant être obtenu par fermentation bactérienne ou chimiquement^{174,175}. La préparation du matériau sélectif repose sur la photopolymérisation dans le chloroforme d'une solution composée d'acide méthacrylique, de théophylline et d'un agent réticulant polymérique biodégradable. Le réticulant est formé par la copolymérisation de l'acide polylactique et du polyéthylène glycol, utilisé comme espaceur biocompatible, non toxique et immunogène (Schéma 10). Le polymère imprimé a montré une bonne sélectivité envers la théophylline par rapport à la caféine et un meilleur taux de reconnaissance par rapport au polymère non imprimé, mais malgré ces bons résultats, des études sur sa biodégradabilité n'ont pas été réalisées, les auteurs estimant que le polymère serait dégradé étant donné que l'agent réticulant utilisé est supposé l'être déjà.

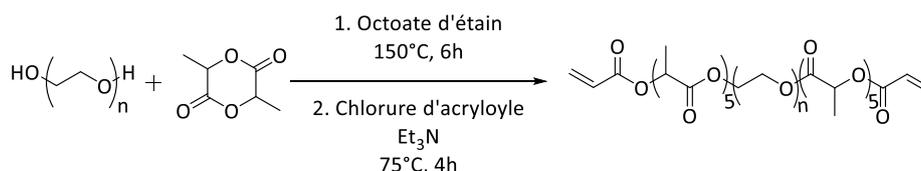


Schéma 10 : Synthèse du copolymère PLA-PEG-PLA à partir de PEG et de D,L-lactide.

III.2.3 Polymères imprimés à base d'un polymère issu des microorganismes

Spécialisé dans la synthèse de polymères imprimés biodégradables, le groupe de Kim a utilisé un agent réticulant biodégradable issu d'une copolymérisation du 1,4-butanediol et de la poly(3-hydroxybutyrate) (PHB)¹⁷⁶, polyester thermoplastique produit par des microorganismes, et ayant quelques propriétés mécaniques analogues aux polyesters synthétiques comme le PLA¹⁷⁷ (Schéma 11). L'agent réticulant a été utilisé lors de la photopolymérisation de l'acide méthacrylique pour cibler la théophylline. Le matériau obtenu a montré une plus forte affinité pour cette dernière que celle évaluée pour le

¹⁷³ Jang, H.; Kim, B. S. *Macromol. Res.* **2013**, 21 (4), 370–375.

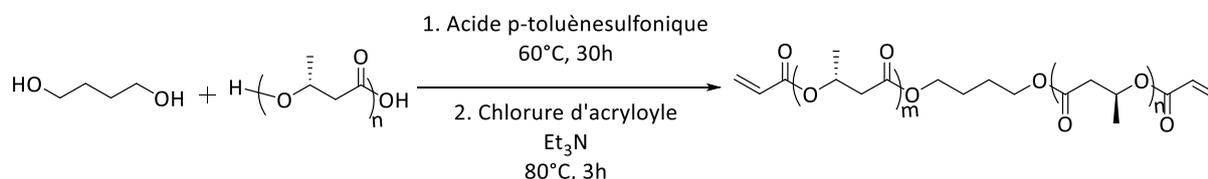
¹⁷⁴ Wee, Y.; Kim, J.; Ryu, H. *Food Technol. Biotechnol.* **2006**, 44 (2), 163–172.

¹⁷⁵ Ghaffar, T.; Irshad, M.; Anwar, Z.; Aqil, T.; Zulfiqar, Z.; Tariq, A.; Kamran, M.; Ehsan, N.; Mehmood, S. J. *Radiat. Res. Appl. Sci.* **2014**, 7 (2), 222–229.

¹⁷⁶ Oh, W.-G.; Kim, B. S. *Macromol. Symp.* **2007**, 249–250 (1), 76–80.

¹⁷⁷ Hsieh, W. C.; Wada, Y.; Chang, C. P. J. *Taiwan Inst. Chem. Eng.* **2009**, 40 (2), 143–147.

polymère non imprimé correspondant ou à celles publiées dans la littérature à partir d'autres polymères imprimés spécifiques à la théophylline. Cependant, comme pour les tests de biodégradabilité effectués sur le polymère imprimé à base de poly(ϵ -caprolactone), la dégradation s'est limitée aux dégradations chimiques.



[Schéma 11](#) : Synthèse du copolymère à partir de PHB et de 1,4-butanediol.

III.2.4 Polymères imprimés à base de polymères issus de la biomasse

Véritable vivier de matières renouvelables, la biomasse fournit plusieurs classes de molécules naturelles, comme les sucres (mono- di- et polysaccharides), les protéines, les lignines, utilisables comme briques élémentaires pour la construction de polymères à empreintes moléculaires biodégradables. Parmi ces ressources naturelles et renouvelables, les sucres font office d'unités de polymérisation de choix en raison de leur abondance dans la biosphère et de leur structure faite de liaisons glycosidiques permettant d'envisager des dégradations enzymatiques en libérant des substances non nocives. Plusieurs sortes de polymères imprimés ont été développées dans la littérature basée sur des mono-, disaccharides et essentiellement sur des polysaccharides comme le chitosane, la cellulose, l'amylose, ou les cyclodextrines.

III.2.4.1 Polymères imprimés à base de mono- et disaccharides fonctionnalisés

En 1999, Dordick a décrit la première utilisation de mono- et disaccharides comme source pour l'obtention de polymères imprimés employés pour la résolution de molécules chirales dérivées d'acides aminés¹⁷⁸. Bien que la notion de biodégradabilité n'apparaisse pas dans ses objectifs, il a utilisé le α -D-glucopyranoside de méthyle et le saccharose préalablement fonctionnalisés par des acrylates en présence de lipases ou de protéases comme monomères fonctionnels ([Schéma 12](#)). Les monomères sont ensuite polymérisés en

¹⁷⁸ Liu, X. C.; Dordick, J. S. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **1999**, 37 (11), 1665–1671.

présence de *N,N'*-méthylènebisacrylamide comme agent réticulant dans le diméthylformamide pour former des hydrogels imprimés.

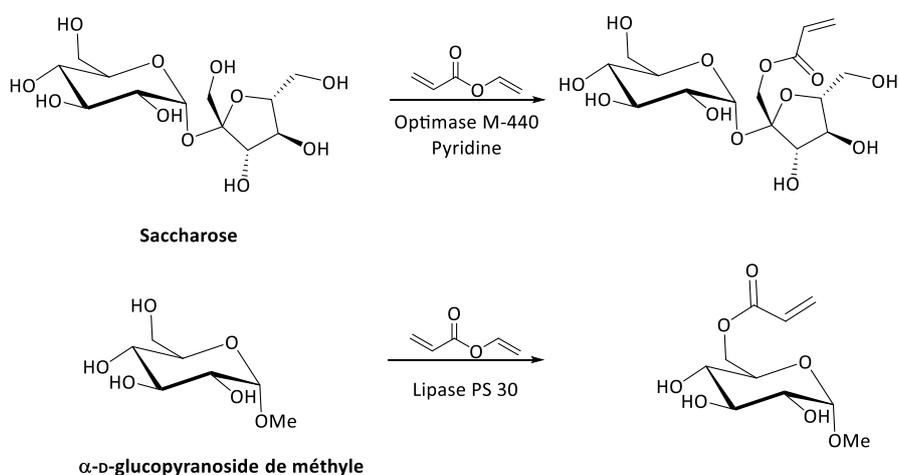


Schéma 12 : Fonctionnalisation du saccharose et du α -D-glucopyranoside de méthyle par estérification enzymatique avec l'acrylate de vinyle.

Récemment, un autre groupe a élaboré sur la même idée un agent réticulant acrylate à partir de fructose (**Schéma 13**) pour la préparation d'un système de libération contrôlée vectorisée magnétiquement et non toxique¹⁷⁹. La synthèse du matériau se base sur une méthode de coprécipitation où sont mises en jeu des nanoparticules de fer et de silice, le fructose fonctionnalisé faisant office d'agent réticulant et de monomère fonctionnel. La cible est l'olanzapine (**Schéma 13**), médicament utilisé contre la schizophrénie et les troubles bipolaires. Les auteurs ont misé sur la tendance des cellules du cerveau à consommer le fructose, lorsqu'il est plus abondant que le glucose¹⁸⁰, afin de libérer le médicament par biodégradation du polymère imprimé. Les résultats cytotoxiques et de dégradation *in vitro* sont concluants, mais étant donné la complexité des systèmes biologiques, une étude *in vivo* aurait permis de consolider complètement ce système de vectorisation comme une vraie alternative aux systèmes actuels.

¹⁷⁹ Asadi, E.; Abdouss, M.; Leblanc, R. M.; Ezzati, N.; Wilson, J. N.; Kordestani, D. *Polymer (Guildf)*. **2016**, *97*, 226–237.

¹⁸⁰ Thurston, J. H.; Levy, C. A.; Warren, S. K.; Jones, E. M. *J. Neurochem.* **1972**, *19* (7), 1685–1696.

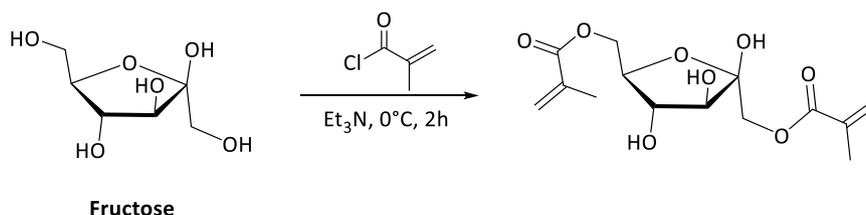


Schéma 13 : Synthèse de l'agent réticulant à partir du fructose.

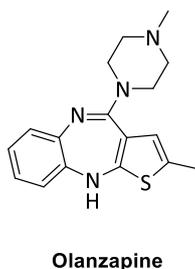


Figure 8 : Structure chimique de l'olanzapine.

Dans une autre publication, le même groupe a confectionné un nouveau vecteur d'un anticancéreux, le 5-fluorouracile, basé sur un polymère obtenu par impression moléculaire avec un agent réticulant dérivé de l'acide tannique¹⁸¹. Extrait essentiellement de microorganismes ou de plantes, ce polyphénol contenant du glucose est commercialement accessible, biodégradable et biocompatible et a donc été naturellement choisi pour la confection de biomatériaux. Dans des conditions physiologiques de libération contrôlée *in vitro*, le polymère imprimé délivre lentement le médicament, exigeance préalable pour en faire un traitement contre le cancer, se dégrade dans des milieux régulés à 37 °C et tamponnés à pH 3 (estomac), 7.4 (environnement physiologique) et pH 11 (rein et intestin), mais présentent les mêmes limites que le polymère imprimé à base de fructose.

III.2.4.2 Utilisation de polysaccharides dans la synthèse de polymères imprimés

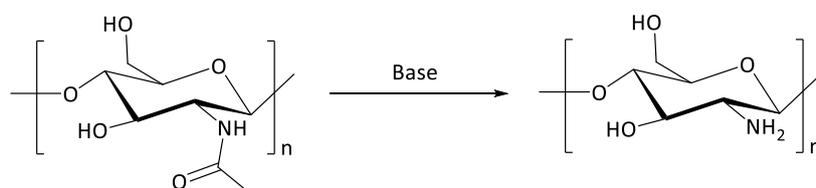
III.2.4.2.1 Chitosane

Amino-polysaccharide naturel provenant de la chitine (Schéma 14), biodégradable, biocompatible et non toxique, le chitosane est considéré comme l'un des biopolymères les

¹⁸¹ Asadi, E.; Abdouss, M.; Leblanc, R. M.; Ezzati, N.; Wilson, J. N.; Azodi-Deilami, S. *RSC Adv.* **2016**, *6* (43), 37308–37318.

plus prometteurs pour des applications médicales^{182,183}. L'abondance des différentes fonctions chimiques (amine, hydroxyle) dans sa structure lui donne plusieurs atouts :

- La protonation du groupe amine à un pH très acide permet de faciliter l'absorption de métaux lourds (comme l'uranium¹⁸⁴, le chrome¹⁸⁵, l'arsenic¹⁸⁶ ou le cobalt¹⁸⁷), de protéines¹⁸⁸ et de molécules fluorescentes¹⁸⁹.
- Grâce à ses amines et ses hydroxyles, le chitosane peut être décliné en agent réticulant ou en monomère fonctionnel par réaction avec le glyoxal¹⁹⁰ l'épichlorohydrine^{191,192}, le glutaraldéhyde^{193,194}, ou les dérivés acrylates¹⁹⁵.
- De plus, ses propriétés physiques moins appropriées et le faible degré de gonflement en milieu aqueux¹⁹⁶ sont compensés par l'hydrolyse possible des liaisons glycosidiques du chitosane permettant sa dissolution¹⁸².



[Schéma 14](#) : Réaction de désacétylation de la chitine pour obtenir le chitosane.

Cependant, bien que le chitosane s'accommode de tous ces avantages, la synthèse de polymère imprimé à base de ce biopolymère pour des applications médicales et pour une administration *in vivo* de médicaments pâtit encore d'un faible intérêt notamment à cause

¹⁸² Xu, L.; Huang, Y.-A.; Zhu, Q.-J.; Ye, C. *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16* (8), 18328–18347.

¹⁸³ Li, F.; Li, J.; Zhang, S. *Talanta* **2008**, *74* (5), 1247–1255.

¹⁸⁴ Wang, J. S.; Peng, R. T.; Yang, J. H.; He, Q. H.; Liu, Y. J. In Proceedings - International Conference on Computer Distributed Control and Intelligent Environmental Monitoring, CDCIEM 2011; IEEE, **2011**; pp 1714–1717.

¹⁸⁵ Liu, Y. Q.; Liu, Y. G.; Hu, X. J.; Guo, Y. M. *Trans. Nonferrous Met. Soc. China (English Ed.)* **2013**, *23* (10), 3095–3103.

¹⁸⁶ Liu, B.; Wang, D.; Li, H.; Xu, Y.; Zhang, L. *Desalination* **2011**, *272* (1–3), 286–292.

¹⁸⁷ Nishad, P. A.; Bhaskarapillai, A.; Velmurugan, S.; Narasimhan, S. V. *Carbohydr. Polym.* **2012**, *87* (4), 2690–2696.

¹⁸⁸ Guo, T.-Y.; Xia, Y.-Q.; Wang, J.; Song, M.-D.; Zhang, B.-H. *Biomaterials* **2005**, *26* (28), 5737–5745.

¹⁸⁹ Kyzas, G. Z.; Lazaridis, N. K.; Bikiaris, D. N. *Carbohydr. Polym.* **2013**, *91* (1), 198–208.

¹⁹⁰ Monier, M.; Ayad, D. M.; Wei, Y.; Sarhan, A. A. *Biochem. Eng. J.* **2010**, *51* (3), 140–146.

¹⁹¹ Wang, Y.; Wang, E. L.; Wu, Z. M.; Li, H.; Zhu, Z.; Zhu, X. S.; Dong, Y. *Carbohydr. Polym.* **2014**, *101* (1), 517–523.

¹⁹² Guo, T.-Y.; Xia, Y.-Q.; Wang, J.; Song, M.-D.; Zhang, B.-H. *Biomaterials* **2005**, *26* (28), 5737–5745.

¹⁹³ Liping, W.; Weihua, W.; Qian, L.; Qian, Z.; Yong, W.; Wei, L.; Zhengpu, Z. *Macromol. Symp.* **2010**, *297* (1), 179–187.

¹⁹⁴ Monier, M.; El-Sokkary, A. M. A. *Int. J. Biol. Macromol.* **2010**, *47* (2), 207–213.

¹⁹⁵ Dan, R.; Wang, Y.; Du, L.; Du, S.; Huang, M.; Yang, S.; Zhang, M. *Analyst* **2013**, *138* (12), 3433–3443.

¹⁹⁶ Chen, J. H.; Liu, Q. L.; Zhang, X. H.; Zhang, Q. G. *J. Memb. Sci.* **2007**, *292* (1–2), 125–132.

de son prix onéreux, malgré son utilisation intensive dans les domaines de la séparation, de la détection et des biocapteurs.

III.2.4.2.2 Autres polysaccharides

Dans la littérature, l'utilisation d'autres polysaccharides sous forme d'agent réticulant ou de monomère fonctionnel pour la confection de polymères imprimés biodégradables a été très peu rapportée. Seuls quelques travaux effectués par exemple sur l'amylose par le groupe de Tao^{197,198} et sur le glucomannane de konjac par Tian¹⁹⁹, ont permis de décrire des matériaux sélectifs applicables dans les applications médicales. Dans le premier cas, l'amylose, polymère de glucose dégradable physiologiquement par l'amylose, apporte sa caractéristique physique de former de manière naturelle des structures hélices²⁰⁰, permettant d'encapsuler une molécule cible hydrophobe grâce aux interactions hydrophobes. Dans le second cas, le glucomannane de konjac est un polysaccharide hydrosoluble composé de D-mannose et de D-glucose à un ratio d'environ 1:1.6 et ayant de bonnes propriétés de gélification. Un polymère imprimé pour la séparation de la caféine a été synthétisé par Tian en utilisant un copolymère de ce polysaccharide et d'acide acrylique comme monomère fonctionnel¹⁹⁹. Cependant, peu ou pas d'étude de dégradation de ces polymères imprimés n'a été décrite par leurs auteurs.

III.2.4.3 Utilisation d'oligosaccharides dans la synthèse de polymères imprimés :

Cas des cyclodextrines

Faisant partie de la famille des oligosaccharides, les cyclodextrines sont des molécules dites "cages" capables d'encapsuler des composés par l'intermédiaire de leur structure spécifique comportant une cavité hydrophobe et une surface extérieure hydrophile. On distingue trois types de cyclodextrines produites par dégradation enzymatique de l'amidon²⁰¹ (Figure 9) : les α -, β -, et γ -cyclodextrines constituées respectivement de 6, 7 et 8 unités d' α -D-glucose. Les propriétés physiques et chimiques de

¹⁹⁷ Kanekiyo, Y.; Naganawa, R.; Tao, H. *Chem. Commun.* **2002**, 132 (22), 2698–2699.

¹⁹⁸ Kanekiyo, Y.; Naganawa, R.; Tao, H. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2003**, 42 (26), 3014–3016.

¹⁹⁹ Tian, D.-T.; Zhou, Y.-C.; Xiong, L.; Lu, F.-T. *Adv. Polym. Technol.* **2015**, 21575.

²⁰⁰ Hui, Y.; Zou, W. In *Frontiers in Supramolecular Organic Chemistry and photochemistry*; Schneider, H.-J., Duerr, H., Eds.; **1993**; p 203.

²⁰¹ Lay, S.; Ni, X.; Yu, H.; Shen, S. *J. Sep. Sci.* **2016**, 39 (12), 2321–2331.

ces oligosaccharides cycliques ont conduit à leur exploitation dans les séparations chirales, les systèmes de libération contrôlée et les industries agroalimentaires et pharmaceutiques²⁰²

203

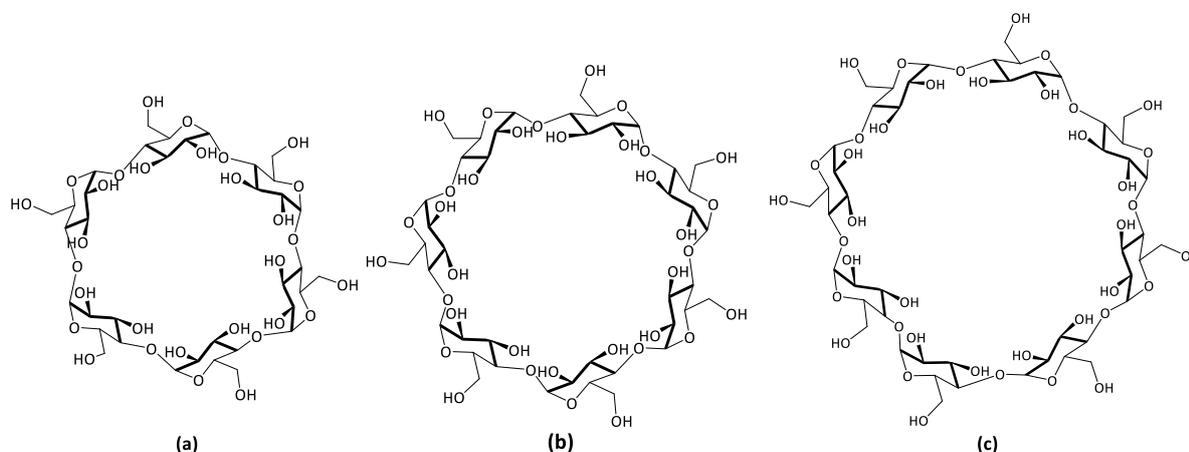


Figure 9 : Structures chimiques des différentes cyclodextrines, (a) α-CD ; (b) β-CD ; (c) γ-CD.

En impression moléculaire, la β-cyclodextrine, bien qu'elle soit moins hydrosoluble que les deux autres cyclodextrines, a été la plus étudiée, car sa structure chimique a les meilleures propriétés requises pour des applications séparatives²⁰¹. Dans la majorité des applications rapportées, cette cyclodextrine est utilisée sous forme de monomère fonctionnel simple (1 cyclodextrine) ou binaire (2 cyclodextrines) et fonctionnalisée par des acrylates. Par ailleurs, les interactions hydrophobes sont mises à profit lors de l'étape de complexation de la molécule cible grâce à la faculté des cyclodextrines à pouvoir former des complexes d'inclusion par le biais de leur cavité hydrophobe. Des polymères imprimés axés sur la reconnaissance de molécules aromatiques comme le tryptophane²⁰⁴ ont pu être conçus par cette approche non covalente même si, d'autres travaux moins nombreux, ont décrit l'impression covalente de molécules hydrophobes²⁰⁵. De manière générale, la β-cyclodextrine et ses dérivés ont permis d'imprimer dans des milieux aqueux ou hydrophiles diverses molécules chimiques et biologiques comme des stéroïdes^{206,207}, des principes actifs

²⁰² Hu, Q. Da; Tang, G. P.; Chu, P. K. *Acc. Chem. Res.* **2014**, 47 (7), 2017–2025.

²⁰³ Li, Z.; Chen, S.; Gu, Z.; Chen, J.; Wu, J. *Trends Food Sci. Technol.* **2014**, 35 (2), 151–160.

²⁰⁴ Qin, L.; He, X.-W.; Li, W.-Y.; Zhang, Y.-K. *J. Chromatogr. A* **2008**, 1187 (1–2), 94–102.

²⁰⁵ Zhong, N.; Byun, H.-S.; Bittman, R. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42 (10), 1839–1841.

²⁰⁶ Cheng, Y.; Jiang, P.; Lin, S.; Li, Y.; Dong, X. *Sensors Actuators B Chem.* **2014**, 193, 838–843.

²⁰⁷ Davidson, L.; Hayes, W. *Curr. Org. Chem.* **2002**, 6 (3), 265–281.

pharmaceutiques²⁰⁸, des hormones végétales²⁰⁹, des protéines²¹⁰, des herbicides²¹¹, des pesticides²¹², des produits de synthèse²¹³, des sucres²¹⁴ et des acides aminés²¹⁵.

L'impression de biomacromolécules n'est pas simple à réaliser. Ces molécules biologiquement actives présentent une conformation complexe, un risque de dénaturation en milieu organique et une diffusion lente, rendant leur reconnaissance moins efficace par les polymères imprimés¹³². De plus, cette reconnaissance est aussi limitée par les interférences présentes dans un milieu complexe comportant plusieurs analytes. Ces inconvénients, additionnés aux non-biodégradabilité et non-biocompatibilité des dérivés de cyanates, d'acrylates ou d'épichlorohydrine utilisés comme agents réticulants²⁰¹, incarnent les principales limitations qui rendent les polymères à empreintes moléculaires à base de cyclodextrines absentes des applications cliniques, et ce malgré la sélectivité qu'ils ont démontrée. Pour surmonter ces problèmes, des membranes à empreintes moléculaires ont été reportées dans la littérature comme une alternative aux autres formats de polymères à empreintes moléculaires existants (blocs, micro- et nanosphères).

III.2.4.4 Membranes à empreintes moléculaires

Fortes d'un intérêt de plus en plus croissant depuis une vingtaine d'années (Figure 10), les membranes à empreintes moléculaires sont utilisées pour la séparation et la détection d'une multitude de composés variés allant des ions métalliques²¹⁶ et des molécules de synthèse (principes actifs pharmaceutiques²¹⁷, herbicides et pesticides²¹⁸,

²⁰⁸ Zhao, K. K.; Zhang, W.; Zhang, H. D.; Du, H.; Li, Q.; Wang, S. Y.; Wang, Y. *Asian J. Chem.* **2015**, *27* (4), 1435–1438.

²⁰⁹ Zhang, Y.; Li, Y.; Hu, Y.; Li, G.; Chen, Y. *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217* (47), 7337–7344.

²¹⁰ Zhang, W.; Qin, L.; Chen, R. R.; He, X. W.; Li, W. Y.; Zhang, Y. K. *Appl. Surf. Sci.* **2010**, *256* (9), 3000–3005.

²¹¹ Surikumaran, H.; Mohamad, S.; Sarih, N. M. *Int. J. Mol. Sci.* **2014**, *15* (4), 6111–6136.

²¹² Xu, Z. F.; Wen, G.; Kuang, D. Z.; Zhang, F. X.; Tang, S. P. *J. Environ. Sci. Heal. Part B -- Pestic. Food Contam. Agric. Wastes* **2013**, *48* (5), 336–343.

²¹³ Yongfeng, K.; Wuping, D.; Yan, L.; Junxia, K.; Jing, X. *Carbohydr. Polym.* **2012**, *88* (2), 459–464.

²¹⁴ Tang, W.; Du, W.; Guo, P.; Wu, N.; Du, K.; Xu, C.; Luo, Z.; Chang, R.; Zeng, A.; Jing, W.; Chang, C.; Li, J.; Fu, Q. *J. Chromatogr. Sci.* **2016**.

²¹⁵ Liu, X.-Y.; Fang, H.-X.; Yu, L.-P. *Talanta* **2013**, *116*, 283–289.

²¹⁶ He, J.; Liu, A.; Paul Chen, J. *J. Colloid Interface Sci.* **2015**, *439*, 162–169.

²¹⁷ Wu, Y.; Meng, M.; Liu, X.; Li, C.; Zhang, M.; Ji, Y.; Sun, F.; He, Z.; Yan, Y. *Sep. Purif. Technol.* **2014**, *131*, 117–125.

²¹⁸ Shi, C.; Liu, X.; Song, L.; Qiao, X.; Xu, Z. *Food Anal. Methods* **2015**, *8* (10), 2496–2503.

polluants organiques²¹⁹) aux molécules naturelles (anticorps²²⁰, protéines²²¹, nucléotide²²², acides aminés²²³, vitamines²²⁴, hormones²²⁵, stéroïdes²²⁶).

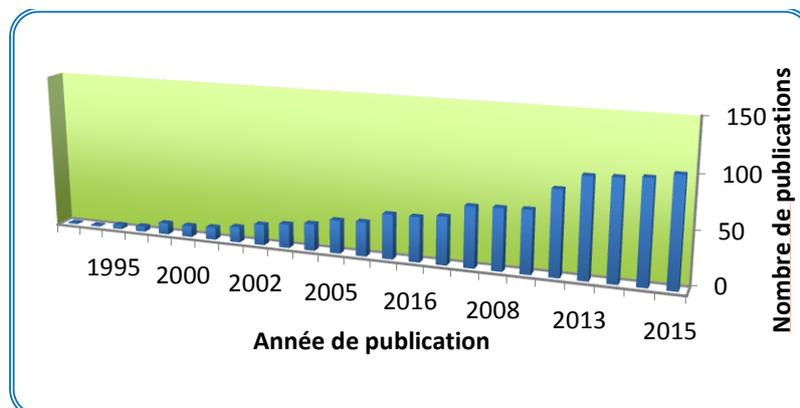


Figure 10 : Evolution du nombre de publications sur les membranes à empreintes moléculaires entre 1990 et 2015 (données Scifinder® au 10 juillet 2016).

En 1995, Kobayashi et *coll.*²²⁷ ont introduit une technique dite d'inversion de phase pour la synthèse de membranes imprimées, dont la mise en œuvre est simple et reprise par plusieurs autres groupes^{228,229,230,231}. Cette technique se base sur une solution organique de polymère et de molécule cible étalée sur une plaque de verre et qui coagule lorsqu'elle est plongée dans un autre solvant. Une élution de la molécule cible par lavages successifs avec un solvant approprié permet enfin de libérer les sites de reconnaissance. D'autres techniques élaborées pour la synthèse de membranes imprimées ont aussi été décrites dans

²¹⁹ Donato, L.; Tasselli, F.; De Luca, G.; Garcia Del Blanco, S.; Drioli, E. *Sep. Purif. Technol.* **2013**, *116*, 184–191.

²²⁰ Yin, D.; Ulbricht, M. *Biomacromolecules* **2013**, *14* (12), 4489–4496.

²²¹ Zhao, K.; Lin, B.; Cui, W.; Feng, L.; Chen, T.; Wei, J. *Talanta* **2014**, *121*, 256–262.

²²² Yang, M.; Liao, L.; Zhang, G.; Xiao, X.; Lin, Y.; Nie, C. *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, *405* (23), 7545–7551.

²²³ Zhou, Z.; He, L.; Mao, Y.; Chai, W.; Ren, Z. *Chem. Eng. J.* **2016** (*in press*).

²²⁴ Faizal, C. K. M.; Kobayashi, T. *Polym. Eng. Sci.* **2008**, *48* (6), 1085–1093.

²²⁵ Rosy; Chasta, H.; Goyal, R. N. *Talanta* **2014**, *125*, 167–173.

²²⁶ Dima, Ş. O.; Dobre, T.; Stoica-Guzun, A.; Oancea, F.; Jinga, S. I.; Nicolae, C. A. *Macromol. Symp.* **2016**, *359* (1), 124–128.

²²⁷ Kobayashi, T.; Wang, H. Y.; Fujii, N. *Chem. Lett.* **1995**, *24* (10), 927–928.

²²⁸ Screenivasulu Reddy, P.; Kobayashi, T.; Abe, M.; Fujii, N. *Eur. Polym. J.* **2002**, *38* (3), 521–529.

²²⁹ Malaisamy, R.; Ulbricht, M. *Sep. Purif. Technol.* **2004**, *39* (3), 211–219.

²³⁰ Ulbricht, M.; Malaisamy, R. *J. Mater. Chem.* **2005**, *15* (14), 1487–1497.

²³¹ Liu, Q.; Zhao, Y.; Pan, J.; Van Der Bruggen, B.; Shen, J. *Sep. Purif. Technol.* **2016**, *164*, 70–80.

la littérature où la solution de polymère et de molécule cible est évaporée²³², gélifiée²³³ ou la membrane est immobilisée sur un support^{234,235}.

Les membranes imprimées présentent des avantages liés à leur structure et à leurs méthodes d'impression :

- Les biomacromolécules peuvent être imprimées facilement en milieu aqueux et dans des conditions plus douces (pression et température).
- Elles présentent une meilleure efficacité grâce à la disponibilité immédiate des sites de reconnaissance contrairement aux polymères à empreintes usuels dans lesquels ces mêmes sites sont enfouis au cœur de la structure polymérique.

La majorité des membranes à empreintes moléculaires a été faite à partir de monomères ou de polymères synthétiques dérivés de la pétrochimie²³⁶, mais des exemples ont été rapportés où des matrices polymériques biosourcées, biodégradables et biocompatibles comme le chitosane²³¹, la cellulose et ses dérivés^{237,238}, l'agarose²³³, le dextrane²³⁹, le coton²⁴⁰ et plus récemment la β -cyclodextrine²⁴¹, ont été utilisées.

²³² Huang, C. Y.; Tsai, T. C.; Thomas, J. L.; Lee, M. H.; Liu, B. Da; Lin, H. Y. *Biosens. Bioelectron.* **2009**, *24* (8), 2611–2617.

²³³ Lin, Y.; Tang, S.; Mao, X.; Bao, L. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A* **2008**, *85* (3), 573–581.

²³⁴ Ceolin, G.; Navarro-Villoslada, F.; Moreno-Bondi, M. C.; Horvai, G.; Horvath, V. *J. Comb. Chem.* **2009**, *11* (4), 645–652.

²³⁵ Sueyoshi, Y.; Fukushima, C.; Yoshikawa, M. *J. Memb. Sci.* **2010**, *357* (1–2), 90–97.

²³⁶ Trotta, F.; Biasizzo, M.; Caldera, F. *Membranes (Basel)*. **2012**, *2* (3), 440–477.

²³⁷ Tamahkar, E.; Kutsal, T.; Denizli, A. *Process Biochem.* **2015**, *50* (12), 2289–2297.

²³⁸ Dima, Ş.-O.; Dobre, T.; Stoica-Guzun, A.; Oancea, F.; Jinga, S.-I.; Nicolae, C.-A. *Macromol. Symp.* **2016**, *359* (1), 124–128.

²³⁹ Silvestri, D.; Barbani, N.; Cristallini, C.; Giusti, P.; Ciardelli, G. *J. Memb. Sci.* **2006**, *282* (1–2), 284–295.

²⁴⁰ Monier, M.; Kenawy, I. M.; Hashem, M. A. *Carbohydr. Polym.* **2014**, *106*, 49–59.

²⁴¹ Cheng, Y.; Dong, X. *Anal. Methods* **2016**, *8* (29), 5838–5842.

IV. CONCLUSION SUR LE CONTEXTE SCIENTIFIQUE
DES POLYMERES A EMPREINTES
MOLECULAIRES

« Qui comprend invente. »

Louis Scutenaire, écrivain

IV.1 Conclusion

La technologie d'impression moléculaire se révèle être une technique de choix pour créer des sites artificiels de reconnaissance moléculaire ayant une affinité prédéfinie pour une molécule cible donnée. Grâce à leurs sélectivité, spécificité, stabilité chimique et faible coût, les polymères à empreintes moléculaires ont été utilisés dans les domaines de la séparation, de la détection et la quantification. Ils sont maintenant considérés comme des alternatives crédibles pour remplacer les biomolécules (Tableau 3).

	Anticorps	Polymères imprimés
Affinité	$k_d=10^{-7}-10^{-11}M$	$k_d=10^{-5}-10^{-9}M$
Sélectivité	Elevée	<i>Elevée</i>
Hétérogénéité des sites de reconnaissance	non	<i>Elevée</i>
Compatibilité en milieu aqueux	Bonne	<i>Diminution de la reconnaissance</i>
Stabilité	Limitée	<i>Elevée</i>
Réutilisation	Difficile	<i>Oui</i>
Production	Complexe	<i>Relativement simple</i>
Coût	Elevé	<i>Faible</i>

Tableau 3 : Comparaison entre les caractéristiques des anticorps et des polymères imprimés²⁴².

La synthèse de polymères imprimés avec des principes actifs pharmaceutiques ou phytosanitaires, des enzymes, des protéines et des médicaments, montre que ces matériaux s'adaptent à tout type de molécule cible qu'elle soit naturelle ou de synthèse. Parallèlement, le choix rigoureux des composants de polymérisation (monomères fonctionnels, agents réticulants, molécule cible et solvants) et de la méthode de polymérisation (par masse, suspension, précipitation et émulsion) permettent à ces matériaux d'avoir diverses

²⁴² Cutivet, A. Matériaux biomimétiques pour la reconnaissance et l'inhibition d'enzymes obtenus par impression moléculaire, Thèse doctorale, Université de Technologie de Compiègne, **2008**.

propriétés et d'être utilisés dans des applications variées telles que l'extraction sur phase solide, la chromatographie et les biocapteurs.

Cependant, malgré l'essor des matériaux biodégradables et biocompatibles basés sur des polymères naturels ou synthétiques, la technologie d'impression moléculaire peine encore à s'emparer ces biopropriétés qui, pourtant, permettraient de passer du stade du champ d'application biomédical à celui du test clinique. En effet, bien que la littérature montre une multitude d'exemples d'hydrogels compatibles à l'élaboration de nouveaux systèmes de libération contrôlée, le développement de polymères imprimés biodégradables et biocompatibles est limité par l'utilisation encore prépondérante de monomères fonctionnels et d'agents réticulants issus de la pétrochimie d'une part, et par des synthèses nécessitant des solvants organiques et non biocompatibles d'autre part. Le manque d'études sur la dégradation enzymatique *in vitro* et *in vivo* des quelques polymères imprimés rapportés dans la littérature reste également un frein à leur développement clinique malgré les différents avantages apportés.

Par ces observations, il devient alors essentiel de développer des biomatériaux tirant profit des performances de reconnaissance offertes par l'impression moléculaire et dont les propriétés chimiques et physiques permettent d'envisager des applications nécessitant une libération contrôlée des molécules actives.

V. OBJECTIFS ET STRATEGIES DE SYNTHESE

« La nécessité est mère de l'invention. »

Platon

V.1 Problématiques de l'utilisation des polymères à empreintes moléculaires comme vecteurs pour des applications cliniques.

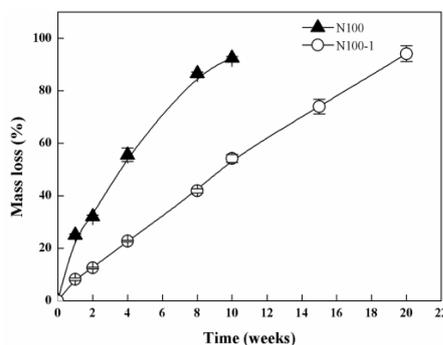
Les polymères à empreintes moléculaires se sont révélés particulièrement efficaces pour de nombreuses applications telles que la chromatographie, les capteurs chimiques, la catalyse et dans le domaine biomédical. La vectorisation des principes actifs est également un domaine prometteur où ils peuvent être utilisés pour la libération contrôlée de principes actifs. L'utilisation de polymères imprimés comme vecteur s'est développée grâce à leurs capacités d'adsorption élevée et de relargage contrôlé, à leur stabilité chimique et à leurs propriétés mécaniques. Bien que des vectorisations de produits cosmétiques, dermatologiques et pour des usages oculaires aient été décrites, les polymères imprimés sont encore sous-utilisés pour des applications cliniques. Le développement des polymères imprimés est freiné par leur faible, voire nulle, biodégradabilité et leur manque de biocompatibilité, dus essentiellement au choix de monomères fonctionnels et agents réticulants.

Par ailleurs, la synthèse de polymères imprimés biodégradables et biocompatibles a été très peu rapportée dans la littérature, à l'exception de quelques exemples de matériaux basés sur des monosaccharides (fructose, saccharose) ou des polysaccharides (chitosane, cellulose). La cellulose et le chitosane, dérivé de la chitine, sont les deux biopolymères les plus abondants de la terre, mais leurs propriétés de solubilité limitent leur utilisation : la cellulose est insoluble en milieu aqueux et le chitosane ne se solubilise qu'en milieu acide.

Ces problématiques nous ont amenés à étudier la synthèse de nouveaux polymères à empreintes moléculaires biodégradables. Les propriétés de biodégradabilité, dépendant de plusieurs caractéristiques, dont le degré de réticulation, seront particulièrement examinées. En effet, la dégradation des chaînes de polymères se trouve généralement plus facile à effectuer sur des chaînes linéaires non réticulées. Tout récemment, cette influence de la réticulation a notamment été rapportée par Gu²⁴³ qui a étudié la dégradation *in vitro* de réseaux réticulés. Dans ces travaux, deux matériaux à base de poly(triméthylène carbonate) (TMC) (un polymère linéaire et un autre réticulé avec le 2,2'-bis(triméthylène carbonate-5-

²⁴³ Yang, L.; Li, J.; Li, M.; Gu, Z. *Polymers (Basel)*. **2016**, *8* (4), 151.

yl)-butyléther (BTB)) sont dégradés avec une lipase à 37 °C et comme attendu, le polymère linéaire de TMC se dégrade plus vite ([Figure 11](#)).



[Figure 11](#) : Perte de masse de polymères de poly(triméthylène carbonate) (TMC) dégradés dans des solutions de lipases à 37 °C. N100 : polymère linéaire ; N100-1 : polymère réticulé²⁴³.

L'axe de recherche a pour objectif la synthèse de nouveaux monomères fonctionnels et agents réticulants facilement clivables pour améliorer la biodégradabilité des polymères imprimés. Les molécules dégradées devant produire des composés biocompatibles, nous avons choisi de les synthétiser à partir de sucres, qui sont des ressources naturelles susceptibles d'être clivées par des glycosidases en milieu physiologique.

V.2 Approche scientifique : synthèse de nouveaux monomères fonctionnels et agents réticulants biodégradables et biocompatibles

Le premier objectif de ce travail de thèse est de développer de nouveaux monomères fonctionnels et agents réticulants supportés par des sucres. Des oligosaccharides seront modifiés sélectivement avec des fonctions polymérisables méthacrylates par des voies de synthèses minimisant le nombre d'étapes de protection-déprotection ([Schéma 15](#)).

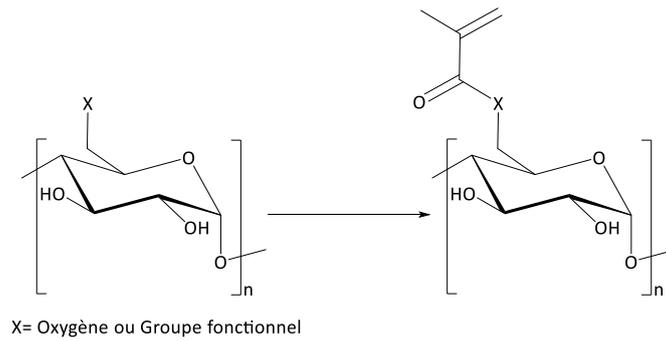


Schéma 15 : Représentation générale de la synthèse de monomères fonctionnels et d'agents réticulants à partir de sucres.

L'utilisation de ces molécules issues de ressources naturelles et renouvelables offre plusieurs avantages :

- La densité élevée des groupes hydroxyles présents sur les sucres permettent d'améliorer les propriétés d'hydrophilie du polymère et de favoriser les interactions non covalentes avec la molécule cible. De plus, l'orientation de ces hydroxyles, localisés sur différents carbones du sucre en position axiale ou équatoriale, offre des opportunités supplémentaires pour améliorer la formation du complexe¹⁷⁸.
- Les sucres sont des molécules chirales qui peuvent améliorer l'efficacité de la reconnaissance.
- Leur sensibilité envers l'action des glycosylhydrolases permet d'envisager des polymères biodégradables et biocompatibles.

V.2.1 Etude de la dégradation enzymatique des nouveaux monomères fonctionnels et agents réticulants

Il est indispensable d'étudier les propriétés de biodégradabilité de ces dérivés de sucres après leur modification. Les nouveaux monomères fonctionnels et agents réticulants seront potentiellement clivables par voie enzymatique, contrairement à ceux utilisés habituellement pour la synthèse de polymères imprimés ([Figure 3](#) p.13 ; [Figure 4](#) p.14). Sous l'action d'une glycosidase, la dégradation sera entreprise dans un milieu incubé à 37 °C et tamponné à un pH donné selon l'enzyme choisie ([Schéma 16](#)).

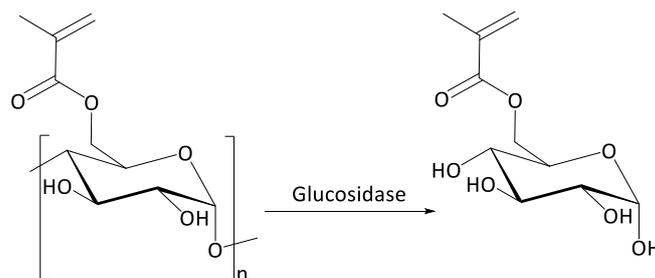


Schéma 16 : Représentation de la dégradation enzymatique des nouveaux monomères fonctionnels et agents réticulants dérivés de sucres.

Les produits de dégradation seront analysés par exemple par LC-MS pour déterminer leur structure chimique. Les résultats de ces analyses permettront de déterminer si ces nouveaux monomères fonctionnels et agents réticulants sont bien biodégradables par voie enzymatique et si cette dégradation induit l'apparition de produits biocompatibles. Des résultats positifs permettront d'envisager la synthèse de polymères imprimés à partir de ces molécules et clivables par voie enzymatique.

V.2.2 Etude de la synthèse et de la dégradation de polymères à empreintes moléculaires biodégradables et biocompatibles

Après la validation de la voie de synthèse et de la biodégradation et la biocompatibilité de ces nouveaux dérivés de sucres polymérisables, la synthèse de polymères à empreintes moléculaires sera entreprise en s'appuyant sur l'expertise de nos partenaires de l'Université de Technologie de Compiègne, le groupe du Professeur Karsten HAUPT. Cette étape permettra d'évaluer le processus d'impression en le comparant avec celui de polymères imprimés à base de monomères fonctionnels et d'agents réticulants synthétiques usuels. L'impact du degré de réticulation sur la structure des matériaux, leur solubilité en milieu aqueux et dans des solvants très polaires seront analysés. Dépendant fortement des propriétés chimiques et physiques du polymère, leur performance en reconnaissance moléculaire sera également évaluée dans des milieux tamponnés à différents pH. Enfin, une évaluation de la biodégradabilité de ces polymères sera entreprise.

VI. RESULTATS ET DISCUSSION : SYNTHÈSE DE
NOUVEAUX MONOMÈRES FONCTIONNELS ET
AGENTS RÉTICULANTS À PARTIR DE SUCRES

*« Un pessimiste voit la difficulté dans chaque opportunité, un optimiste voit l'opportunité
dans chaque difficulté. »*

Winston Churchill

VI.1 Généralités sur les dérivés de sucres portant des acrylates ou des méthacrylates

Dans les années trente, Reppe^{244,245} rapporte la première synthèse de monomères saccharidiques pour la préparation de polymères. Il utilise ainsi le fructose et le glucofuranose substitués par des esters vinyliques et protégés par des isopropylidènes. Quelques années plus tard dans les années quarante, Yanosky²⁴⁶ et Haworth²⁴⁷ décrivent pour la première fois des sucres protégés et fonctionnalisés avec des acrylates et des méthacrylates. Il faudra cependant attendre les années soixante pour voir les premières synthèses de monomères fonctionnels hydrosolubles, rapportées notamment par Imoto²⁴⁸ et Dewar^{249,250}, décrivant respectivement le 3-*O*-méthacryloyl-D-glucose et le 6-*O*-méthacryloyl-D-galactose obtenus par déprotection acide du 1,2:5,6-di-*O*-isopropylidène-D-glucose (13% de rendement) et du 1,2:3,4-di-*O*-isopropylidène-D-galactose (48% de rendement) (Schéma 17).

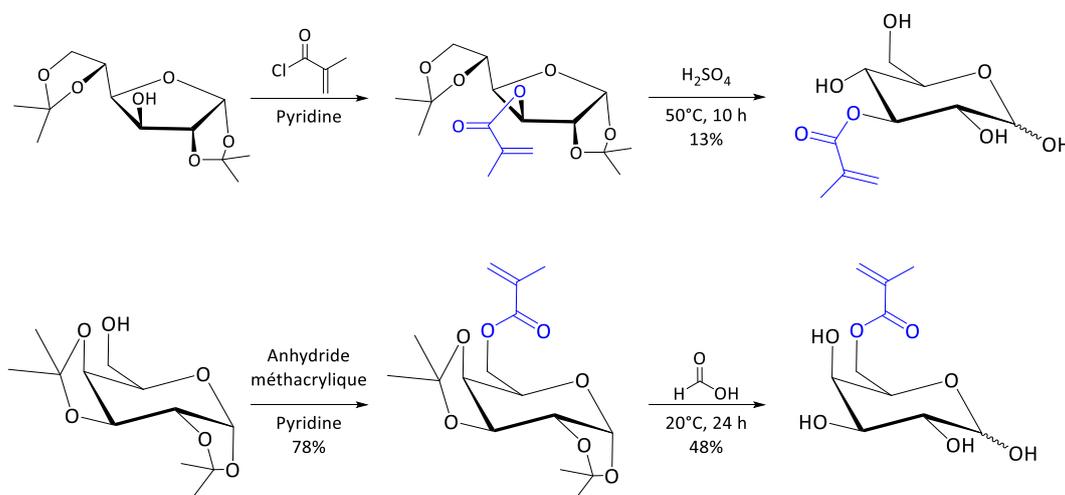


Schéma 17 : Synthèse du 3-*O*-méthacryloyl-D-glucose et du 6-*O*-méthacryloyl-D-galactose par déprotection acide.

²⁴⁴ Reppe, W. DRP584840, 714490, **1930**.

²⁴⁵ Reppe, W., Hecht Ger715268, US 2157347, **1936**.

²⁴⁶ Treadway, R. H.; Yanovsky, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1945**, 67 (6), 1038–1039.

²⁴⁷ Haworth, W. N.; Gregory, H.; Wiggins, L. F. *J. Chem. Soc.* **1946**, No. 0, 488.

²⁴⁸ Kimura, S.; Imoto, M. *Die Makromol. Chemie* **1961**, 50 (1), 155–160.

²⁴⁹ Bird, T. P.; Black, W. A. P.; Colquhoun, J. A.; Dewar, E. T.; Rutherford, D. *J. Chem. Soc. C Org.* **1966**, No. 0, 1913.

²⁵⁰ Black, W. A. P.; Colquhoun, J. A.; Dewar, E. T. *Die Makromol. Chemie* **1968**, 117 (1), 210–214.

L'utilisation de monosaccharides portant des méthacrylates ou des acrylates pour la confection de polymères s'est fortement accentuée depuis ces travaux^{251,252} et a été notamment reprise par plusieurs groupes pour des applications biomédicales^{253,254,255}. Ces applications basées sur la libération contrôlée de principes actifs *via* des nanoparticules²⁵⁵ ou de rétention de protéines sur des structures en nid d'abeilles²⁵⁴ reposent sur des matériaux potentiellement biodégradables, mais ne sont pas des polymères imprimés spécifiques à leur molécule d'intérêt (Figure 12).

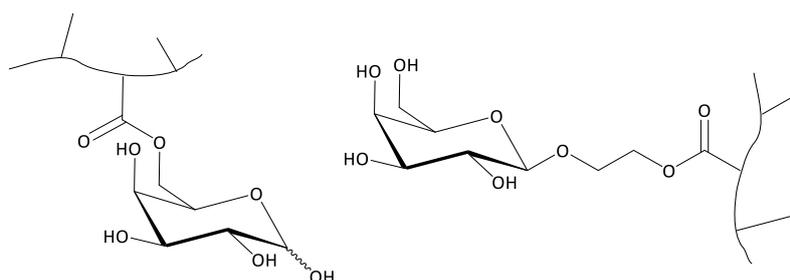


Figure 12 : Exemple de polymères à base de galactose et utilisés pour des applications biomédicales^{254,255}.

Concernant les oligosaccharides, les travaux de synthèses réalisés sont moins nombreux dans la littérature. Les premiers travaux rapportés sur le maltose sont ceux du groupe de Krausz²⁵⁶ en 1993. Le 6'-O-méthacryloyl-D-maltose est obtenu comme seul produit d'une réaction d'estérification de Mitsunobu sur le maltose non protégé avec un rendement de 20% (Schéma 18). Ce faible rendement illustre d'ailleurs la difficulté des stratégies de synthèse ne comportant pas d'étapes de protection-déprotection pour la modification sélective d'un seul hydroxyle.

²⁵¹ Mikhant'ev, B. I.; Lapenko, V. L.; Slivkin, A. I. *Vysokomol. Soedin. Seriya B Kratk. Soobshcheniya* **1970**, *12* (11), 802.

²⁵² Abeylath, S. C.; Turos, E. *Carbohydr. Polym.* **2007**, *70* (1), 32–37.

²⁵³ Seymour, L. W.; Duncan, R.; Chytrý, V.; Strohalm, J.; Ulbrich, K.; Kopeček, J. *J. Control. Release* **1991**, *16* (3), 255–262.

²⁵⁴ Ting, S. R. S.; Min, E. H.; Escalé, P.; Save, M.; Billon, L.; Stenzel, M. H. *Macromolecules* **2009**, *42* (24), 9422–9434.

²⁵⁵ Wang, T.; Tang, X.; Han, J.; Ding, Y.; Guo, W.; Pei, M. *Macromol. Biosci.* **2016**, *16* (5), 774–783.

²⁵⁶ Bourhim, A.; Czernecki, S.; Krausz, P. J. *Carbohydr. Chem.* **1993**, *12* (7), 853–863.

VI.2 Synthèses de nouveaux monomères et agents réticulants à partir du tréhalose et du maltose

VI.2.1 Synthèses de dérivés d'esters méthacryliques par la réaction de Mitsunobu

VI.2.1.1.1 *Rappel sur la réaction de Mitsunobu*

Bien que les hydroxyles d'un sucre aient des réactivités différentes, une modification directe amène généralement à la formation de mélanges. Pour éviter de longues séquences réactionnelles de protection-déprotection, plusieurs méthodes chimiques et enzymatiques existent. Des méthodes enzymatiques très efficaces ont connu un succès depuis plusieurs années principalement pour la synthèse de monosaccharides monoestérifiés en position primaire. Malgré une mise en œuvre simple, ces méthodes sont limitées par des temps de réaction assez longs (en général plusieurs jours). Pour surmonter cette limitation, nous nous sommes dirigés vers la voie chimique, et plus particulièrement vers la réaction de Mitsunobu.

Décrite par Oyo Mitsunobu en 1967²⁶¹, la réaction de Mitsunobu est largement utilisée pour faire des substitutions nucléophiles sur un alcool en combinaison avec un activateur azo, généralement le diéthylazodicarboxylate (DEAD) et une phosphine, principalement la triphénylphosphine (PPh₃) (Schéma 19). Elle se réalise dans des conditions douces et peut être faite avec de nombreux nucléophiles ayant un pKa inférieur à 11 pour synthétiser différentes fonctions chimiques : des esters, des azotures, des amines, des éthers d'aryles et cycliques, des liaisons carbone-carbone²⁶².

²⁶¹ Mitsunobu, O.; Yamada, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1967**, 40 (10), 2380–2382.

²⁶² But, T. Y. S.; Toy, P. H. *Chem. - An Asian J.* **2007**, 2 (11), 1340–1355.

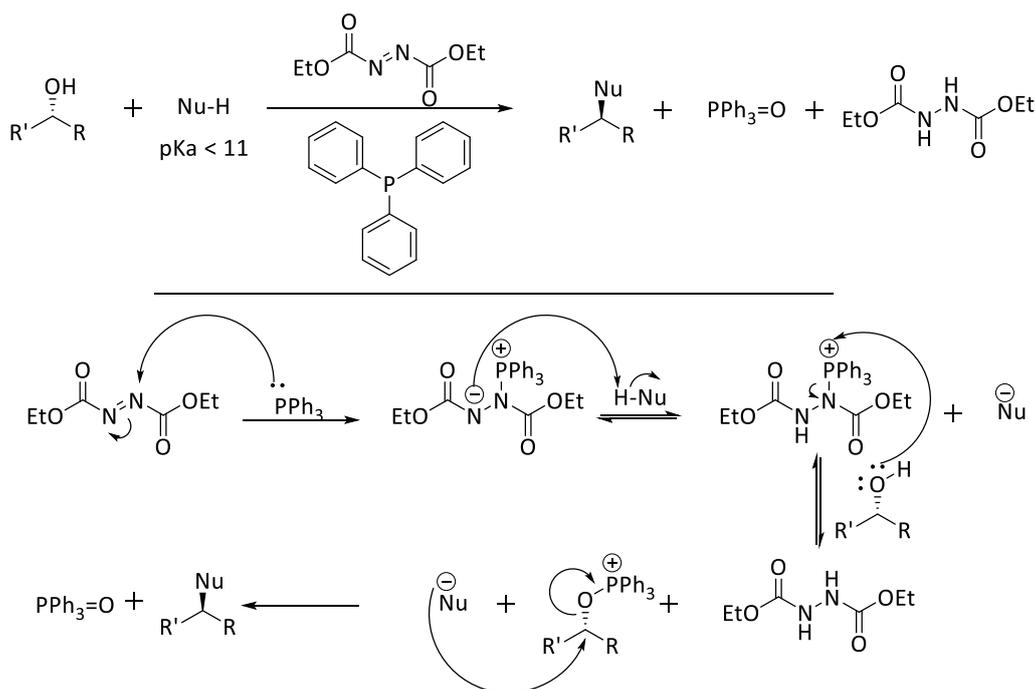


Schéma 19 : Synthèse générale de la réaction de Mitsunobu et son mécanisme.

Malgré l'énorme consommation de réactifs, cette réaction fournit d'excellentes sélectivités. En effet, elle est stéréospécifique, le mécanisme de type S_N2 induisant une inversion de configuration (dans le cas d'un carbone asymétrique). Elle est régiosélective, permettant ainsi de modifier prioritairement l'alcool primaire en présence d'alcool secondaire. Cette grande sensibilité à l'encombrement stérique a permis d'estérifier sélectivement les positions primaires de monosaccharides (par exemple glucose, glucosamine) déprotégés sans obtenir de mélanges avec des rendements de l'ordre de 30% à 55%²⁶³. Dans le cas de disaccharides, les observations ont révélé l'estérification d'une partie ou de toutes les positions primaires, selon le nombre d'équivalents de réactifs engagés, même si le rendement final est imprévisible²⁵⁶.

Afin d'obtenir les meilleurs rendements de synthèse, nous allons étudier l'influence des conditions expérimentales de la réaction de Mitsunobu sur le tréhalose et le maltose.

VI.2.1.2 Optimisation des conditions expérimentales de la réaction de Mitsunobu

En nous inspirant des travaux de Krausz effectués sur le maltose²⁵⁶, nous avons essayé de synthétiser des monomères fonctionnels et des agents réticulants. Le α,α -

²⁶³ Beraud, P.; Bourhim, A.; Czernecki, S.; Krausz, P. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30 (3), 325–326.

tréhalose, disaccharide composé de deux glucoses liés en α,α -1,1, a été utilisé comme molécule modèle, car l'analyse des produits obtenus est simplifiée grâce à sa symétrie et ses carbones anomères sont bloqués, limitant ainsi les réactions secondaires. Le mode opératoire décrit est relativement simple : à une solution de deux équivalents molaires d'acide méthacrylique et trois équivalents de diéthylazodicarboxylate dans le diméthylformamide anhydre, un mélange de trois équivalents de triphénylphosphine et de tréhalose **3** dans le même solvant est ajouté goutte à goutte sous atmosphère inerte. Le mélange homogène est alors agité à température ambiante pendant 48 h, le solvant est ensuite évaporé sous pression réduite et le résidu est purifié par chromatographie sur silice pour donner le 6,6'-di-*O*-méthacryloyl- α,α -tréhalose **4** désiré (Schéma 20).

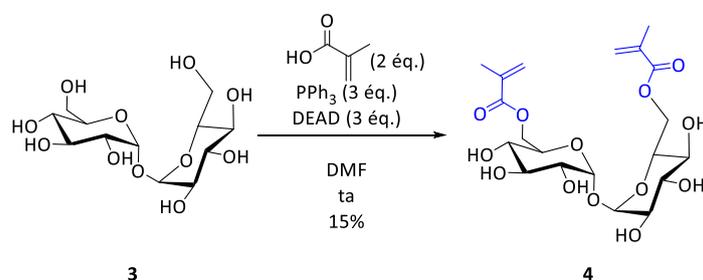


Schéma 20 : Synthèse du 6,6'-di-*O*-méthacryloyl- α,α -tréhalose.

Le faible rendement de 15% nous a poussés à optimiser les conditions de la réaction en jouant sur le mode d'activation, la température et la durée. Dans un premier temps, nous avons voulu observer les effets d'une activation par microondes en nous basant sur les travaux de Potewar²⁶⁴. Dans son article, il décrit avec succès une estérification de la position primaire 6 du saccharose par activation aux microondes à 145 °C pendant 10 min. Nous avons repris les mêmes réactifs, en variant les quantités, pour réaliser cette optimisation, mais aucun des essais effectués n'a donné satisfaction. En effet, le meilleur rendement obtenu a été de 5% (Tableau 4).

²⁶⁴ Barros, M. T.; Petrova, K. T.; Correia-da-Silva, P.; Potewar, T. M. *Green Chem.* **2011**, 13 (7), 1897.

	Tréhalose (éq.)	Acide Méthacrylique (éq.)	PPh ₃ (éq.)	DEAD (éq.)	Rendement
MW (200 W, 10 min, 145°C)	1	2.5	2.5	2.5	-
	1	2	3	3	-
	1	5	4	4	5%
	1	10	4	4	5%

Tableau 4 : Optimisation de la réaction de Mitsunobu par activation aux microondes.

Cependant, nous avons observé par analyse des plaques CCM une multitude de produits secondaires. Ajoutés aux faibles rendements observés, nous avons suspecté qu'une dégradation de certains réactifs et des réactions secondaires étaient à l'origine de ces résultats. Plusieurs études rapportent une réaction secondaire lors de la formation du sel d'alkoxyphosphonium^{262,265} (Schéma 21).

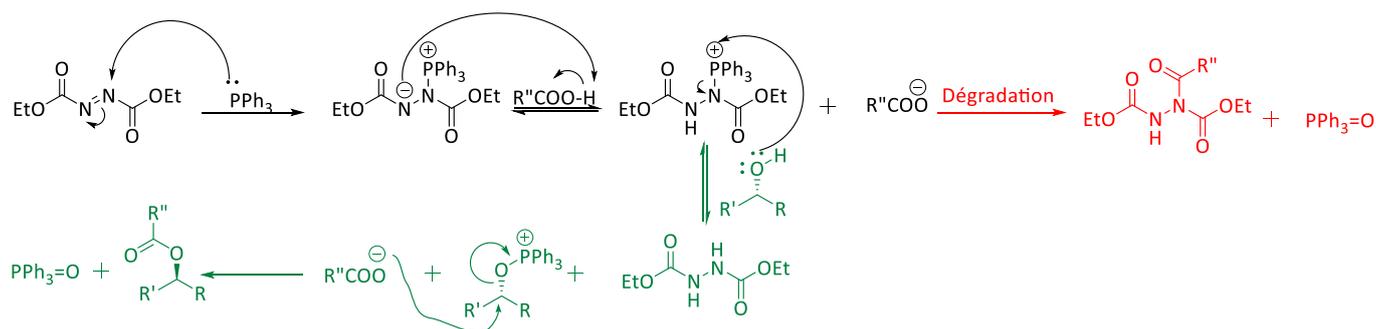


Schéma 21 : Mécanisme de la réaction de Mitsunobu à partir d'acide carboxylique et la réaction secondaire de dégradation.

Pour limiter l'influence de cette réaction secondaire, nous avons remplacé le diéthylazodicarboxylate par le diisopropylazodicarboxylate (DIAD). Ce composé azo est plus encombré de par la présence des isopropyles et est connu pour produire moins de composés secondaires. De plus, il est plus hydrophobe et permet une purification plus simple. Nous n'avons pas observé d'amélioration du rendement avec ce nouveau réactif en utilisant les méthodes précédemment décrites (réactions à température ambiante et par microondes). Nous avons donc changé de protocole et nous avons étudié l'influence de la température sur

²⁶⁵ Swamy, K. C. K.; Kumar, N. N. B.; Balaraman, E.; Kumar, K. V. P. P. *Chem. Rev.* **2009**, 109 (6), 2551–2651.

cette réaction en utilisant les conditions réactionnelles décrites par Barros²⁶⁶. L'impact des réactions secondaires est minimisé en mélangeant tous les réactifs d'abord à 0 °C avant de remonter à température ambiante. Dans ces conditions, Barros obtient 49% de monoester de saccharose en utilisant de triphénylphosphine (1.34 équivalents), d'acide méthacrylique (1.34 équivalents) et le diisopropylazodicarboxylate (1.34 équivalents). Nous avons par ailleurs varié les quantités des réactifs et notamment l'ordre d'incorporation de ceux-ci dans le mélange réactionnel (Tableau 5).

	Tréhalose (ég.)	Acide Méthacrylique (ég.)	PPh ₃ (ég.)	DIAD (ég.)	Rendement
0 °C à température ambiante	1	1	1	1	-
	1	2	2	2	-
	1	2.5	2.5	2.5	-
	1	3	3	3	-
	1	5	5	5	10%
	1	5	2	2	5%
	1	5	4	4	45%
	1	10	4	4	40%
	1	20	16	16	30%

Tableau 5 : Optimisation de la réaction de Mitsunobu par variation des quantités de réactifs.

Ainsi après plusieurs essais, nous avons pu définir les meilleures conditions expérimentales nous permettant d'avoir le meilleur rendement possible : à une solution de tréhalose, de triphénylphosphine (4 équivalents) et d'acide méthacrylique (5 équivalents) dans le diméthylformamide anhydre, le diisopropylazodicarboxylate (4 équivalents) est ajouté goutte à goutte pendant une heure à 0 °C et sous atmosphère inerte. Le mélange réactionnel est ensuite agité à température ambiante pendant 24 h, concentré sous pression réduite puis purifié par chromatographie pour donner le produit désiré. Nous n'avons pas constaté d'amélioration lorsque nous avons changé la nature du composé azo (DEAD, 1,1'-

²⁶⁶ Barros, M. T.; Petrova, K. T.; Singh, R. P. *Eur. Polym. J.* **2010**, 46 (5), 1151–1157.

(azodicarbonyl)dipipéridine (ADDP), di-tert-butylazodicarboxylate (DBAD)), utilisé la triphénylphosphine supportée ou élevé la température.

Nous avons pu ainsi obtenir l'agent réticulant 6,6'-di-*O*-méthacryloyl- α,α -tréhalose **4** avec un rendement de 45%. Le monomère fonctionnel 6-*O*-méthacryloyl- α,α -tréhalose **5** a été également obtenu avec un rendement de 35%, en divisant par 2 le nombre d'équivalents molaires des réactifs (Schéma 22). Même si ces rendements n'atteignent pas ceux obtenus par des méthodes enzymatiques (près de 90%)^{267,268}, ils sont du même ordre grandeur que ceux rapportés dans la littérature sur des disaccharides comme le saccharose (44%-49%)^{264,266,269}.

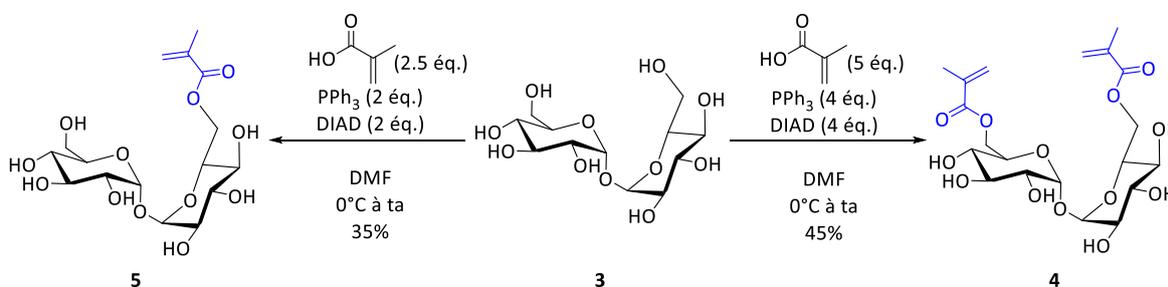


Schéma 22 : Synthèses du 6-*O*-méthacryloyl- α,α -tréhalose et du 6,6'-di-*O*-méthacryloyl- α,α -tréhalose.

Par ailleurs, nous avons remarqué que les composés substitués par des méthacrylates ne sont pas stables et tendent à polymériser spontanément lorsqu'ils sont concentrés 40 °C. Pour éviter cette polymérisation imprévue et rapportée également dans la littérature^{266,269}, nous avons décidé de concentrer sous vide les mélanges réactionnels à température ambiante, de purifier immédiatement le résidu obtenu par chromatographie en phase normale sur silice suivie d'une autre en phase inverse sur C18 afin d'enlever tout sous-produit, et enfin de conserver les produits à -30 °C après lyophilisation.

Nous avons ensuite étendu le champ d'application de la réaction de Mitsunobu au maltose en utilisant les conditions optimisées précédemment. Etant donné le faible rendement (20%) obtenu par Krausz²⁶³ pour la mono-estérification du maltose, nous avons entrepris de bloquer le carbone anomère afin qu'il n'interfère pas dans la réaction. A partir

²⁶⁷ Potier, P.; Bouchu, A.; Gagnaire, J.; Queneau, Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12* (17), 2409–2419.

²⁶⁸ Aimetti, A.; O'shea, T.; Langer, R. S.; Zhang, X. WO2014160377, **2014**.

²⁶⁹ Barros, M. T.; Petrova, K. T.; Singh, R. P. *Int. J. Mol. Sci.* **2010**, *11* (4), 1792–1807.

des travaux de Gebbie²⁷⁰, le maltose **1** a été acétylé de manière conventionnelle puis le carbone anomérique a été déprotégé sélectivement en utilisant l'acétate d'hydrazine. Le mélange anomérique obtenu est engagé dans une réaction de méthylation en présence d'iodure de méthyle et d'oxyde d'argent (I) dans l'acétonitrile et à température ambiante. L'anomère β **6**, cinétiquement plus favorable^{271,272}, est uniquement obtenu comme en atteste le spectre RMN avec une constante de couplage $J_{H-1,H-2}$ de 7.9 Hz et avec un rendement global de 70%. Une déprotection (méthanolate de sodium) conduit au β -maltoside de méthyle **7** (Schéma 23). Celui-ci est enfin estérifié à l'aide du diisopropylazodicarboxylate, de la triphénylphosphine et de l'acide méthacrylique.

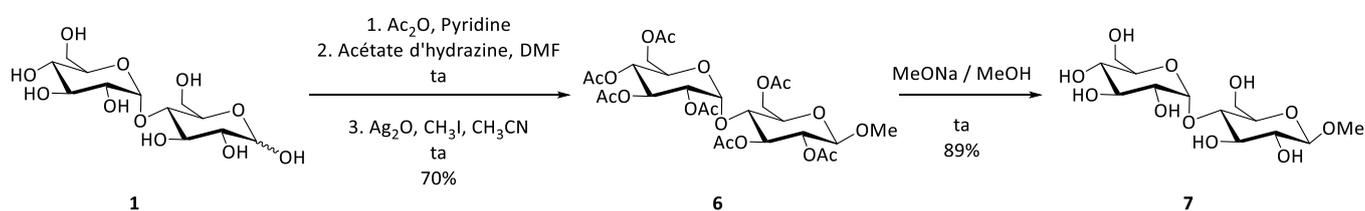


Schéma 23 : Synthèse du β -maltoside de méthyle.

Avec 4 équivalents de réactifs et 5 équivalents d'acide méthacrylique, l'agent réticulant, 6,6'-di-*O*-méthacryloyl- β -maltoside de méthyle **8** a été obtenu avec 45% de rendement. Les deux monomères fonctionnels, 6'-*O*-méthacryloyl- β -maltoside de méthyle **9** et 6-*O*-méthacryloyl- β -maltoside de méthyle **10** ont été synthétisés en divisant par deux les quantités de réactifs **9** et **10** ont été isolés avec un rendement global de 35% en proportion égale (Schéma 24). Cependant, le dérivé **10** n'a pas été analysé car il a polymérisé lors de la conservation.

²⁷⁰ Gebbie, S. J.; Gosney, I.; Harrison, P. R.; Lacan, I. M. F.; Sanderson, W. R.; Sankey, J. P. *Carbohydr. Res.* **1998**, *308* (3–4), 345–348.

²⁷¹ Périon, R.; Lemée, L.; Ferrières, V.; Duval, R.; Plusquellec, D. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338* (24), 2779–2792.

²⁷² Sun, B.; Pukin, A. V.; Visser, G. M.; Zuilhof, H. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47* (41), 7371–7374.

VI. Résultats et Discussion : Synthèse de Nouveaux Monomères Fonctionnels et Agents Réticulants à Partir de Sucres

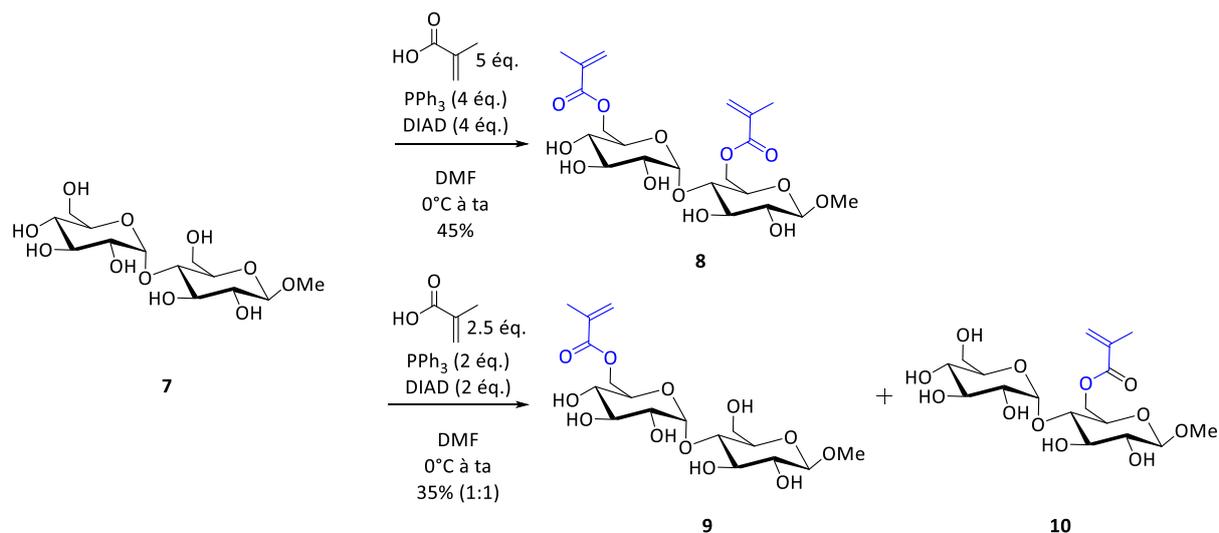


Schéma 24 : Synthèses du 6,6'-*O*-méthacryloyl- β -maltoside de méthyle et des 6'-*O*-méthacryloyl- β -maltoside de méthyle et 6-*O*-méthacryloyl- β -maltoside de méthyle.

VI.2.2 Synthèses de dérivés contenant des liaisons autres que les esters

VI.2.2.1 Synthèse d'un agent réticulant contenant des méthacrylamides à partir de tréhalose

Dans un premier temps, nous avons voulu compléter la bibliothèque des composés dérivés du tréhalose en synthétisant le 6,6'-didésoxy-6,6'-diméthacrylamido- α,α -tréhalose **13**. Selon la stratégie établie, il s'agit d'obtenir le produit désiré par une déprotection du 6,6'-didésoxy-6,6'-diméthacrylamido- α,α -tréhalose peracétylé, précédé d'une amidation du composé diaminé **12**, ce dernier provenant de l'hydrogénation du tréhalose portant deux azotures **11** synthétisé à partir du tréhalose **3** (Schéma 25).

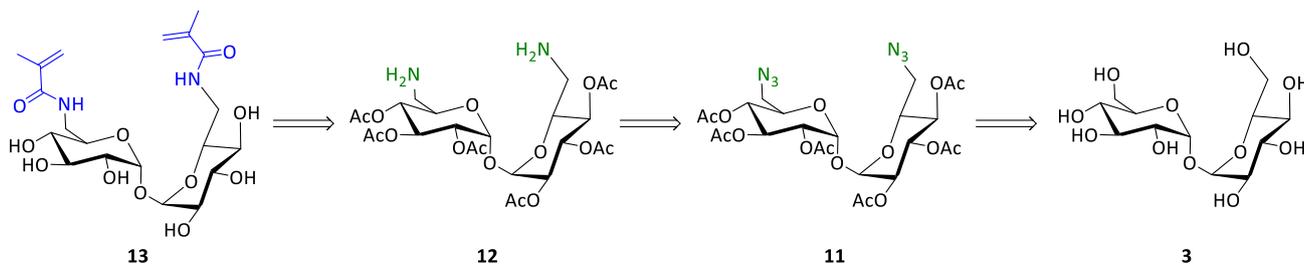


Schéma 25 : Stratégie de synthèse de 6,6'-didésoxy-6,6'-diméthacrylamido- α,α -tréhalose.

Nous avons donc commencé par préparer le 6,6'-diazido-6,6'-didésoxy- α,α -tréhalose peracétylé **11** selon une procédure décrite au laboratoire^{273,274,275,276}. La synthèse débute par la réaction d'azidation du tréhalose en utilisant l'azoture de sodium, la triphénylphosphine et le tétrabromométhane dans le diméthylformamide qui, après une peracétylation de l'intermédiaire diazidé et déprotégé, est hydrogéné en utilisant le palladium sur charbon comme catalyseur. Croyant avoir le composé diamino **12**, nous l'avons mis en réaction avec le chlorure de méthacryloyle et la triéthylamine pour obtenir le composé **13** avec deux méthacrylamides après déprotection. Cependant, une analyse par spectrométrie de masse nous a permis d'observer la formation exclusive du sucre **16**, de masse moléculaire 424 g.mol⁻¹, et ayant deux acétamides en position 6 avec un rendement de 68% (Schéma 26).

²⁷³ Gouin, S. G.; Kovensky, J. *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48 (16), 2875–2879.

²⁷⁴ Cagnoni, A. Ligandos Multivalentes Con Residuos De Tioazúcares. Síntesis Y Actividad Biológica, thèse doctorale, Université de Picardie Jules Vernes, Université de Buenos Aires, **2013**.

²⁷⁵ Cagnoni, A. J.; Varela, O.; Uhrig, M. L.; Kovensky, J. *European J. Org. Chem.* **2013**, 2013 (5), 972–983.

²⁷⁶ Agustí, R.; Cano, M. E.; Cagnoni, A. J.; Kovensky, J.; de Lederkremer, R. M.; Uhrig, M. L. *Glycoconj. J.* **2016**, 33 (5), 809–818.

VI. Résultats et Discussion : Synthèse de Nouveaux Monomères Fonctionnels et Agents Réticulants à Partir de Sucres

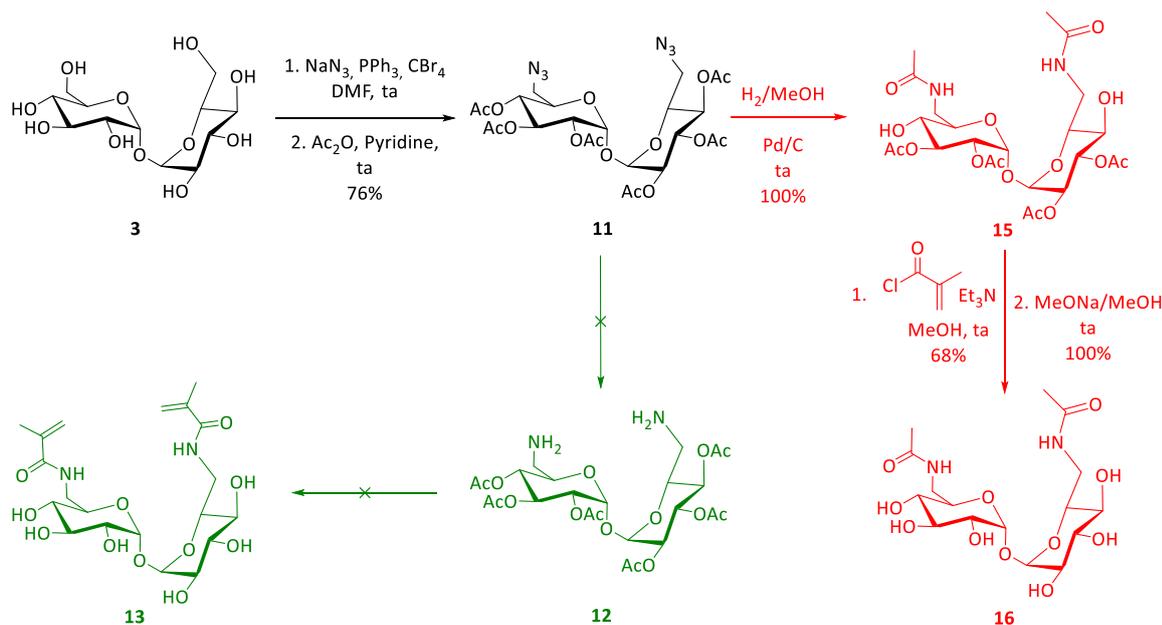


Schéma 26 : Essai de synthèse du 6,6'-didésoxy-6,6'-diméthacrylamido- α,α -tréhalose.

Comme attendu, l'analyse par RMN ¹H nous a montré un profil spectral dérivé d'un composé symétrique. En effet, nous avons noté le signal **a** à 5.06 ppm sous forme de doublet avec une constante de couplage $J_{H-1,H-2}$ de 3.8 Hz et correspondant aux deux protons anomériques H-1 et H-1'. De plus, le signal **b** à 2.03 ppm apparaissant sous la forme d'un singulet confirme ainsi la présence des méthyles **7** et **7'** sur le composé **16**. Cependant, nous avons également relevé l'absence de fonctions polymérisables dont les signaux auraient dû apparaître entre 5 ppm et 7 ppm avec des constantes de couplages propres aux protons méthyléniques. Ces doubles liaisons carbone-carbone ne sont pas également visibles par RMN ¹³C. La présence des carbones anomériques (signal **d** à 95.76 ppm) et du carbonyle **c** (174.48 ppm) et des méthyles **e** (22.14 ppm) nous ont convaincus de la présence exclusive du composé **16** (Figure 13).

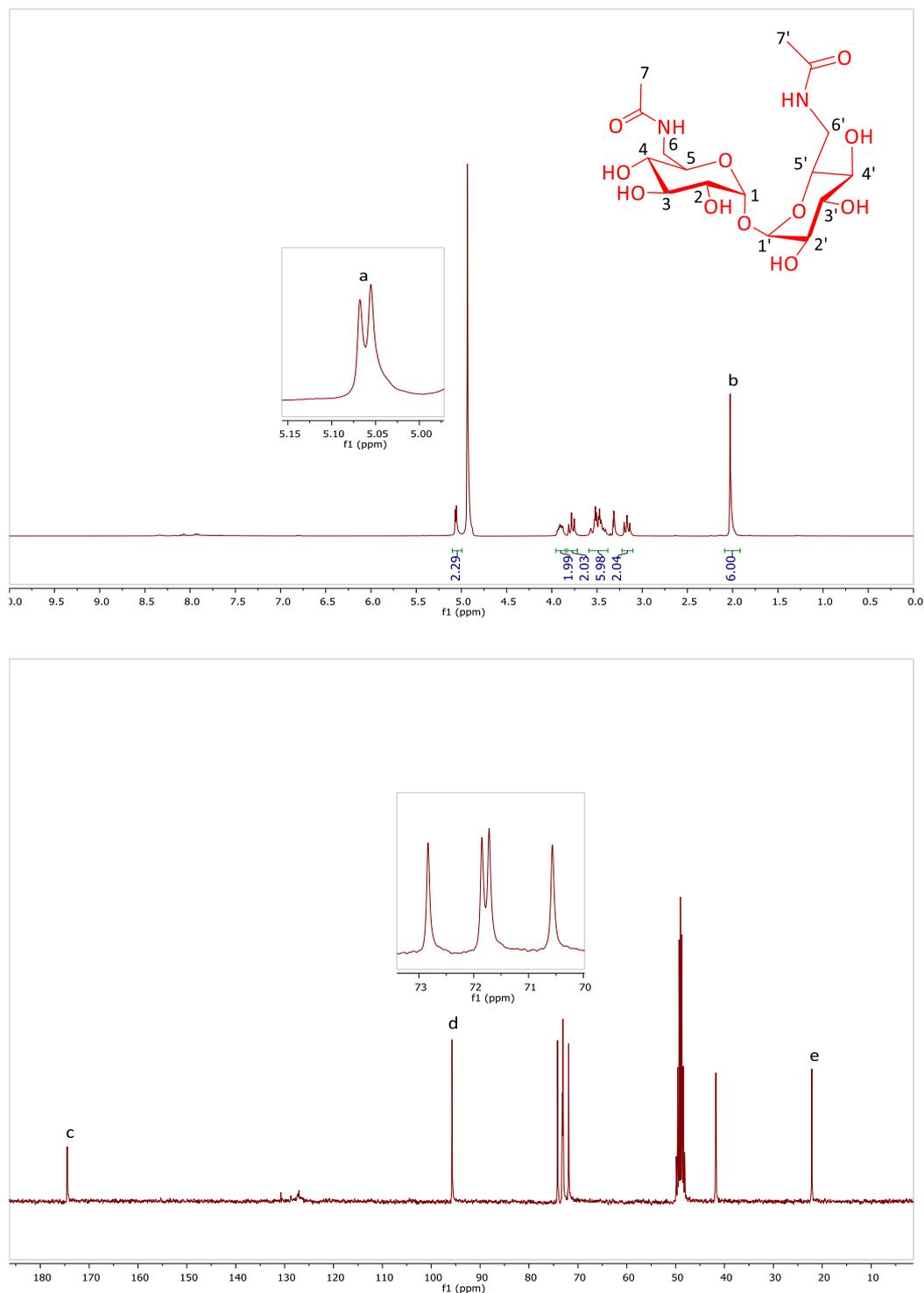


Figure 13 : Spectre RMN ^1H (300 MHz, MeOD, 25°C) et ^{13}C (75 MHz, CD₃OD, 25°C) du composé 16.

Après vérification du dérivé diamino acétylé **12**, nous avons remarqué que ce précurseur issu de l'hydrogénation du composé **11** était fonctionnalisé avec deux acétamides et que les positions 4 et 4' étaient désacétylées. La présence du dérivé diamido **15** (X.3, page 164) non désiré est due à la migration des acétyles sur l'amine fraîchement

formée lors de l'hydrogénation de l'azoture, phénomène déjà décrit par quelques travaux^{277,278}.

Le 6,6'-didésoxy-6,6'-diméthacrylamido- α,α -tréhalose **13** n'a donc pu être obtenu par cette stratégie. Pour surmonter ce blocage, nous avons décidé d'inverser les étapes : le composé **11** sera désacétylé avant hydrogénation (Schéma 27).

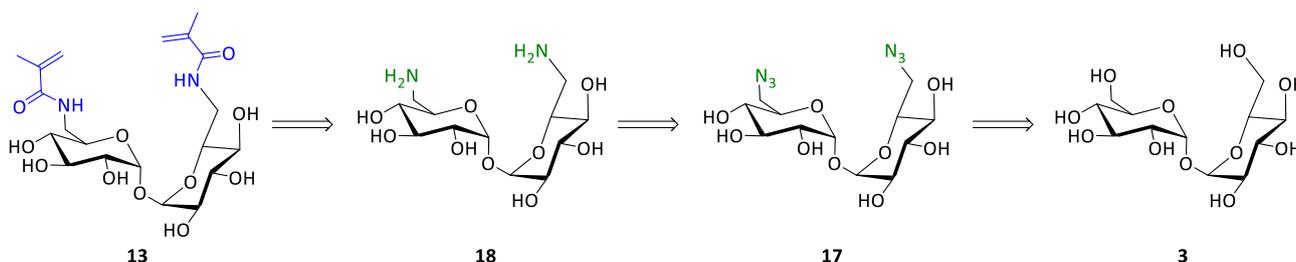


Schéma 27 : Nouvelle stratégie de synthèse du 6,6'-didésoxy-6,6'-diméthacrylamido- α,α -tréhalose.

La déprotection avec du méthanolate de sodium du dérivé diazido **11**, conduit au 6,6'-didésoxy-6,6'-diazido- α,α -tréhalose **17** avec un rendement de 76%. Celui-ci est ensuite réduit par hydrogénation pour avoir le 6,6'-diamino-6,6'-didésoxy- α,α -tréhalose **18**. Ce composé diaminé **18** est mis dans une réaction d'amidation en présence de chlorure de méthacryloyle et de triéthylamine dans le méthanol, menant ainsi au 6,6'-didésoxy-6,6'-diméthacrylamido- α,α -tréhalose **13** avec un rendement de 50% et confirmé par les analyses RMN ^1H et ^{13}C (Schéma 28). Nous avons observé une polymérisation spontanée du composé **13** (également décrite dans la littérature²⁷⁹) plus rapide que celle des composés estérifiés **4** et **5**. De ce fait, nous avons pris les mêmes précautions que les dérivés de tréhalose pour purifier et conserver cet agent réticulant.

²⁷⁷ Patel, A.; Poller, R. C. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1988**, 107 (3), 182–184.

²⁷⁸ Walczyna, R.; Smiatacz, Z.; Ciunik, Z. *J. Carbohydr. Chem.* **1993**, 12 (8), 1161–1171.

²⁷⁹ Paterson, S. M.; Clark, J.; Stubbs, K. A.; Chirila, T. V.; Baker, M. V. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2011**, 49 (20), 4312–4315.

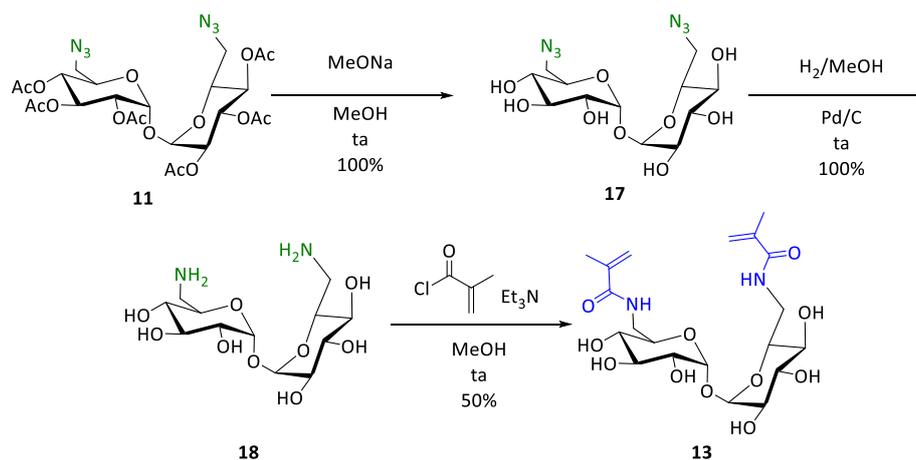


Schéma 28 : Synthèse du 6,6'-didésoxy-6,6'-diméthacrylamido- α,α -tréhalose.

VI.2.2.2 Synthèse d'agents réticulants contenant des triazoles à partir de tréhalose

et de maltose

Après avoir synthétisé avec succès le 6,6'-didésoxy-6,6'-diméthacrylamido- α,α -tréhalose, nous avons envisagé le greffage des fonctions méthacrylate par un bras espaceur de type triazole en utilisant la « click chemistry » avec la cycloaddition alcyne azoture. Faiblement toxiques, les composés contenant un triazole sont énormément utilisés comme intermédiaire en agrochimie (herbicides, fongicides, etc.) et en pharmacie (anticancéreux, antidiabétique, etc.) de par leur faculté à interagir avec des enzymes et des récepteurs par diverses interactions non covalentes²⁸⁰. Cette capacité d'interaction est également intéressante pour la technologie de l'impression moléculaire, car elle pourrait améliorer la complexation des principes actifs, l'efficacité de la reconnaissance moléculaire et le système de vectorisation.

Dans un premier temps, nous avons synthétisé le 6,6'-didésoxy-6,6'-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)- α,α -tréhalose **19** (Schéma 29). A partir du composé diazoturé et déprotégé **17**, nous avons réalisé une réaction « click » en le couplant avec le méthacrylate de propargyle en présence de sulfate de cuivre (II) et du L-ascorbate de sodium à 70 °C pendant une heure. Nous avons obtenu l'agent réticulant ditriazole **19** avec un rendement de 70%.

²⁸⁰ Zhou, C.-H.; Wang, Y. *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19* (2), 239–280.

VI. Résultats et Discussion : Synthèse de Nouveaux Monomères Fonctionnels et Agents Réticulants à Partir de Sucres

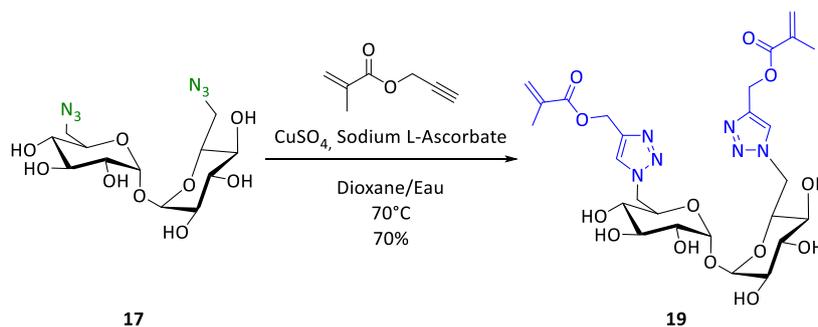


Schéma 29 : Synthèse du 6,6'-didésoxy-6,6'-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)- α,α -tréhalose.

Parallèlement à cette synthèse, nous avons également préparé un dérivé du maltose en suivant le même protocole que l'agent réticulant ditriazole dérivé du tréhalose. Nous avons d'abord substitué les hydroxyles des positions 6 et 6' par des azotures en nous basant sur la même procédure développée au laboratoire²⁷³ pour obtenir une substitution régiosélective des alcools primaires. Le produit diazoturé et peracétylé est ensuite déprotégé pour avoir le composé **20**, avec un rendement global de 50%. Nous l'avons enfin couplé au propargyle de méthacrylate par une réaction « click » permettant d'accéder, avec un rendement de 70%, à l'agent réticulant 6,6'-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-6,6'-didésoxy-maltose **21** (Schéma 30).

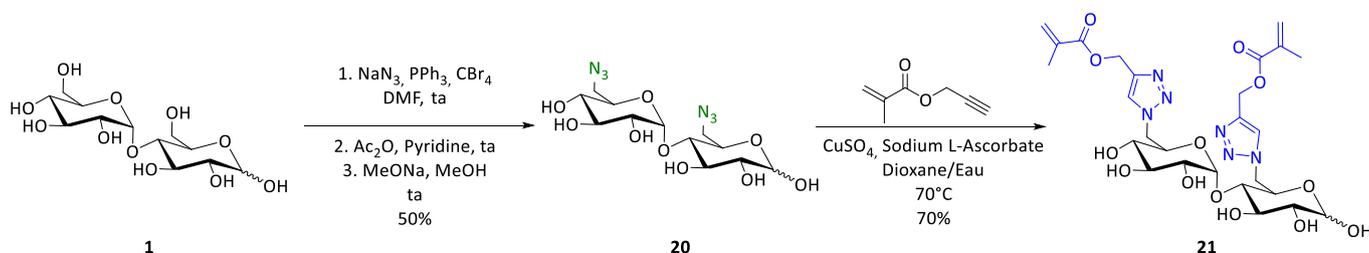


Schéma 30 : Synthèse du 6,6'-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-6,6'-didésoxy-maltose.

La caractérisation d'un mélange anomérique d'une molécule portant des triazoles n'étant pas aisée, nous avons décidé de présenter la façon dont leur structure est déterminée et confirmée en décrivant les signaux caractéristiques du 6,6'-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-6,6'-didésoxy-maltose **21**. Une première analyse par spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS) nous a permis d'associer la masse exacte obtenue 663.2248 (masse calculée 663.2242) à sa formule brute $C_{26}H_{36}N_6O_{13}^+$. Dans un deuxième temps, une analyse par infrarouge (IR) permet d'observer les bandes

1716 et 1508 cm^{-1} correspondant respectivement aux vibrations des carbonyles et des doubles liaisons carbone-carbone. Enfin les analyses des spectres RMN ^1H et ^{13}C et des informations tirées des COSY, HSQC et HMBC confirment la structure du produit désiré (Figure 14, Figure 15) :

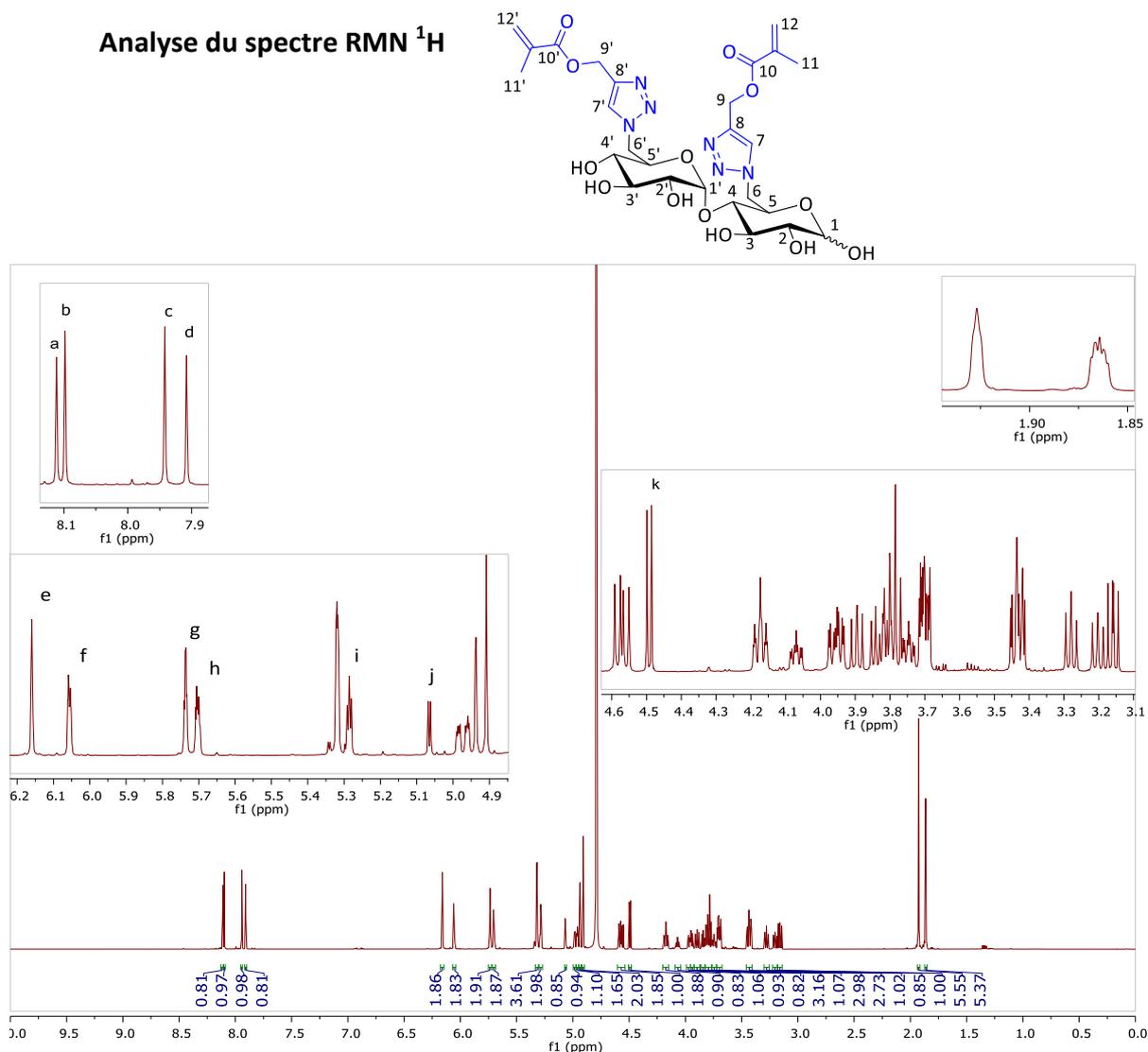


Figure 14 : Spectre RMN ^1H du 6,6'-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-6,6'-didésoxy-maltose (600 MHz, D_2O , 25°C).

- Les quatre signaux **a**, **b**, **c** et **d** apparaissent sous la forme de singulet à 8.11 ppm, 8.10 ppm, 7.94 ppm et 7.91 ppm et correspondent aux quatre protons H-7 et H-7' des anomères α et β .
- Les signaux **e**, **f**, **g** et **h** apparaissent soit sous la forme de multiplet (6.18 – 6.14 ppm, 6.08 – 6.03 ppm et 5.76 – 5.71 ppm), soit sous la forme de large

quintuplet (5.705 ppm et 5.698 ppm, J de 1.5 Hz) et correspondent aux quatre méthylènes H-12 et H-12', α et β du méthacrylate.

- Le signal **i** rassemble deux doublets à 5.29 ppm et 5.28 ppm avec une constante de couplage $J = 3.8$ Hz et correspond respectivement aux deux protons H-1' anomériques α et β .
- Le signal **j** correspond au proton H-1 anomérique α et sort sous forme de doublet à 5.07 ppm avec une constante de couplage $J = 3.7$ Hz.
- Le signal **k** est celui du proton H-1 de l'anomère β et sortant à 4.49 ppm avec une constante de couplage J de 7.9 Hz.

Analyse du spectre RMN ^{13}C

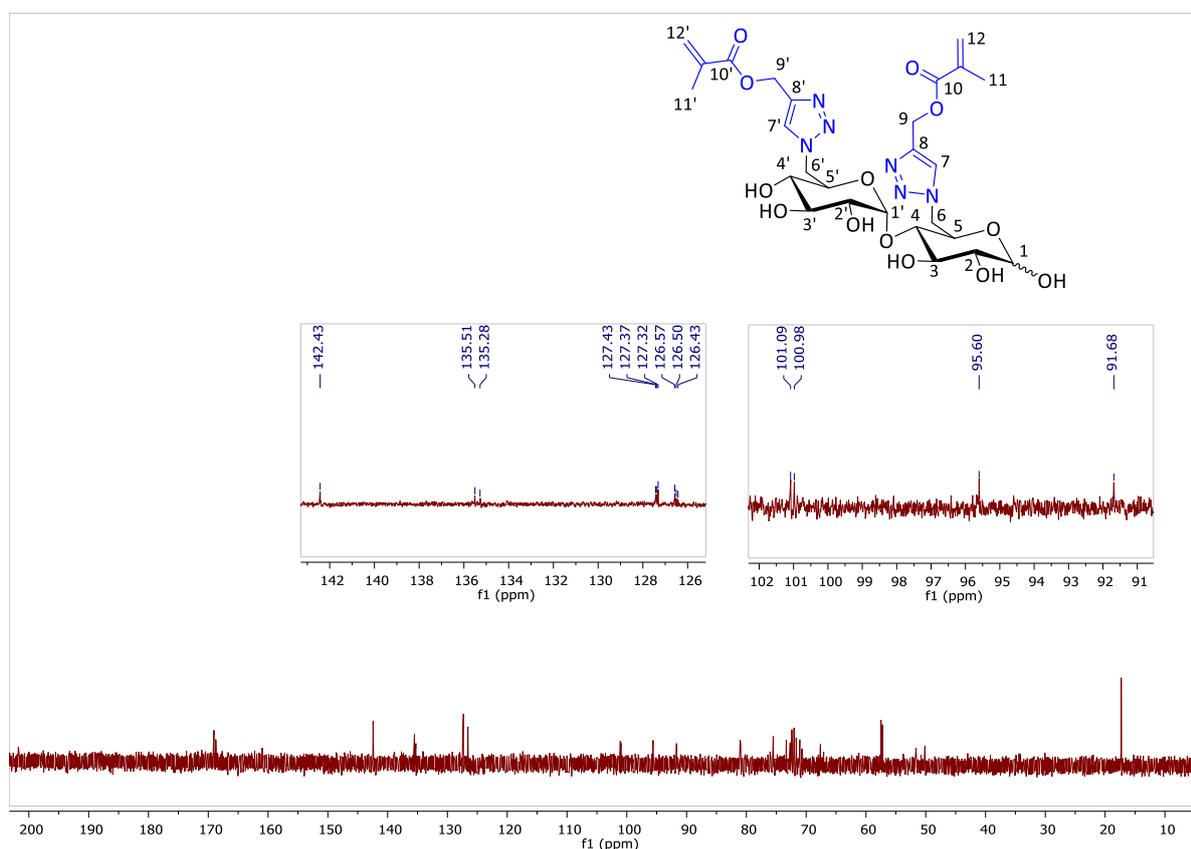


Figure 15 : Spectre RMN ^{13}C du 6,6'-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-6,6'-didésoxy-maltose (600 MHz, D_2O , 25°C).

- Les quatre signaux à 101.09 ppm, 100.98 ppm, 95.60 ppm et 91.68 ppm correspondent aux quatre carbones anomériques C-1 et C-1', α et β .

- Les neuf signaux entre 142.43 ppm et 126.43 ppm représentent les huit doubles liaisons carbone-carbone des cycles triazole et des méthacrylates des deux anomères α et β .

VI.2.3 Synthèse d'un nouvel agent réticulant à partir de maltotriose

Les nouvelles molécules étant amenées à être dégradées par voie enzymatique, nous avons entrepris de modifier également des oligosaccharides comportant plus de deux unités glucidiques. Notre approche repose sur le fait que les polymères imprimés synthétisés avec des sucres ayant plus de liaisons glycosidiques auront tendance à être mieux dégradés par voie enzymatique que leurs équivalents préparés à partir de disaccharides. Pour commencer cette étude, nous avons choisi le maltotriose, un oligosaccharide constitué de trois unités de D-glucoses liées en $\alpha,1-4$ provenant du clivage de l'amylose par l' α -amylase. Cette structure de polysaccharide naturel est utilisée dans de nombreux matériaux polymériques comme support^{281,282,283}.

Nous nous sommes donc focalisés sur la synthèse d'un agent réticulant dérivé du maltotriose : 1,6''-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-1,6''-didésoxy- β -maltotriose **32**. Selon le schéma de rétrosynthèse proposé, le composé pourrait être obtenu par couplage entre le propargyle de méthacrylate et l'azoture de maltotriosyle **31**. Ce dernier devrait provenir de l'ouverture sélective du benzylidène du composé monoazidé **24** synthétisé à partir du maltotriose **22** (Schéma 31).

²⁸¹ Allen, J. D.; Thoma, J. A. *Biochemistry* **1978**, *17* (12), 2345–2350.

²⁸² Kobayashi, K.; Sumitomo, H.; Ina, Y. *Polym. J.* **1985**, *17* (4), 567–575.

²⁸³ Singh, R. S.; Saini, G. K.; Kennedy, J. F. *Carbohydr. Polym.* **2010**, *80* (2), 402–408.

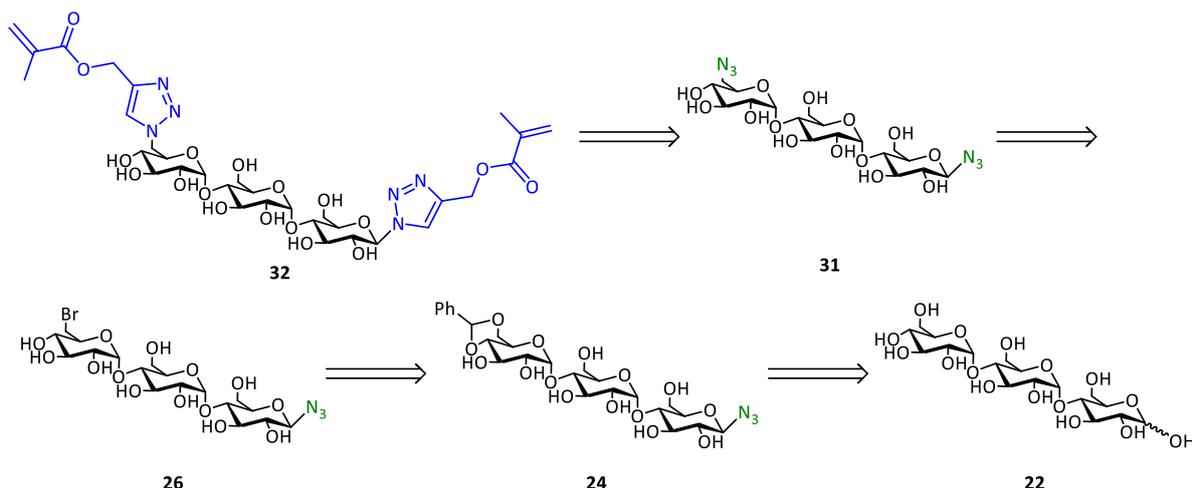


Schéma 31 : Stratégie de synthèse du 1,6''-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-1,6''-didésoxy-β-maltotriose.

Nous avons donc préparé dans un premier temps le dérivé **31** de maltotriose doublement substitué par des azotures en C-6'' et C-1 selon les procédures tirées de la littérature. En se basant sur les travaux de Shoda²⁸⁴, le maltotriose est d'abord azoturé directement en position anomérique par une réaction en milieu aqueux basique utilisant le sel de 2-chloroimidazolium (DMC) comme agent de couplage. Ces conditions ne requièrent aucune protection préalable des hydroxyles (**Schéma 32**).

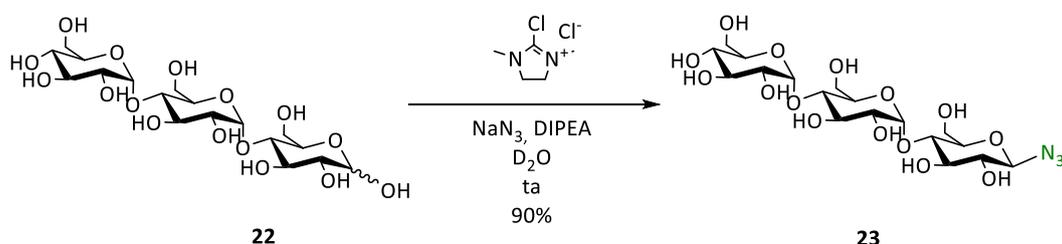


Schéma 32 : Azidation sélective du maltotriose.

Après une simple purification en phase normale, le composé monoazidé **23** de configuration β ($J_{H-1,H-2}=8.8$ Hz) est protégé à son extrémité non réductrice par un benzylidène lié en C-4'' et C-6'' et persubstitué par des benzoates. La transformation du produit protégé en maltotriose monobromé et monoazidé **25** a été effectuée en se basant sur les travaux de Hanessian^{285,286,287} et Hullar²⁸⁸ qui ont décrit la synthèse de sucres avec

²⁸⁴ Tanaka, T.; Nagai, H.; Noguchi, M.; Kobayashi, A.; Shoda, S.-I. *Chem. Commun.* **2009**, No. 23, 3378.

²⁸⁵ Hanessian, S. *Carbohydr. Res.* **1966**, 2 (1), 86–88.

²⁸⁶ Hanessian, S.; Plessas, N. R. *J. Org. Chem.* **1969**, 34 (4), 1045–1053.

²⁸⁷ Hanessian, S.; Plessas, N. R. *J. Org. Chem.* **1969**, 34 (4), 1053–1058.

substitution de l'hydroxyle en position 6 par un atome de brome après ouverture radicalaire sélective du benzylidène. Leur mode opératoire a donc été utilisé : le *N*-bromosuccinimide est ajouté à une solution désoxygénée du maltotriose protégé **23** et du carbonate de barium (BaCO_3) dans le tétrachlorométhane sous atmosphère inerte. Un traitement basique du mélange réactionnel après deux heures d'agitation à reflux devrait permettre d'obtenir le maltotriose bromé **25** en C-6'' (Schéma 33).

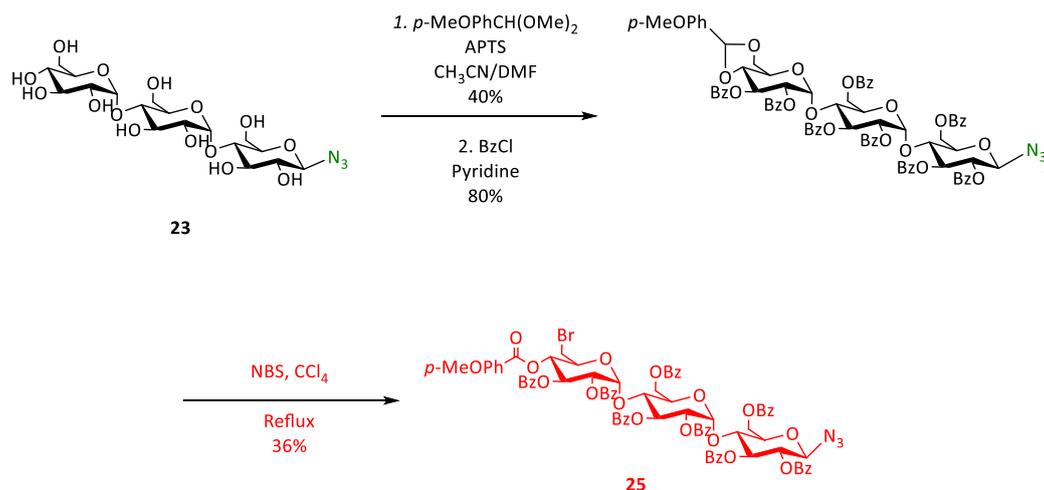


Schéma 33 : Essai de synthèse du 1,6''-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-1,6''-didésoxy- β -maltotriose.

Plusieurs essais de bromation du maltotriose protégé par un benzylidène ont donc été effectués *via* cette procédure, mais le produit désiré a été isolé avec de faibles rendements (<40%). Nous avons alors effectué une étude de la réaction de Hanessian-Hullar en faisant varier la température (de 0 °C à reflux), les quantités des réactifs engagés (de 1 à 2 équivalents de *N*-bromosuccinimide et de carbonate de barium) et le temps de réaction (de 15 min à 24 h). Dans toutes les conditions expérimentales, nous avons observé une consommation totale du produit de départ et une apparition d'un produit portant un hydroxyle en C-6''. Par ailleurs, une analyse par spectrométrie de masse a permis de confirmer la présence de dimères, générés probablement par l'intermédiaire de nitrènes issus de la décomposition de l'azoture²⁸⁹ en β (Figure 16).

²⁸⁸ Failla, D. L.; Hullar, T. L.; Siskin, S. B. *Chem. Commun.* **1966**, No. 20, 716.

²⁸⁹ Bräse, S.; Gil, C.; Knepper, K.; Zimmermann, V. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2005**, 44 (33), 5188–5240.

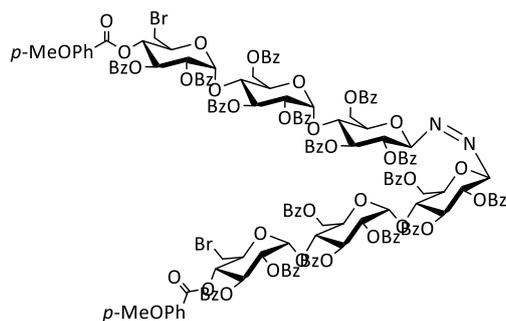


Figure 16 : Structure probable du dimère généré.

En effet, la réaction de Hanessian-Hullar se caractérise par la fragmentation radicalaire du *N*-bromosuccinimide²⁹⁰ et implique la formation d'espèces très réactives induisant des réactions secondaires en présence d'autres fonctions. Pour limiter l'impact de ces réactions secondaires, nous avons modifié la nouvelle voie de synthèse du produit désiré par introduction de l'azoture en β après l'ouverture régiosélective de l'acétal en C-4'' et C-6'' (Schéma 34).

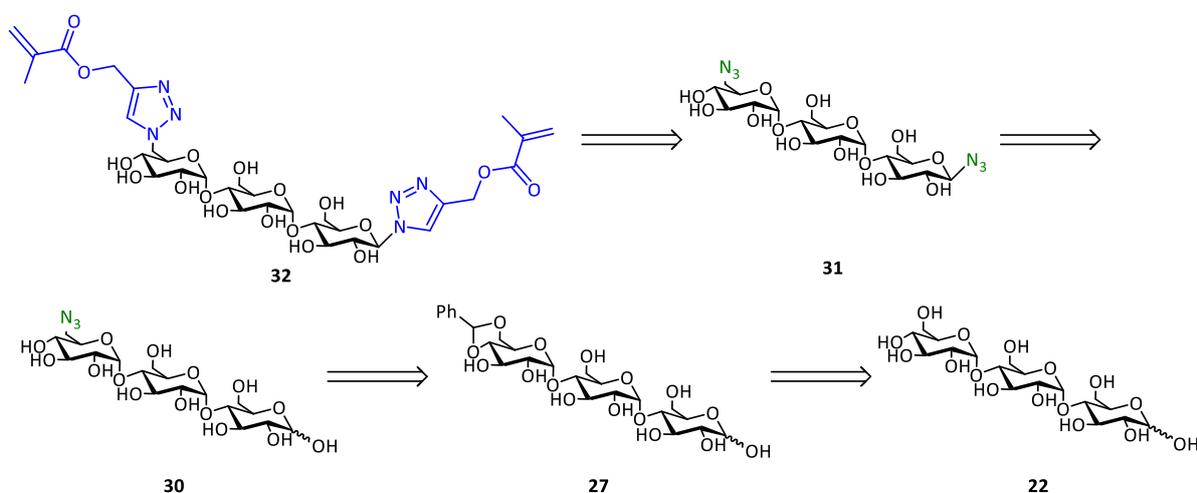


Schéma 34 : Nouvelle stratégie de synthèse du 1,6''-bis(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-1,6''-didésoxy- β -maltotriose.

La nouvelle voie de synthèse commence donc par la formation de l'acétal sur l'extrémité non réductrice du maltotriose pour obtenir le dérivé **27** (rendement de 60%) suivie par une perbenzoylation (rendement de 86% de **28**). L'acétal du maltotriose protégé **28** est ouvert sélectivement et bromé en C-6'' par la même procédure décrite précédemment (agitation à reflux de tous les réactifs sous atmosphère inerte dans le tétrachlorométhane). La suppression de l'azoture dans cette réaction de Hanessian-Hullar

²⁹⁰ Crich, D.; Yao, Q.; Bowers, A. A. *Carbohydr. Res.* **2006**, 341 (10), 1748–1752.

permet d'obtenir le produit monobromé **29** avec un rendement amélioré de 60% comparé aux 40% obtenus par la première approche. Une réaction de substitution avec l'azoture de sodium dans le diméthylformamide suivi d'une déprotection en condition basique par le méthanolate de sodium permet d'obtenir avec 95% de rendement un mélange anomérique ($\beta:\alpha < 6:4$) du 6''-azido-6''-deoxy-maltotriose **30**. La réaction de **30** avec l'azoture de sodium et le sel de 2-chloroimidazolium permet d'introduire efficacement un azoture exclusivement en position anomérique. Après purification par HPLC préparative, le maltotriose diazoturé **31** de configuration β ($J_{H-1,H-2}=8.8$ Hz) est directement engagé dans le couplage avec le méthacrylate de propargyle catalysé par du cuivre. Cette séquence réactionnelle nous a permis d'obtenir l'agent réticulant désiré, 1,6''-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-1,6''-didésoxy- β -maltotriose **32** avec un rendement de 71% après une double purification en phase normale puis phase inverse (Schéma 35).

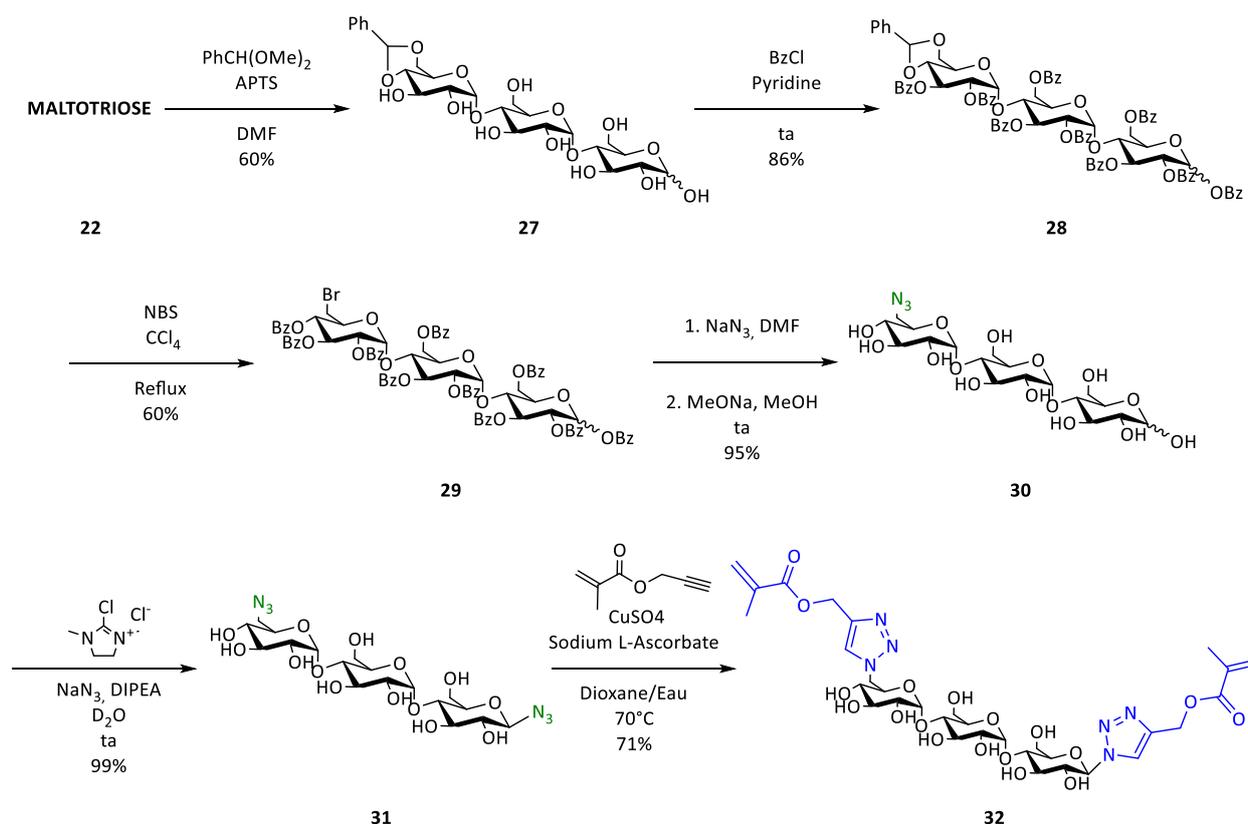


Schéma 35 : Synthèse du 1,6''-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-1,6''-didésoxy- β -maltotriose.

VI.2.4 Synthèses de nouveaux agents réticulants à partir des malto hexa-, hepta- et octasaccharides

Toujours dans le but d'obtenir des produits avec plusieurs sites de clivages enzymatiques potentiels, nous avons par la suite étudié la modification d'oligosaccharides plus longs. De plus, les agents réticulants synthétisés permettraient non seulement d'éloigner les chaînes de polymères, mais amélioreraient en plus les propriétés de flexibilité des polymères imprimés.

Nous nous sommes concentrés en particulier sur la fonctionnalisation des maltohexa-hepta- et octasaccharides dont la chaîne saccharidique serait modifiée en ses extrémités par des groupes polymérisables. Nous avons prévu que ces agents réticulants seraient obtenus par couplage entre le méthacrylate de propargyle et les chaînes saccharidiques substituées par des azotures. Ces derniers proviendraient de l'ouverture régiosélective des α -, β -, et γ -cyclodextrines selon une procédure mise au point dans notre laboratoire²⁹¹. Cette ouverture donnerait en effet un oligosaccharide linéaire perbenzoylé dont la position anomérique et la position 4 de l'extrémité non réductrice sont différenciées par des acétates (Schéma 36).

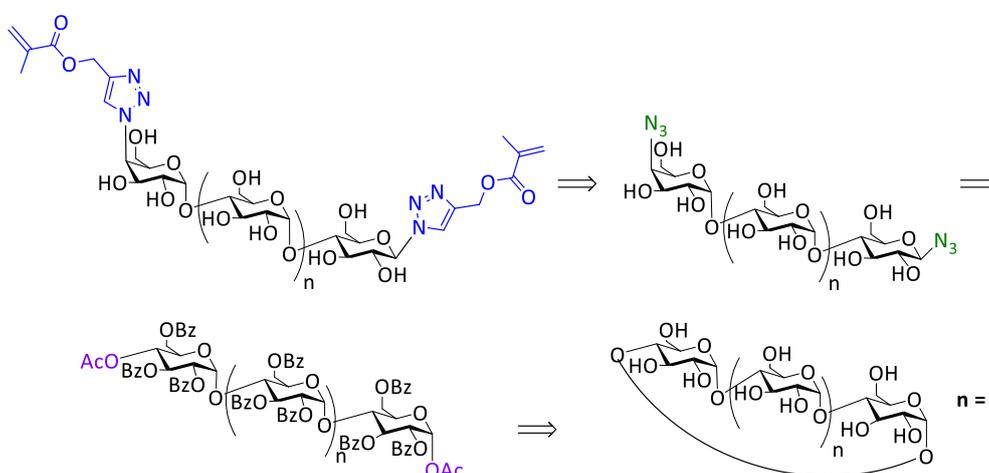


Schéma 36 : Stratégie de synthèse des agents réticulants à partir des malto hexa-, hepta- et octasaccharides.

Avant d'être employés dans les synthèses des agents réticulants, les α -, β -, et γ -cyclodextrines, conservées sous forme hydratée, ont d'abord été lyophilisées, perbenzoylées

²⁹¹ Lesur, D.; Gassama, A.; Moreau, V.; Pilard, S.; Djedaïni-Pilard, F. *Carbohydr. Res.* **2005**, 340 (6), 1225–1231.

par la méthode conventionnelle et isolées par précipitation²⁹². Les cyclodextrines perbenzoylées sont ensuite ouvertes sélectivement par acétolyse dans un mélange d'anhydride acétique et d'acide sulfurique pour obtenir des dérivés maltohexaose, -heptaose **35** et -octaose **36** acétylés en position anomérique α et en position 4 de la dernière unité saccharidique. Cependant, le dérivé maltohexaose issu de la α -cyclodextrine n'a pas pu être obtenu avec une pureté satisfaisante pour les réactions suivantes, malgré tous nos efforts pour le purifier.

Nous avons donc continué la synthèse en nous concentrant sur la fonctionnalisation des maltoheptaose **35** et -octaose **36** en les traitant avec l'azoture de triméthylsilyle en présence de triflate de triméthylsilyle. Cette méthode stéréosélective, inspirée des travaux de Lafont²⁹³, permet de mettre un azoture sur le carbone anomérique uniquement en position β pour donner les molécules **37** et **38** avec des rendements de 92% et 81%, respectivement.

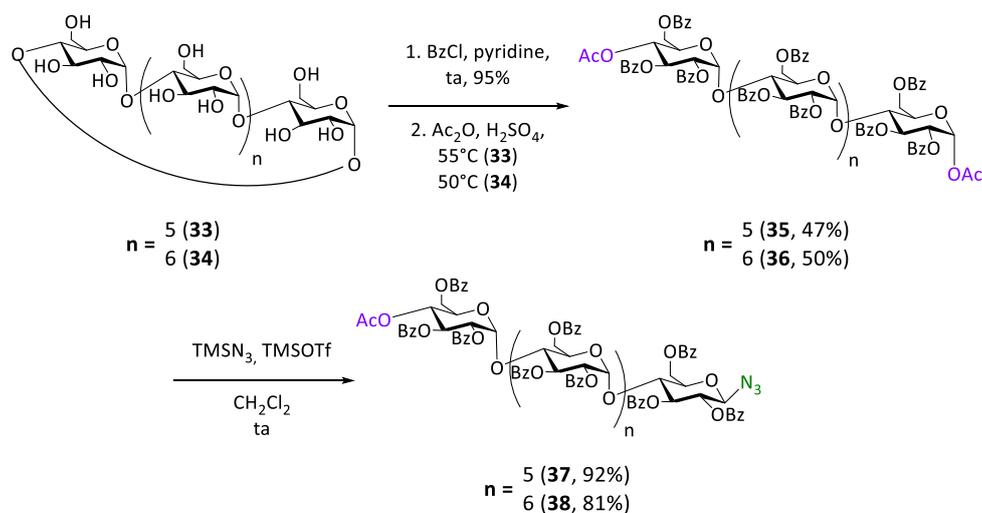


Schéma 37 : Synthèse des intermédiaires maltohepta- et octaoses.

Nous avons envisagé ensuite l'azidation de la position 4 de l'extrémité non réductrice. Différents essais de déprotection sélective de l'acétate ont été effectués en s'appuyant sur des procédures décrites dans la littérature^{294,295,296,297}.

²⁹² Boger, J.; Corcoran, R. J.; Lehn, J.-M. *Helv. Chim. Acta* **1978**, 61 (6), 2190–2218.

²⁹³ Lafont, D.; Boullanger, P.; Carvalho, F.; Vottero, P. *Carbohydr. Res.* **1997**, 297 (2), 117–126.

²⁹⁴ Zhu, W.; Gumina, G.; Schinazi, R. F.; Chu, C. K. *Tetrahedron* **2003**, 59 (34), 6423–6431.

²⁹⁵ Aljarah, M.; Couturier, S.; Mathé, C.; Périgaud, C. *Bioorganic Med. Chem.* **2008**, 16 (15), 7436–7442.

Comme nous pouvons le voir ci-dessous (Tableau 6), seul un traitement de **37** et **38** avec 40 équivalents d'une solution aqueuse à 64% d'hydrazine hydratée dans un mélange de pyridine et d'acide acétique (v:v, 1:1) à 60 °C pendant 7 h permet une conversion totale du produit de départ et donne les meilleurs rendements (Tableau 6, entrée 17). Ni l'utilisation de base comme la guanidine ou le méthanolate de sodium, ni le traitement avec des acides tels que l'acide tétrafluoroborique ne permettent l'accès au produit désiré sans dégradation notable ou bien le composé acétylé n'est pas complètement consommé (ce qui complique la purification, car il a le même R_f que le produit désacétylé) (Tableau 6, entrées 1-16).

Entrée	Réactif	Eq.	Solvant	Température	Temps	Rendement
1	NH ₄ OH	-	Dioxane	50°C	48 h	-
2	Et ₃ N/MeOH/H ₂ O (1/8/1)	-	-	ta	24 h	-
3	Guanidine	1	EtOH/CH ₂ Cl ₂ (8/2)		2 h	-
4	Guanidine	2	EtOH/CH ₂ Cl ₂ (8/2)		2 h	-
5	HBF ₄	-	MeOH		1 h	-
6	HBF ₄	-	MeOH		7 jours	-*
7	HCl	-	MeOH		1 h	-*
8	HCl	-	MeOH		14 jours	30%**
9	N ₂ H ₄ , 64% dans l'eau	1	Pyridine/Acide acétique (1/1)		ta	24 h
10		30		ta	3 h	-*
11		30		ta	4 jours	-*
12		10		60°C	3 h	41%**
13		30		60°C	4 h	55%**
14		30		60°C	12 h	80%**
15		30		100°C	10 min	-*
16		30		100°C	1 h	-*
17		40		60°C	7 h	51%

Tableau 6 : Essais de déprotection sélective du 1'-azido-1'-deoxy-4^{VIII}-O-acetyl-2^{I-VIII},3^{I-VIII},6^{I-VIII}-tetracos-O-benzoyl-β-maltooctaose **38**. *Dégradation de **38** ; **Mélange de **38** et de sous-produits.

²⁹⁶ Byramova, N.; Ovchinnikov, M. V.; Backinowsky, L. V.; Kochetkov, N. K. *Carbohydr. Res.* **1983**, 124 (1), C8–C11.

²⁹⁷ Kunesch, N.; Miet, C.; Poisson, J. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28 (31), 3569–3572.

Après une rapide purification par chromatographie en phase normale, les maltoheptaose et -octaose monoazidés **39** et **40** (obtenus respectivement avec des rendements de 50% et 51%) ont été immédiatement traités avec l'anhydride triflique de -20 °C à température ambiante pour créer un nucléofuge et engagés dans une réaction de substitution nucléophile en présence d'azoture de sodium dans le diméthylformamide. Une déprotection par le méthanolate de sodium suivie d'une purification par HPLC préparative nous permet d'avoir enfin les maltoheptaose et -octaose diazoturés **40** et **41** en positions 4 et anomérique. Les composés diazoturés sont couplés au méthacrylate de propargyle par « click » pour obtenir les produits désirés **43** et **44** (Schéma 38) :

- 1'-désoxy-1'-(4-méthacryloylméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-4^{VI}-O-[4-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-4-désoxy- α -D-galactopyranosyl]- β -maltohexaose **43** avec 81% de rendement.
- 1'-désoxy-1'-(4-méthacryloylméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-4^{VII}-O-[4-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)-4-désoxy- α -D-galactopyranosyl]- β -maltoheptaose **44** avec 87% de rendement.

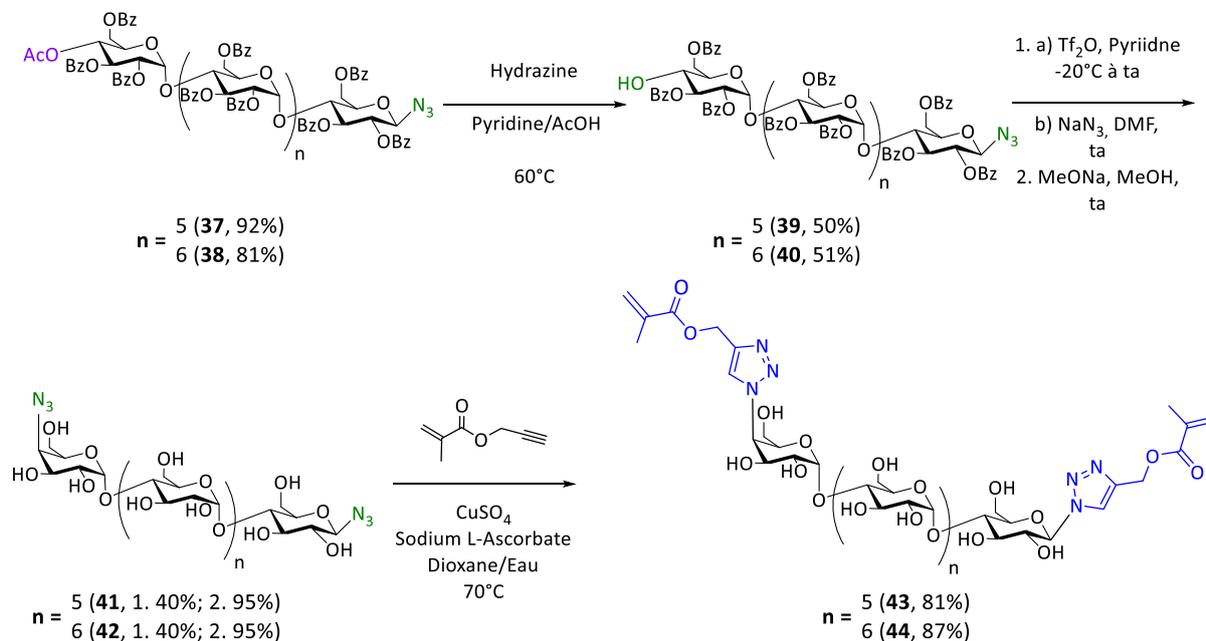


Schéma 38 : Synthèses de **43** et **44**.

L'introduction de cycles triazole en position anomérique de l'extrémité réductrice et en position 4 de l'extrémité non réductrice modifie leur environnement chimique et permet d'avoir un spectre RMN ¹H avec de signaux éclatés. Comme on peut le voir pour l'agent

réticulant **43** dérivé du maltoheptaose, on peut dès lors identifier aisément le proton anomérique H-1^I (signal **a**, 5.80 ppm, $J_{H-1,H-2} = 8.5$ Hz) et le proton H-4^{VII} en position 4 de l'unité galactosyle (signal **b**, 5.22 ppm, $J_{H-4,H-3} = 2.3$ Hz, $J_{H-4,H-5} = 5.3$ Hz) (Figure 17).

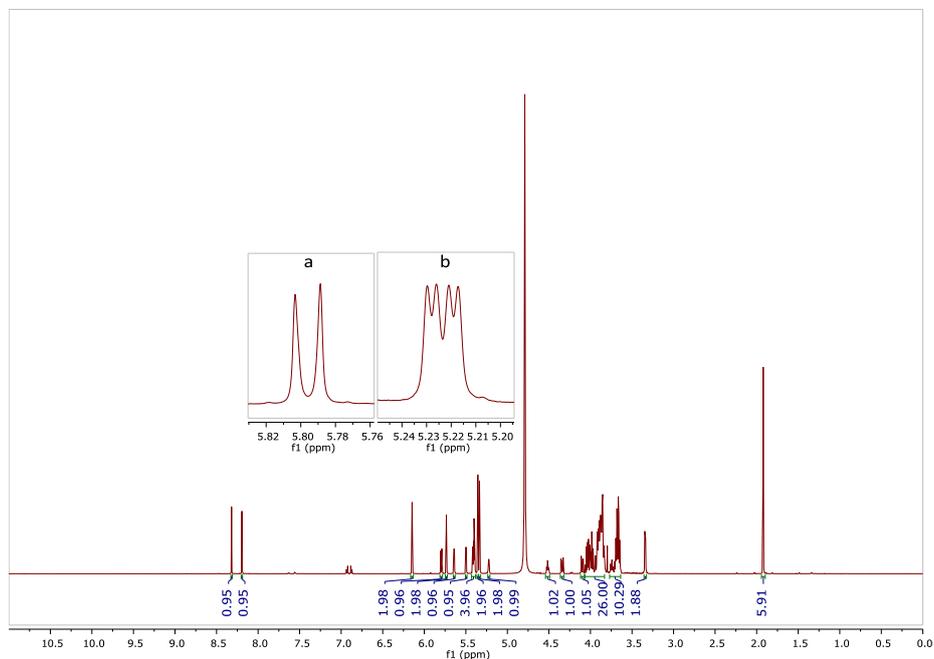


Figure 17 : Spectre RMN ¹H de l'agent réticulant **43** dérivé du maltoheptaose (600 MHz, D₂O, 25°C).

Grâce à l'analyse RMN ¹³C, nous avons pu également identifier le carbone anomérique C-1^I (signal **c**, 87.32 ppm) et le carbone 4 (signal **d**, 62.39 ppm) de l'unité galactosyle, tous deux fortement déblindés à cause de la présence des triazoles. (Figure 18).

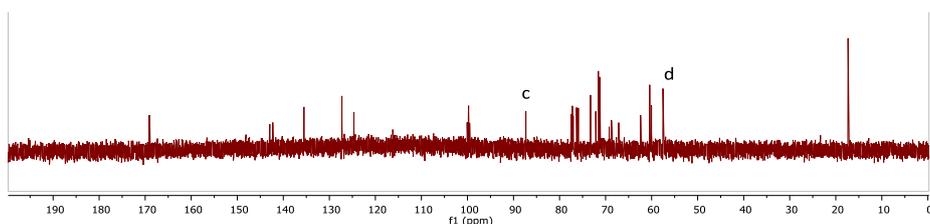


Figure 18 : Spectre RMN ¹³C de l'agent réticulant **43** dérivé du maltoheptaose (600 MHz, D₂O, 25°C).

Nous avons pu également attribuer certains signaux caractéristiques de l'agent réticulant **44** dérivé du maltooctaose : le proton anomérique H-1^I (5.72 ppm, $J_{H-1,H-2} = 8.5$ Hz), le carbone anomérique C-1^I (87.39 ppm) et le carbone 4 de l'unité galactoside (62.51 ppm).

VI.2.5 Synthèse d'un nouvel agent réticulant dérivé du maltose fonctionnalisé avec un fluorophore

Comme souligné dans les chapitres précédents, les polymères à empreintes moléculaires sont des matériaux multifonctionnels capables de reconnaître et de se lier spécifiquement à une molécule. Les applications cliniques étant le but final de notre projet, il est important de pouvoir comprendre leur interaction avec les principes actifs, leur morphologie et notamment de pouvoir suivre leur dégradation enzymatique en étudiant leur cinétique ainsi que les sites de clivage. Nous avons donc été amenés à enrichir notre librairie de molécules polymérisables par des agents réticulants sur lesquels sont greffés des fluorophores.

Dans cette optique, nous avons choisi un dérivé propargylique de la 5-carboxytétraméthylrhodamine, fluorophore fréquemment utilisé pour des études biomédicales^{298,299}, pour être couplé au 3-azido-1-[4-O-(6-O-méthacryloyl)- α -D-glucopyranosyl]-6-O-méthacryloyl-1-thio-D-glucopyranosyl]-propane **50**, agent réticulant synthétisé à partir du maltose.

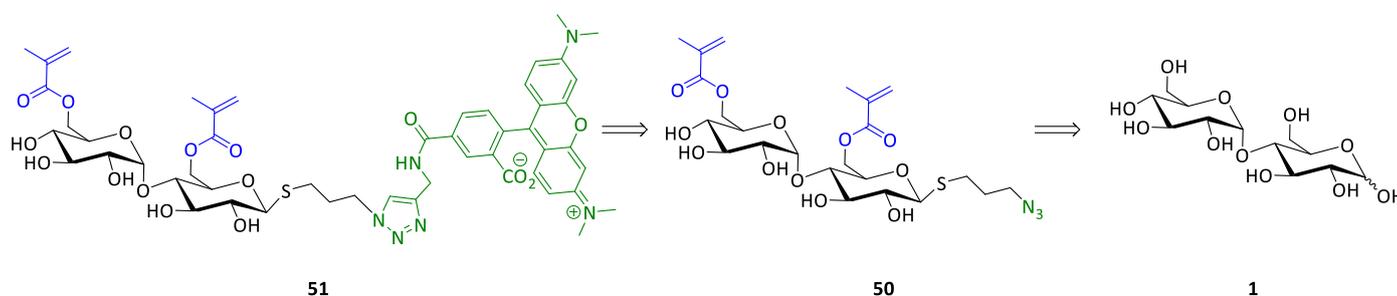


Schéma 39 : Stratégie de synthèse du dérivé 51.

Dans cette approche, le maltose **1** est peracétylé avant d'obtenir le maltose heptaacétylé par déprotection sélective avec de l'acétate d'hydrazine. Par une procédure décrite largement utilisée au laboratoire²⁷⁴, cette molécule est bromée sélectivement en position anomérique (composé **46** de configuration α) avec de l'acide bromique. Le dérivé bromé est soumis à un traitement successif une solution de thiourée dans l'acétone puis de bromopropanol. Le thiomaltoside **47** est facilement purifié par chromatographie en phase

²⁹⁸ Hu, J.-J.; Liu, L.-H.; Li, Z.-Y.; Zhuo, R.-X.; Zhang, X.-Z. *J. Mater. Chem. B* **2016**, 4 (11), 1932–1940.

²⁹⁹ Hnedzko, D.; McGee, D. W.; Rozners, E. *Bioorganic Med. Chem.* **2016**, 24 (18), 4199–4205.

VI. Résultats et Discussion : Synthèse de Nouveaux Monomères Fonctionnels et Agents Réticulants à Partir de Sucres

normale sur silice et est obtenu en un mélange anomérique où β est très majoritaire ($\beta:\alpha >9:1$). L'hydroxyle situé sur l'extrémité du bras espaceur est ensuite transformé en azoture par traitement avec la méthode développée au laboratoire²⁷³ et décrite précédemment. Une déprotection en milieu basique au méthanolate de sodium du produit protégé **48** permet d'obtenir un thiomaltoside monoazidé **49**. Par estérification à l'aide de la réaction de Mitsunobu avec nos conditions optimisées, la molécule diméthacrylate **50** est obtenue avec 43% de rendement. Une réaction « click » pour coupler le bras espaceur et le fluorophore propargylé (5-carboxytétraméthylrhodamine propargylamide, 5-TAMRA alcyne) nous donne le produit désiré **51** avec un rendement de 54% (Schéma 40).

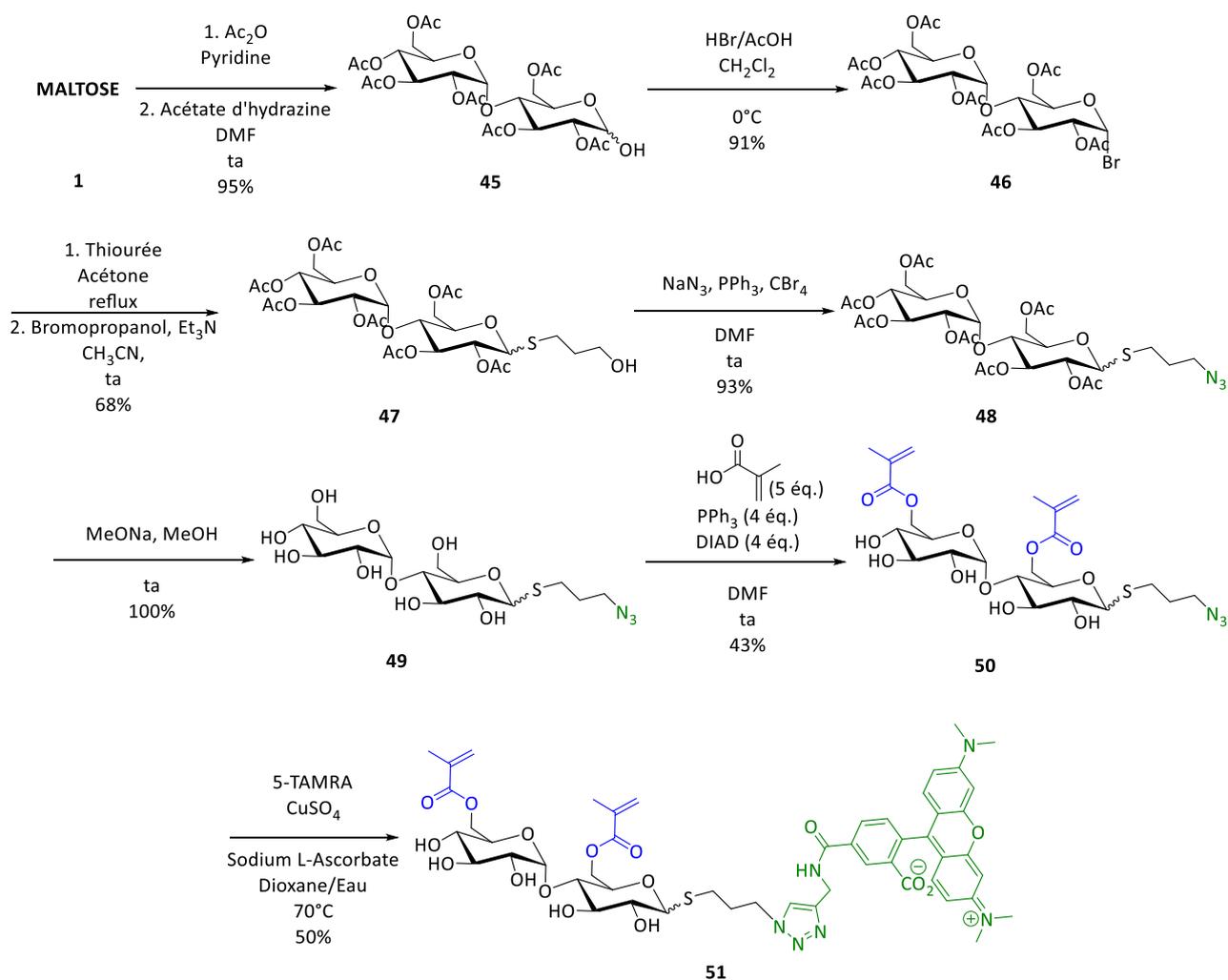


Schéma 40 : Synthèse de l'agent réticulant **51** greffé au fluorophore.

VII. RESULTATS ET DISCUSSION : ETUDE *IN VITRO* DE
LA DEGRADATION ENZYMATIQUE DES
NOUVEAUX MONOMERES FONCTIONNELS ET
AGENTS RETICULANTS A BASE DE SUCRES

*« Je sais pourquoi tant de gens aiment couper du bois. C'est une activité où l'on voit tout
de suite le résultat. »*

Albert Einstein

VII.1 Généralités sur la dégradation enzymatique de molécules polymérisables

L'utilisation de polymères pour des applications cliniques implique l'élaboration de matériaux biodégradables facilement clivables par voie chimique ou par voie enzymatique. Dans la littérature, les dégradations par voie chimique reposent généralement sur des hydrolyses en conditions expérimentales éloignées des milieux physiologiques³⁰⁰. Quant aux dégradations *in vitro* par voie enzymatique, elles ont l'avantage de pouvoir se rapprocher des conditions physiologiques et d'utiliser des enzymes spécifiques pour le clivage des chaînes de polymères ou des agents réticulants composant le polymère³⁰¹. Cependant, plusieurs facteurs influencent la dégradation comme la composition des matériaux, la présence d'excipients et de principes actifs, la technique de préparation, le pH ou la température, et rendent difficile la prédiction de sa cinétique^{300,301}.

Par ailleurs, la modification de molécules biodégradables peut conduire des produits non dégradables. Cela a été observé pour la dégradation effectuée sur des chitosanes ayant différents degrés d'acétylation^{302,303} ou pouvant être réticulés³⁰⁴ qui se sont révélés partiellement dégradables par un lysozyme. Dans le cadre de notre étude, nous avons voulu ainsi évaluer au préalable la dégradation de nos nouveaux monomères fonctionnels et agents réticulants. L'hydrolyse des liaisons glycosidiques des agents réticulants permettrait de déstructurer le matériau polymérique et rendre ainsi les chaînes de polymère non réticulées plus facilement biodégradables (Figure 19).

³⁰⁰ Engineer, C.; Parikh, J.; Raval, A. *Trends Biomater. Artif. Organs* **2011**, *25* (2), 79–85.

³⁰¹ Azevedo, H.; Reis, R. In *Biodegradable Systems in Tissue Engineering and Regenerative Medicine*; CRC Press, **2004**; pp 177–202.

³⁰² Nordtveit, R. J.; Vårum, K. M.; Smidsrød, O. *Carbohydr. Polym.* **1996**, *29* (2), 163–167.

³⁰³ Tomihata, K.; Ikada, Y. *Biomaterials* **1997**, *18* (7), 567–575.

³⁰⁴ Mi, F.-L.; Tan, Y.-C.; Liang, H.-C.; Huang, R.-N.; Sung, H.-W. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2001**, *12* (8), 835–850.

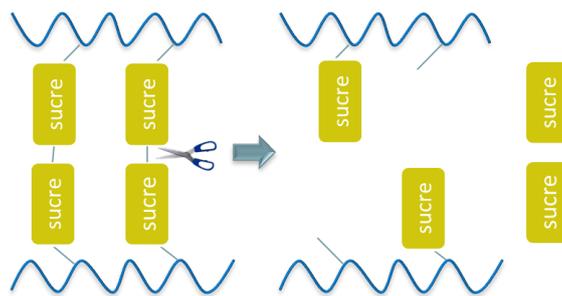


Figure 19 : Représentation générale de la dégradation des polymères à empreintes moléculaires à base de sucres.

VII.2 Dégradation enzymatique de dérivés de tréhalose

Pour réaliser cette étude, nous avons utilisé la tréhalase, qui est une glycosidase qui catalyse la dégradation du α,α -tréhalose. Très répandue dans la nature et notamment dans l'intestin grêle de l'homme, cette enzyme hydrolyse le tréhalose en coupant sa liaison glycosidique pour donner deux molécules de glucose^{305,306} :



Bien que la tréhalase puisse provenir de plusieurs sources (bactéries, insectes, animaux)³⁰⁶, c'est celle de rein de porc qui a été choisie car elle est commercialement disponible et pas chère. Pour effectuer les dégradations, les différentes molécules polymérisables ont été incubées *in vitro* à 37 °C pendant 4h30 dans un milieu aqueux tamponné à pH 5.7 en présence de tréhalase.

Pour le 6,6'-di-*O*-méthacryloyl- α,α -tréhalose **4**, nous avons observé une première hydrolyse de l'un de ses esters suivie assez rapidement de la coupure glycosidique de l'intermédiaire monoestérifié **5**. La dégradation fournit ainsi un glucose et son dérivé **52** portant un méthacrylate en position 6, détecté par LC-MS. Il est à noter que nous n'avons pas observé l'apparition directe de deux glucoses polymérisables issus du clivage de la liaison glycosidique de l'agent réticulant **4** (Schéma 41). Ce mécanisme suggère que le site actif de la tréhalase devrait préalablement reconnaître une unité glucose non modifiée pour catalyser la réaction. Cette spécificité de l'enzyme a d'ailleurs été décrite dans la littérature

³⁰⁵ Labat, J.; Baumann, F.; Courtois, J.-É. *Carbohydr. Res.* **1973**, 26 (2), 341–349.

³⁰⁶ Mori, H.; Lee, J. H.; Okuyama, M.; Nishimoto, M.; Ohguchi, M.; Kim, D.; Kimura, A.; Chiba, S. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2009**, 73 (11), 2466–2473.

où plusieurs travaux montrent la dégradation exclusive de dérivés monofonctionnalisés de tréhalose^{307,308}.

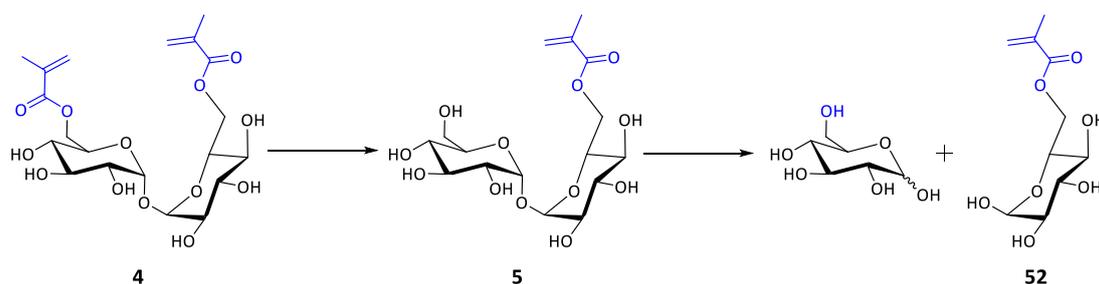


Schéma 41 : Dégradation du 6,6'-di-O-méthacryloyl- α,α -tréhalose par la tréhalase à 37 °C pendant 4h30, pH 5.7.

Concernant la dégradation 6-O-méthacryloyl- α,α -tréhalose **5**, il n'est pas alors surprenant que l'enzyme ait clivé directement le monomère en conduisant à l'apparition du 6-O-méthacryloyl-D-glucose **52**.

En revanche, le 6,6'-didésoxy-6,6'-diméthacrylamido- α,α -tréhalose **13** n'a pas été dégradé dans ces conditions. En effet, comme mentionné précédemment, cet agent réticulant devrait subir une hydrolyse de l'un de ses amides pour pouvoir être reconnu par l'enzyme. Cependant, les conditions douces utilisées (pH 5.7 à 37°C) ne permettent pas à l'amide d'être clivé, cette réaction d'hydrolyse nécessite des conditions expérimentales sévères (acide fort ou base forte, température élevée)³⁰⁹.

Quant au tréhalose **19** portant deux triazoles polymérisables, nous avons observé une hydrolyse de l'un des esters conduisant rapidement à la formation de l'intermédiaire **53**. Sa seconde fonction ester est alors hydrolysée à son tour avec toutefois une cinétique assez lente par rapport à la première hydrolyse. Cependant, malgré un temps d'incubation de plus de 24 heures, nous n'avons jamais observé de coupure de la liaison glycosidique. Ce constat renforce ainsi l'hypothèse d'une reconnaissance par l'enzyme dépendante d'une unité glucose non modifiée sur la position 6 (Schéma 42).

³⁰⁷ Guilloux, E. R.; Defaye, J.; Bell, R. H.; Horton, D. *Carbohydr. Res.* **1971**, *20* (2), 421–426.

³⁰⁸ Belocopitow, E.; Marechal, L. R.; Gros, E. O. *Carbohydr. Res.* **1971**, *19* (2), 268–271.

³⁰⁹ Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S. G. *Chimie organique*; De Boeck, **2013**.

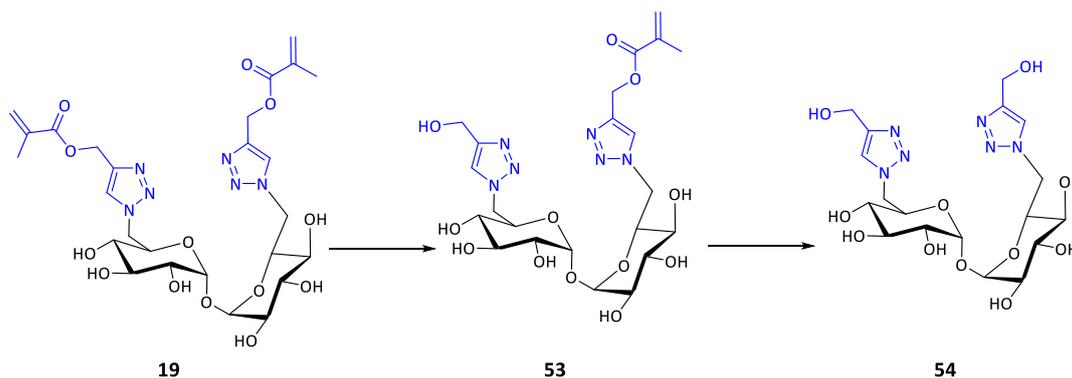


Schéma 42 : Dégradation du 6,6'-didésoxy-6,6'-bis-(4-méthacryloyloxyméthyl-1,2,3-triazol-1-yl)- α,α -tréhalose par la tréhalase à 37 °C pendant 4h30, pH 5.7.

Il est à noter que tous ces dérivés de tréhalose ont été aussi incubés sans l'enzyme. Aucun produit provenant d'une hydrolyse des esters ou du clivage de la liaison glycosidique n'a été observé.

VII.3 Dégradation enzymatique de dérivés de maltose

Pour cette étude, le choix des enzymes clivant les liaisons α , 1-4 étant vaste, notre préférence s'est portée premièrement sur l' α -glycosidase de *Saccharomyces cerevisiae*. C'est une maltase communément utilisée et dont le mécanisme d'action a été largement établi^{310,311}. Bien que le test de dégradation avec la *p*-nitrophényl- α -D-glucoside s'est avéré positif dans un milieu aqueux tamponné à pH 6.8 à 37 °C, ces conditions légèrement acides n'ont pas permis de dégrader le premier dérivé testé, le 6,6'-di-*O*-méthacryloyl- β -maltoside de méthyle **8**. Le site actif de l'enzyme reconnaissant une unité glucose à l'instar de la tréhalase, nous avons suspecté que l'acidité du milieu n'était pas suffisamment élevée pour induire l'hydrolyse de l'un des esters.

Pour surmonter ce problème, nous avons opté pour la α -glycosidase d'*Aspergillus niger*, une enzyme active à pH 4.0. C'est donc dans un milieu tamponné à ce pH et à 37 °C que nous avons effectué l'étude de dégradation des monomères et agents réticulants issus du maltose. Après un temps d'incubation de 48 heures, nous avons détecté les produits **9** et **10** à 19.2 min, correspondant à l'hydrolyse de l'un des esters de la molécule **8** mais nous avons constaté l'absence de composés pouvant provenir d'une coupure glycosidique de ces

³¹⁰ Withers, S. G. *J. Biol. Chem.* **1996**, 271 (12), 6889–6894.

³¹¹ Yamamoto, K.; Nakayama, A.; Yamamoto, Y.; Tabata, S. *Eur. J. Biochem.* **2004**, 271 (16), 3414–3420.

derniers (Schéma 43). L'incubation uniquement du monoester de maltose **9** synthétisé n'a également présenté aucune dégradation.

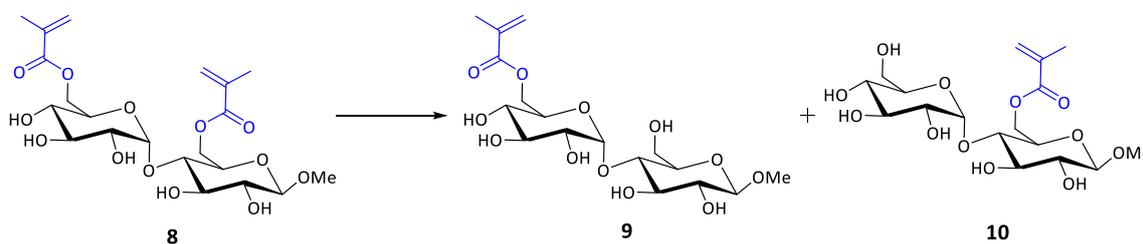


Schéma 43 : Dégradation du 6,6'-di-O-méthacryloyl- β -maltoside de méthyle par α -glycosidase d'*Aspergillus niger* à 37 °C pendant 48 h, pH 4.0.

Dans les mêmes conditions enzymatiques à pH 4.0, cette unique dégradation par hydrolyse d'un ester a été aussi observée lors de l'incubation du précurseur azoturé **50** qui a conduit à la formation des monomères **55** et **56** (T_R : 14.7 min) (Schéma 44). Le clivage du disaccharide n'a pas été observé.

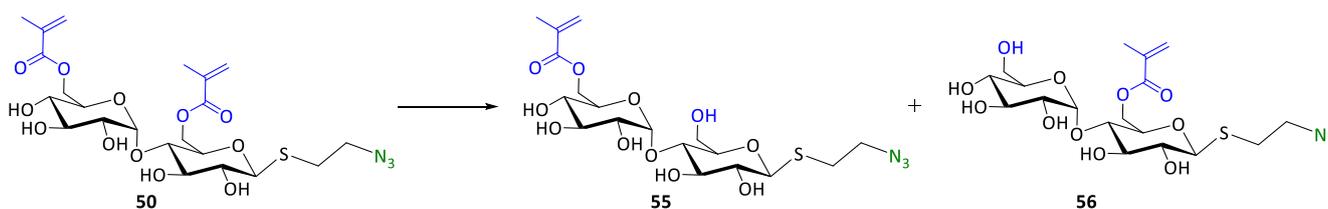


Schéma 44 : Dégradation du précurseur **50** de l'agent réticulant portant un bras espaceur par α -glycosidase d'*Aspergillus niger* à 37 °C pendant 48 h, pH 4.0.

Lors de l'incubation du composé ditriazole **21**, nous avons observé une première hydrolyse conduisant aux épimères monoestérifiés **57** et **58** (T_R : 19.1 min, 19.8 min et 20.2 min) suivie d'une deuxième hydrolyse. Les produits **59** ont ainsi été détectés à des temps de rétention de 11.9 min et 12.7 min (les deux anomères sont observés) (Schéma 45).

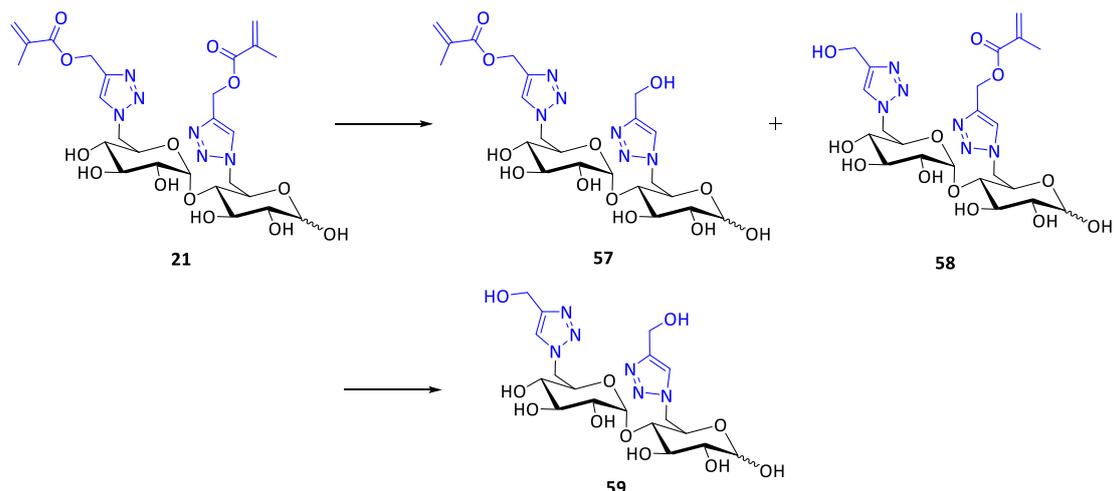


Schéma 45 : Dégradation du **21** par α -glycosidase d'*Aspergillus niger* à 37 °C pendant 48 h, pH 4.0.

Ce comportement est probablement dû à la spécificité de l'enzyme employée dont le site actif ne reconnaît pas des analogues du maltose substitués sur une position 6. Toutefois, l'hydrolyse chimique ou enzymatique par des lipases s'avère aussi intéressante que des hydrolyses d'oligosaccharides par des glycosidases, car dans les deux cas, l'agent réticulant est clivé (Figure 20).

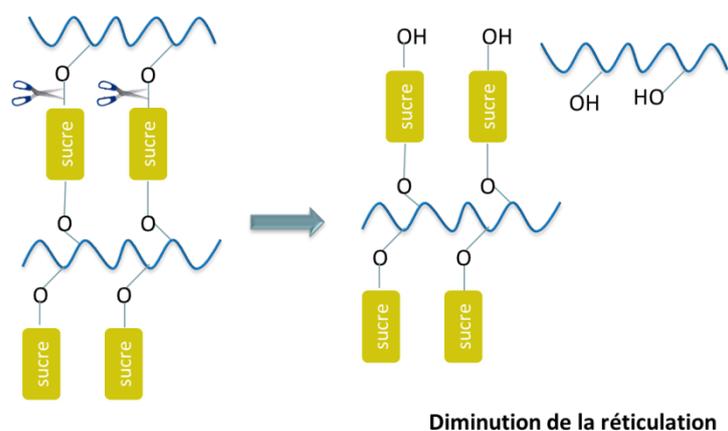


Figure 20 : Représentation générale de la diminution de la réticulation par dégradation enzymatique.

VII.4 Dégradation enzymatique de dérivé de maltotriose

Dans les mêmes conditions de dégradation que celles utilisées pour les dérivés de maltose (α -glycosidase d'*Aspergillus niger* à 37 °C pendant 48 h, pH 4.0), nous avons également étudié l'hydrolyse de l'agent réticulant **32** dérivé du maltotriose. Ce dernier, dont les unités glucosidiques ne sont pas toutes substituées, devrait être plus sensible à l'action

des glycosidases. Nous avons détecté les produits **60** et **61** (T_R : 19.9 min) issus du clivage d'une seule liaison ester, mais nous n'avons pas observé l'hydrolyse totale des deux fonctions ester, ni l'hydrolyse du trisaccharide (Schéma 46).

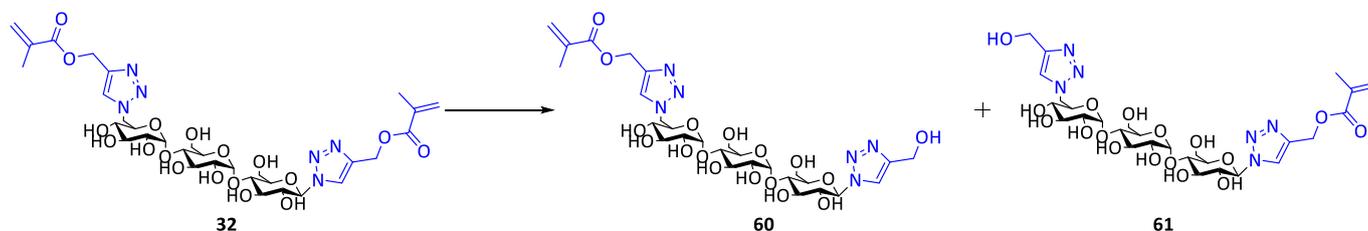


Schéma 46 : Dégradation **32** par α-glycosidase d'*Aspergillus niger* à 37 °C pendant 48 h, pH 4.0.

Pourtant les conditions de dégradation (α-glycosidase d'*Aspergillus niger*, tampon pH 4, incubation pendant 48 heures à 37°C) auraient dû permettre le clivage total des esters comme ce fut le cas pour les dérivés de tréhalose et de maltose portant des triazoles.

VII.5 Dégradation enzymatique de dérivés des maltohepta- et octa-saccharides

Pour augmenter les possibilités d'hydrolyse par des glycosidases, nous avons étudié la dégradation des agents réticulants **43** et **44** ayant sept et huit unités saccharidiques. Dans les conditions acides décrites précédemment (pH 4.0) et en présence d'α-glycosidase d'*Aspergillus niger*, nous avons observé la présence de plusieurs composés dans les échantillons analysés par chromatographie liquide. Par la spectrométrie de masse, nous avons pu identifier les trisaccharides monosubstitués portant un acrylate **62** et **63** (T_R : 18.0 min, 18.3 min), les trisaccharides **65** et **66** dont l'ester méthacrylique a été hydrolysé (T_R : 6.0 min, 6.3 min) et les monosaccharides **64** et **67** (T_R : 18.8 min, 19.0 min) (Schéma 47).

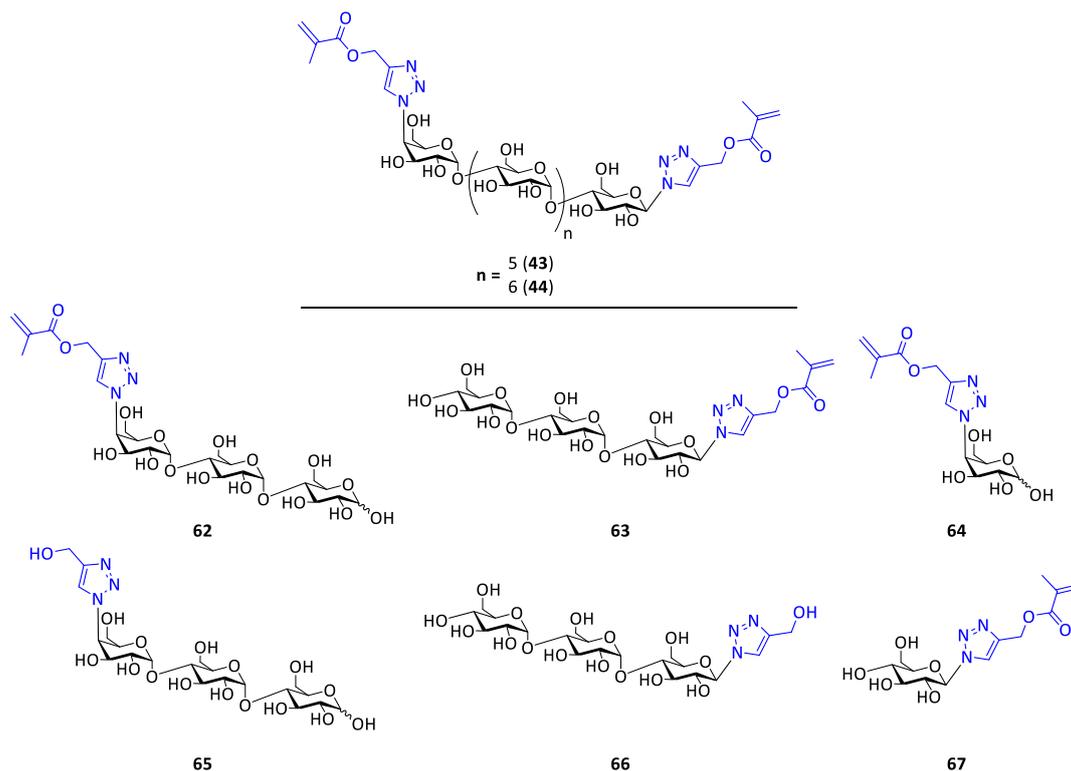


Schéma 47 : Dégradation des agents réticulants **43** et **44** issus des hepta- et octasaccharides par α -glycosidase d'*Aspergillus niger* à 37 °C pendant 48 h, pH 4.0.

Comme nous l'avons prévu dans notre hypothèse, l'augmentation du nombre d'unités saccharidiques a permis d'avoir des molécules plus susceptibles au clivage enzymatiquement des liaisons glycosidiques. De plus, au regard des analyses effectuées sur la dégradation des autres agents réticulants et monomères fonctionnels, il n'est pas surprenant d'observer une hydrolyse de leurs esters. Toutefois, vu les données récoltées, il nous est impossible de définir la séquence de formation de ces composés même si, l'analyse de leur structure chimique suggère que l'hydrolyse glycosidique se déroule en premier.

VIII. RESULTATS ET DISCUSSION : ETUDE DE LA
SYNTHESE DES POLYMERES A EMPREINTES
MOLECULAIRES A BASE DE SUCRES

« On fait la science avec des faits, comme on fait une maison avec des pierres : mais une accumulation de faits n'est pas plus une science qu'un tas de pierres n'est une maison. »

Henri Poincaré

Comme nous l'avons observé précédemment, les agents réticulants et les monomères fonctionnels synthétisés se dégradent en conditions enzymatiques soit par hydrolyse des fonctions polymérisables, soit par clivage des liaisons glycosidiques. De plus, leur structure chimique caractérisée par une grande quantité d'hydroxyles rend ces molécules dérivées de ressources naturelles idéales pour la confection de polymères imprimés biodégradables hydrosolubles.

Des études préliminaires de la synthèse de polymères imprimés et non imprimés ont été conduites au sein du laboratoire de Génie Enzymatique et Cellulaire dirigé par le professeur Karsten Haupt. Nous avons étudié leur polymérisation sous forme de films, analysé le caractère hydrophile des films et observé leur comportement dans un milieu enzymatique. L'étude de la dégradation de ces matériaux donnera des informations sur la possible biodégradabilité de ces polymères à empreintes moléculaires à base d'agents réticulants et monomères fonctionnels dérivés de sucres.

Nous avons également étudié la polymérisation de polymères imprimés sous forme de nanoparticules. Nous avons ensuite évalué le pouvoir de reconnaissance de tous ces polymères imprimés et non imprimés.

VIII.1.1 Films de copolymères non imprimés à base de monomère et d'agents réticulants dérivés de sucres.

VIII.1.2 Synthèse de film de copolymère non imprimé à partir du monomère fonctionnel 5 dérivé du tréhalose

Dans un premier temps, nous avons synthétisé des films à partir du 6-*O*-méthacryloyl- α,α -tréhalose **5** (0.5 mmol) ([Figure 21](#)) par copolymérisation avec un agent réticulant classique (triéthylène glycol diméthacrylate, TEGDMA, 2 mmol) en dans le DMSO (32%, m/m) et amorcé par voie photochimique avec la 2,2-diméthoxy-2-phénylacétophénone (DPAP). Après 20 minutes de polymérisation, les films ont été lavés à l'éthanol, séchés, et caractérisés par microscopie électronique à balayage environnemental (ESEM) et par microscope à force atomique (AFM). Nous avons alors étudié l'hydrophilie de ce monomère par rapport à d'autres monomères classiques (méthacrylate de méthyle

(MMA), hydroxyéthylméthacrylate (HEMA)) copolymérisés dans les mêmes conditions. Des images de la condensation de gouttelette d'eau sur ces films ont alors été prises.

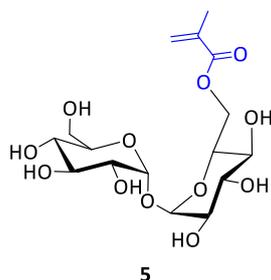


Figure 21 : 6-*O*-méthacryloyl- α,α -tréhalose 5.

Comme on peut le voir, le film de copolymère à base du 6-*O*-méthacryloyl- α,α -tréhalose 5 est aussi polaire que celui fait à partir de HEMA. En effet, leurs gouttelettes d'eau s'étaient de manière équivalente et occupent plus de surface que les gouttelettes des films à base de MMA. Il est à noter que nous avons constaté que la condensation était plus rapide sur le film à base de monomère de sucre (Figure 22)

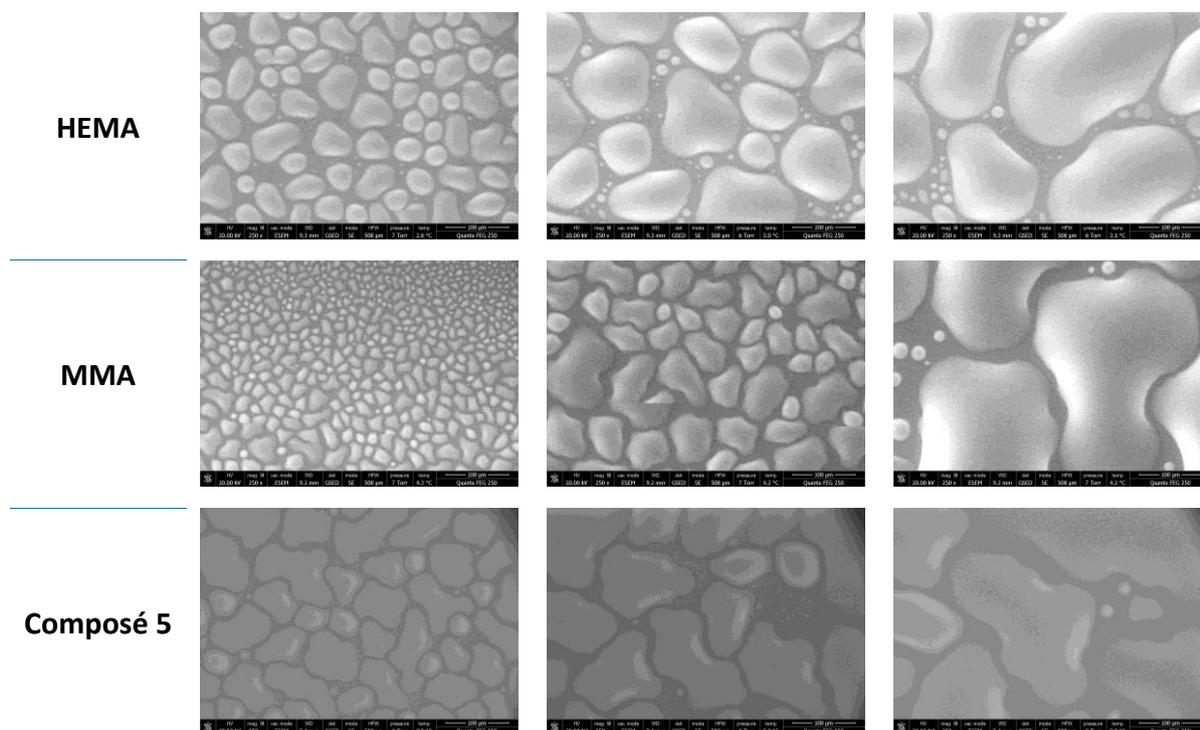


Figure 22 : Images ESEM de l'évolution en fonction du temps de la condensation de gouttelettes d'eau sur des films de copolymère à base de TEGDMA et de différents monomères fonctionnels (6-*O*-méthacryloyl- α,α -tréhalose 5, HEMA, MMA) (8 mm = 100 μ m).

Le caractère hydrophile de notre monomère fonctionnel a été aussi analysé par mesure de l'angle de contact d'une goutte d'eau sur les films. L'angle de contact le plus

faible a été obtenu sur les films à base du 6-*O*-méthacryloyl- α,α -tréhalose **5**. Ceci confirme ainsi que l'hydrophilie des films est améliorée par rapport à celle conférée par les monomères fonctionnels usuels (Tableau 7).

	6- <i>O</i> -méthacryloyl- α,α -tréhalose 5	HEMA	MMA
Angle de contact (°)	18.8 ± 0.3	44.5 ± 0.7	53.5 ± 0.9

Tableau 7 : Angles de contact d'une goutte d'eau sur des films de copolymère à base de TEGDMA et de différents monomères fonctionnels (6-*O*-méthacryloyl- α,α -tréhalose **5**, HEMA, MMA).

Nous avons aussi étudié la structure et la porosité des films à base de HEMA et de **5** par AFM. Nous avons observé que la morphologie des deux films est très opposée : le film à base d'HEMA est peu poreux et peu rugueux (16 nm) alors que celui à base du composé **5** est très poreux et rugueux (78 nm) (Figure 23).

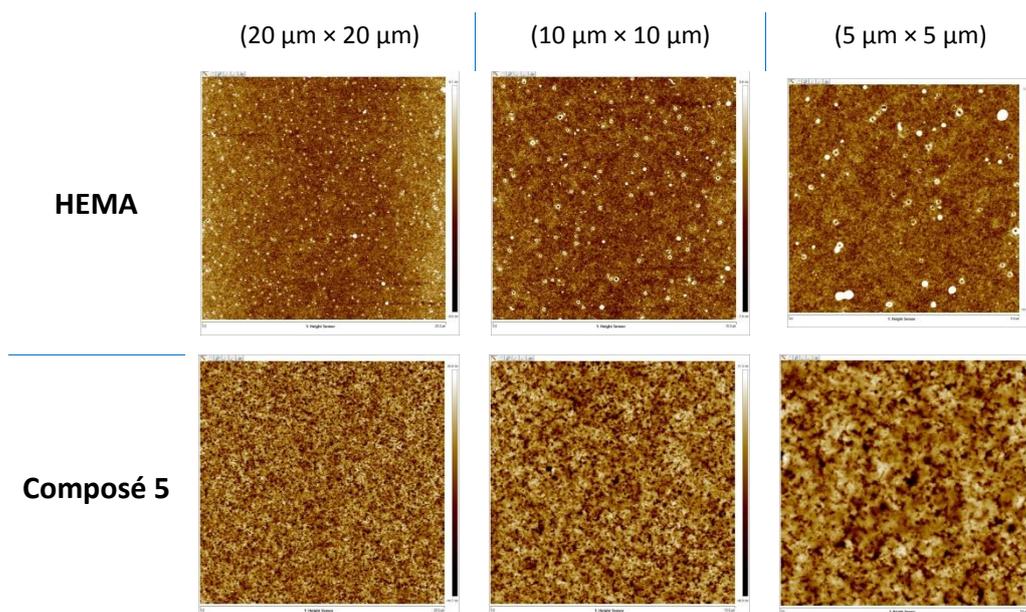


Figure 23 : Images AFM des films de copolymère à base de TEGDMA et de différents monomères fonctionnels (6-*O*-méthacryloyl- α,α -tréhalose **5**, HEMA).

VIII.1.3 Synthèse de films de copolymère à partir d'agent réticulant à base de sucres

Dans un deuxième temps, nous avons synthétisé des films de copolymères à partir de **5** agents réticulants (2 mmol) à base de sucres (les dérivés de tréhalose **4**, **13**, **19** et les dérivés de maltose **8** et **21**) (Figure 25). Ces agents réticulants ont été copolymérisés avec

HEMA (0.5 mmol) dans le DMSO (32%, m/m) par voie photochimique en utilisant le DPAP comme initiateur de polymérisation. Après 40 minutes de polymérisation, les films ont été lavés à l'éthanol, séchés, et analysés par ESEM et AFM. Pour pouvoir évaluer leur efficacité, nous avons également synthétisé un film en copolymérisant TEGDMA et HEMA. Il est à noter que le temps nécessaire à la polymérisation est plus long pour les films élaborés avec les agents réticulants de sucre que ceux dérivés de TEGDMA.

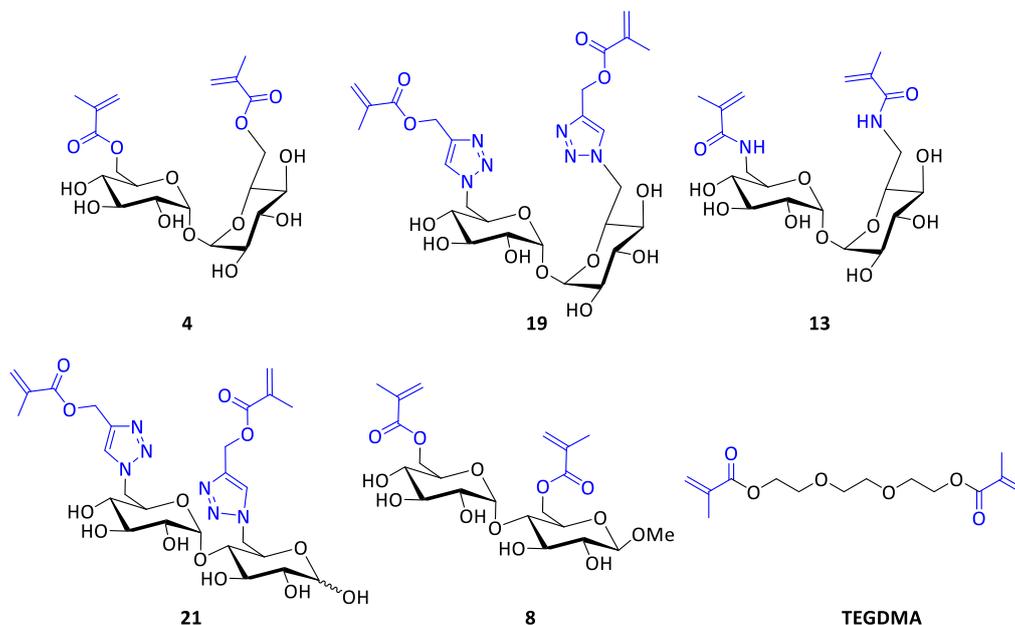


Figure 24 : Agents réticulants utilisés pour la production de films de copolymère.

L'étude de l'hydrophilie des films a été effectuée en condensant des gouttelettes d'eau sur ceux-ci. La prise d'image par ESEM a été plus difficile, car la condensation sur les polymères à base d'agents réticulants de sucre est beaucoup plus rapide par rapport au polymère à base de TEGDMA. Nous avons observé que les films à base de tréhalose sont plus hydrophiles que ceux à base de maltose ou de l'agent réticulant de contrôle TEGDMA. Cette différence d'hydrophilie est particulièrement accentuée pour les deux agents réticulants substitués par des triazoles : le film à base du dérivé de maltose **21** apparaît plus hydrophobe que le film à base du dérivé de tréhalose **19**. Nous notons aussi que le caractère hydrophile est affecté par les fonctions chimiques greffées (ester, amide, triazole), probablement dû à une structuration du film qui diffère selon l'agent réticulant utilisé. Cependant pour le film à base du tréhalose **13** substitué par des amides, l'estimation de

l'hydrophilie est difficile en raison de son hétérogénéité due à une importante proportion de solvant dans ce film (Figure 25).

Polymères à Empreintes Moléculaires Biodégradables : Synthèse de Nouveaux Monomères Fonctionnels et Agents Réticulants à Base de Sucres

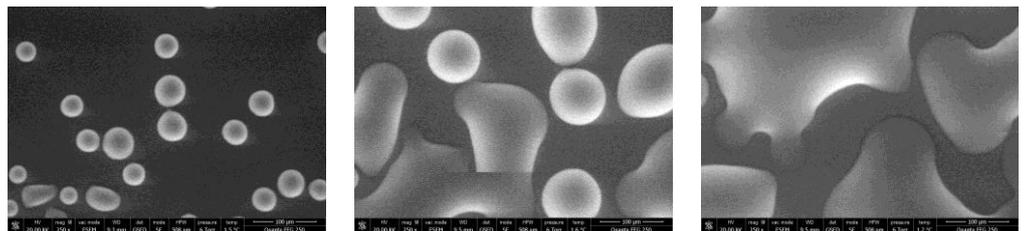
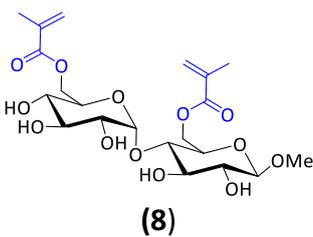
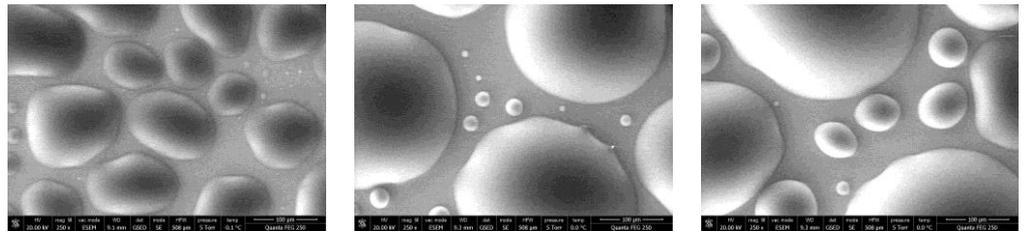
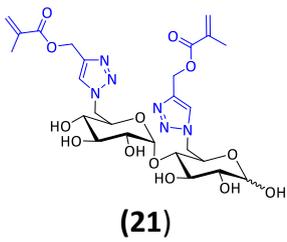
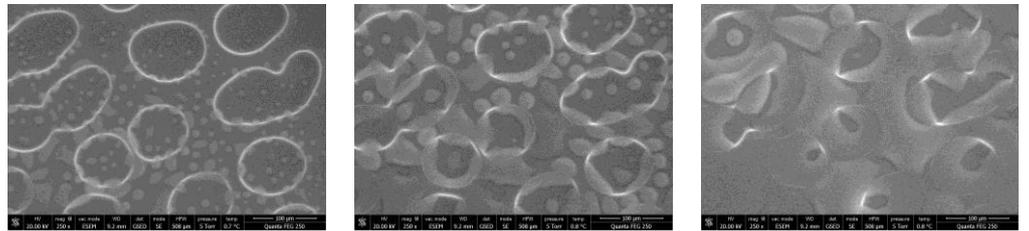
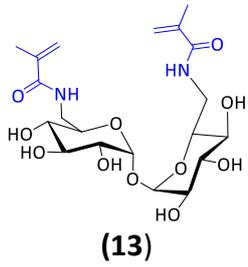
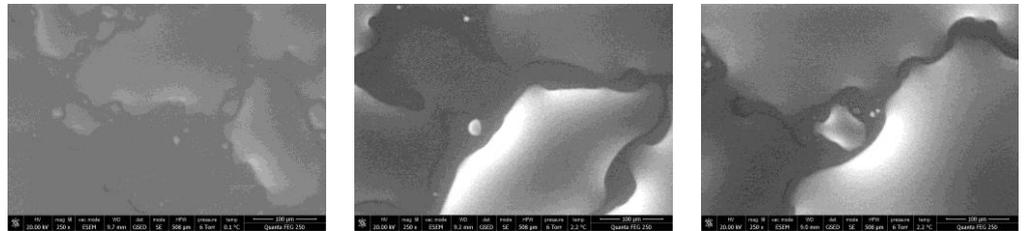
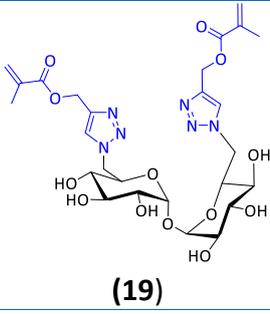
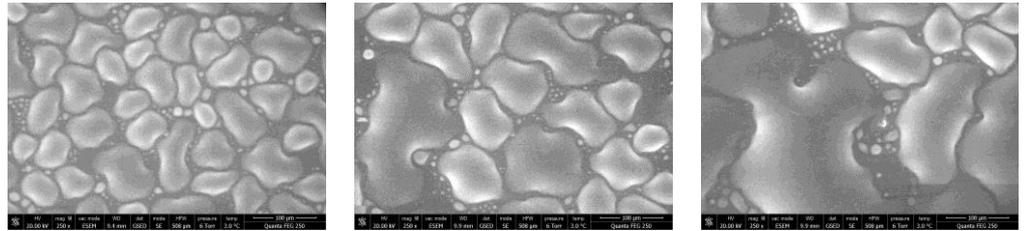
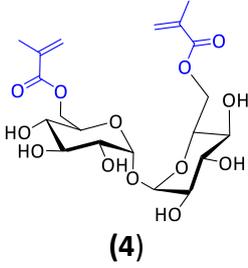
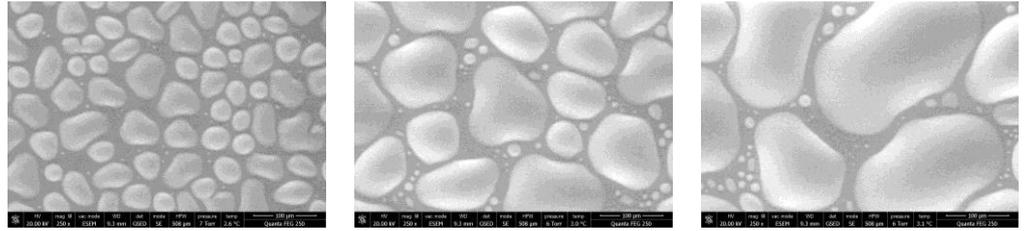
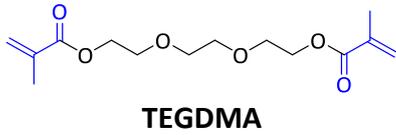


Figure 25 : Images ESEM de l'évolution en fonction du temps de la condensation de gouttelettes d'eau sur des films de copolymère à base de HEMA et des agents réticulants TEGDMA, de tréhalose (4, 13, 19) et de maltose (8, et 21) (8 mm = 100 µm).

La mesure de l'angle de contact a confirmé le caractère plus hydrophile des films à base de sucres par rapport à celui à base de TEGDMA. En effet, ils présentent les valeurs d'angle de contact les plus faibles, particulièrement pour les films à base d'agents réticulants **4**, **13** et **19** dérivés du tréhalose (Tableau 8).

	4	13	19	8	21	TEGDMA
Angle de contact (°)	20.1 ± 3.3	35.2 ± 1.1	30.6 ± 1.8	36.4 ± 2.6	44.5 ± 0.6	44.5 ± 0.7

Tableau 8 : Angles de contact d'une goutte d'eau sur des films de films de copolymère à base de HEMA et des agents réticulants TEGDMA, **4**, **13**, **19**, **8**, **21**.

Nous avons également étudié la structure et la porosité des films de polymères par AFM. Nous avons observé que chaque film a sa propre morphologie et est dépendant de la structure du sucre de l'agent réticulant (maltose ou tréhalose) ainsi que des fonctions greffées (amide, triazole ou ester). De plus, les films à base d'agents réticulants **8** et **21** de maltose semblent plus homogènes et présentent des macrospores respectivement de 0.4 µm et 0.03 à 0.077 µm. Leur surface semble également plus lisse contrairement aux films à base d'agents réticulants **13**, **19** de tréhalose dont la surface est plus rugueuse et sans macrospores (Figure 26).

Polymères à Empreintes Moléculaires Biodégradables : Synthèse de Nouveaux Monomères Fonctionnels et Agents Réticulants à Base de Sucres

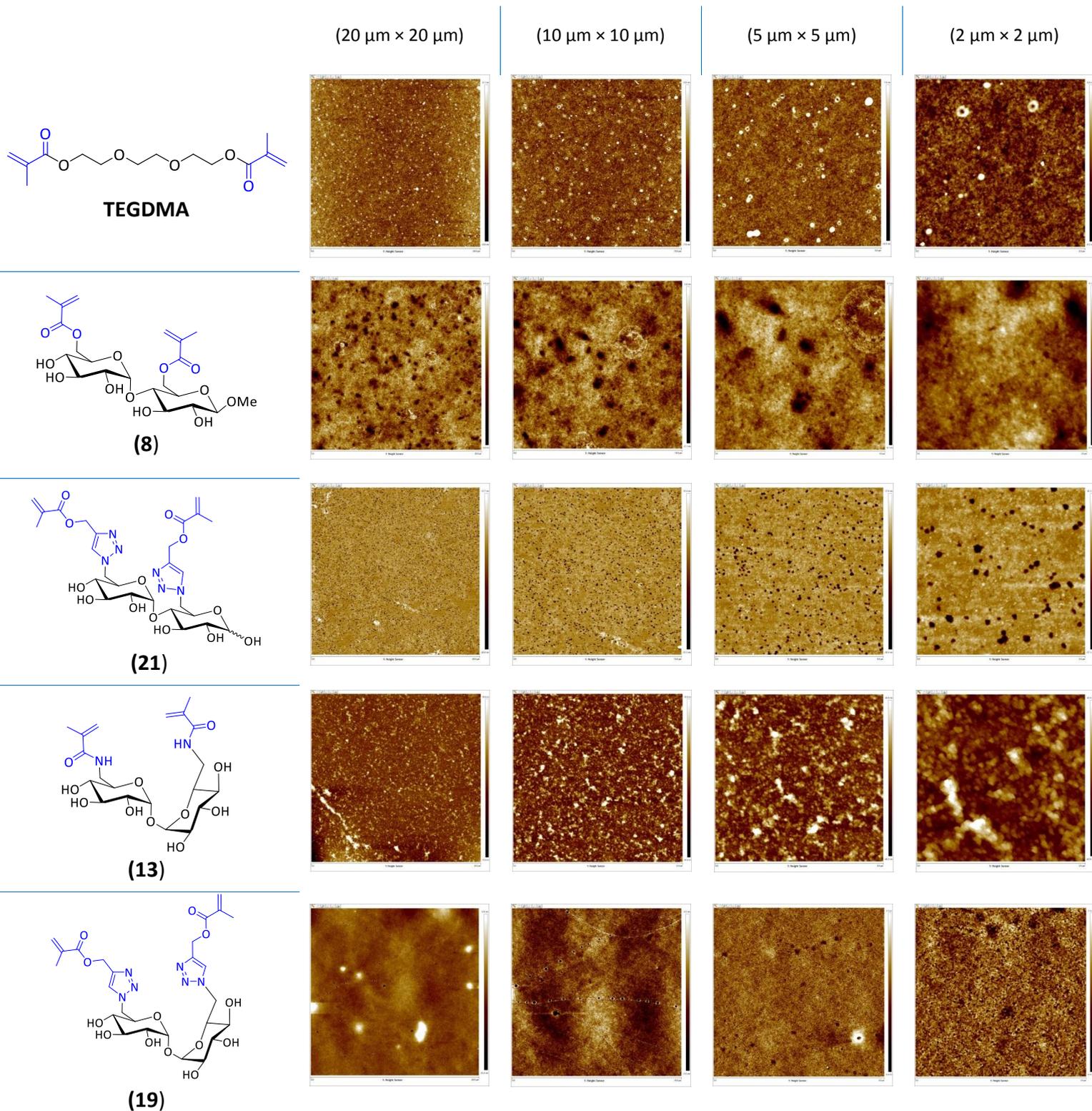
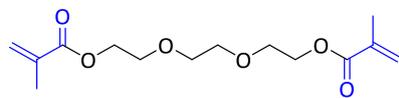


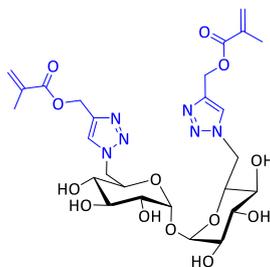
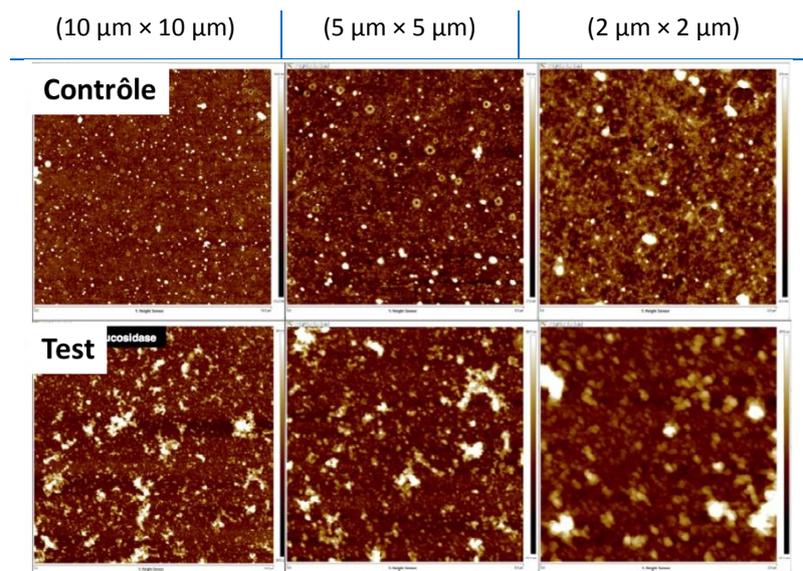
Figure 26 : Images AFM des films de copolymère à base de HEMA et des agents réticulants TEGDMA, 13, 19, 8 et 21.

VIII. Résultats et Discussion : Etude de la Synthèse des Polymères à Empreintes de Moléculaires à Base de Sucres

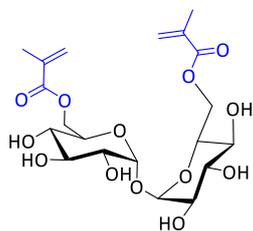
Enfin, nous avons étudié la dégradation des films par AFM en présence de α -glycosidase de *Saccharomyces cerevisiae*. Les films ont été incubés dans une solution tampon phosphate 0.025 M à pH 7.2 à 37 °C pendant 60h, et ensuite lavés avec de l'eau distillée, de l'éthanol et analysés par AFM (Figure 27). Les premières observations indiquent que les films à base de sucres semblent avoir subi une altération. En effet, des macrospores (plus élargies dans le cas des films à base de **8** et **21**) sont apparues dans les films incubés avec enzyme alors qu'ils sont absents des films de contrôle incubés sans enzyme. Cependant, des études complémentaires de rugosité et de porosité de la surface sont nécessaires pour confirmer ces dégradations enzymatiques.



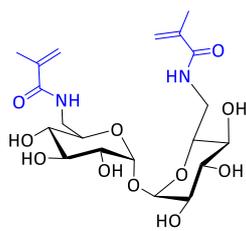
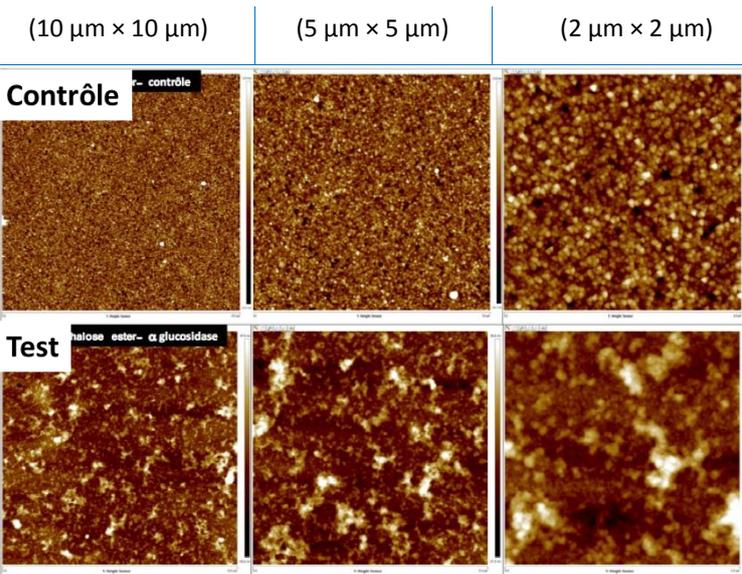
TEGDMA



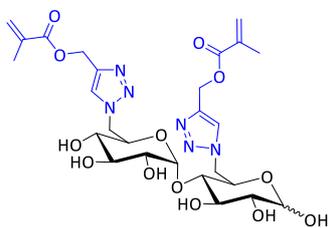
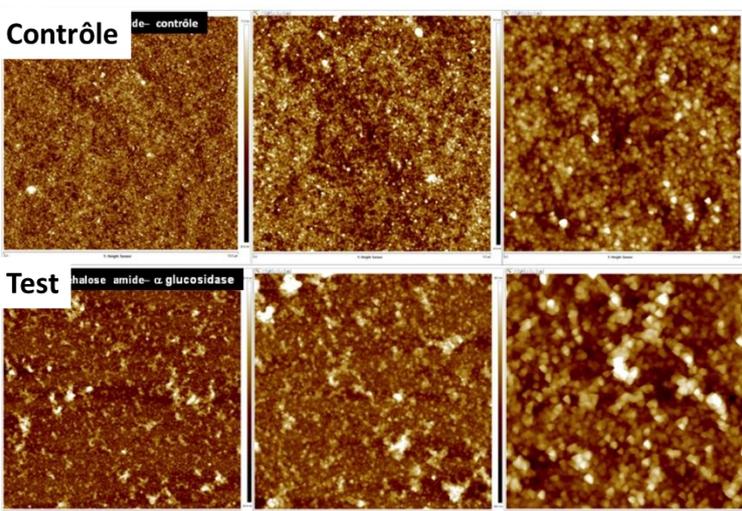
Polymères à Empreintes Moléculaires Biodégradables : Synthèse de Nouveaux Monomères Fonctionnels et Agents Réticulants à Base de Sucres



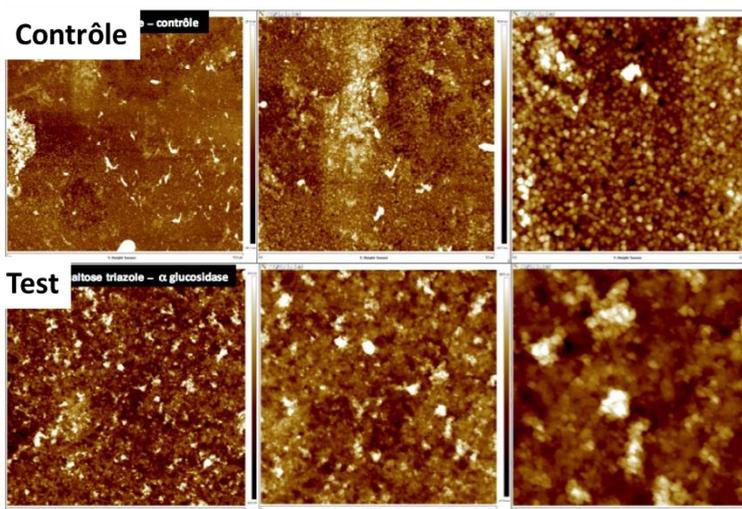
(4)



(13)



(21)



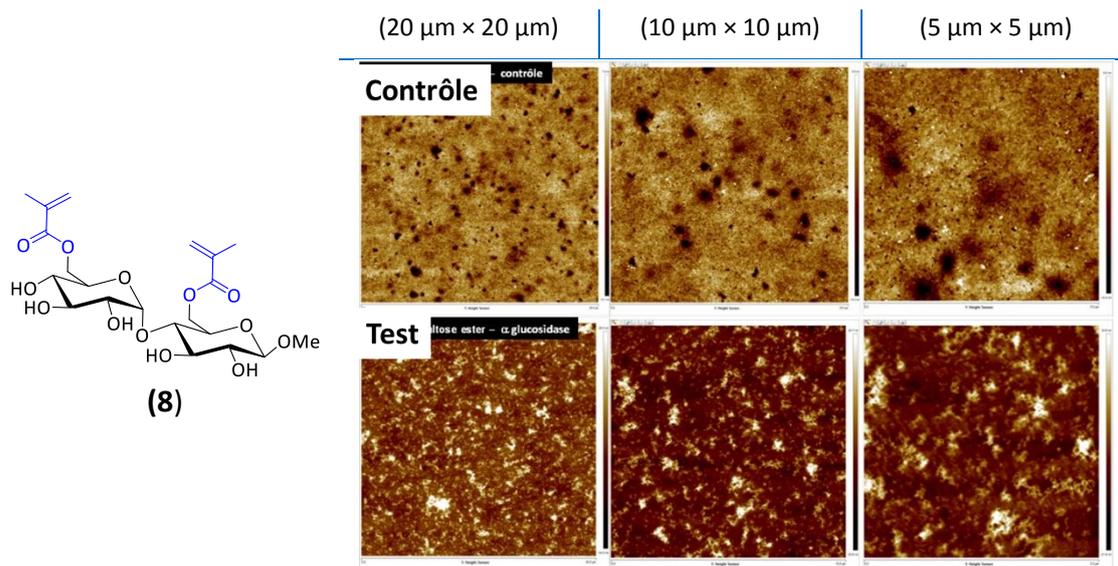


Figure 27 : Images AFM de dégradations avant et après incubation des films de copolymère à base de HEMA et des agents réticulants TEGDMA, **4**, **13**, **19**, **8** et **21** dans un tampon phosphate 0.025 M à pH 7.2 et 37°C, sans (contrôle) et avec (test) enzyme (α -glucosidase de *Saccharomyces cerevisiae*).

VIII.2 Nanoparticules de polymères à base d'agents réticulants

dérivés de sucres

VIII.2.1 Synthèse de polymères non imprimés et réticulés par des dérivés de sucres

Dans un premier temps, nous avons synthétisé des nanoparticules de polymère non imprimé. Nous avons choisi deux agents réticulants comme modèles : le dérivé de tréhalose **4**, et le dérivé de maltose **8** (Figure 28).

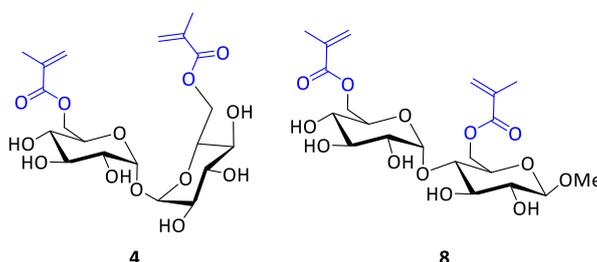


Figure 28 : Agents réticulants utilisés pour l'étude de la synthèse des polymères non imprimés.

La mise en œuvre de ces synthèses est simple et repose sur un mode opératoire conventionnel. L'agent réticulant dérivé de sucre (20 mmol), l'acide méthacrylique (4 mmol) (ratio molaire de 5:1 pour une réticulation à 83%) et l'acide 4,4'-azo-bis-(4-cyanovaléroïque)

(ABDV) sont préalablement dissous dans un solvant donné et le mélange réactionnel est placé au bain d'ultrasons jusqu'à obtenir une solution limpide, désoxygénée par bullage avec de l'azote, et chauffée à 50 °C pendant une nuit. Après une dialyse permettant d'éliminer tous les solutés non polymérisés, le polymère résultant est lyophilisé.

Les polymères ont d'abord été préparés en utilisant le diméthylsulfoxyde anhydre, car c'est un solvant organique très polaire solubilisant tant les molécules hydrophobes qu'hydrophiles. Nous avons ainsi obtenu deux polymères non imprimés à 83% de réticulation. Cependant, dans ces conditions, seul l'agent réticulant **8** a permis d'avoir le polymère avec le plus haut rendement (76%) contrairement à l'agent réticulant **4** qui se limite à 2% de rendement (Tableau 9).

Agent réticulant 4	Agent réticulant 8
2%	76%

Tableau 9 : Rendement des synthèses de polymères non imprimés dans le diméthylsulfoxyde réticulés à 83%.

Nous avons changé la nature du solvant de synthèse en optant pour un mélange anhydre d'acétonitrile et de diméthylsulfoxyde (4:1) pour améliorer le rendement de **4**. Toutefois, les rendements obtenus ne sont pas satisfaisants ni pour le dérivé **4**, ni pour le dérivé **8** (Tableau 10).

Agent réticulant 4	Agent réticulant 8
3%	6%

Tableau 10 : Rendement des synthèses de polymères non imprimés réticulés à 83% dans acétonitrile:diméthylsulfoxyde (4:1).

Finalement, nous avons essayé également une polymérisation dans l'acétonitrile. Des polymères réticulés à 83% ont été obtenus avec des rendements de 18% pour **4** et 17% pour **8**. Cependant, ces rendements sont encore faibles comparés à ceux obtenus par le même protocole à partir d'agents réticulants classiques (EGDMA et DSDMA) (Tableau 11). Une

caractérisation effectuée par DLS a également montré que nos polymères à base de sucres sont sous forme de nanoparticules avec une taille supérieure à ceux d'EGDMA et DSDMA.

	Agent réticulant 4	Agent réticulant 8	EGDMA	DSDMA
Rendement	18%	17%	58%	63%
Taille NIP (nm)	624.7	82.44	18.2	54.8

Tableau 11 : Rendements et tailles de la synthèse de polymères non imprimés (NIP) réticulés.

VIII.3 Elaboration de polymères imprimés avec le 5-fluorouracile à base d'agents réticulants dérivés de sucres

VIII.3.1 Synthèse de nanoparticules imprimées avec le 5-fluorouracile à base d'agents réticulants dérivés de sucres

A partir des observations précédentes, nous avons synthétisé des nanoparticules de MIPs en utilisant les agents réticulants **4**, **8** et EGDMA. La polymérisation s'est effectuée à 50 °C pendant 24 h dans un mélange d'agent réticulant, d'acide méthacrylique (ratio molaire de 5:1 pour une réticulation à 83%), d'ABDV et de 5-fluorouracile (Figure 29) comme molécule cible dans l'acétonitrile sous atmosphère inerte. Après centrifugation, les particules sont lavées quatre fois avec un mélange méthanol-acide acétique (4:1, v/v) pour éliminer le 5-fluorouracile du polymère. Parallèlement, des polymères non imprimés (NIP) ont été également synthétisés dans les mêmes conditions sans la molécule cible, et serviront de polymères contrôles lors des tests de reconnaissance.

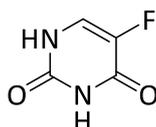


Figure 29 : Structure chimique du 5-fluorouracile.

Nous avons obtenu des nanoparticules de polymères imprimés avec des rendements de 20% pour **8** et 54% pour **4**, avec des tailles respectivement de 160 nm et de 563 nm.

Toutefois, il est à noter que la polymérisation à partir d'EGDMA donne de plus petites tailles de nanoparticules (148 nm) (Tableau 12).

		Agent réticulant 4	Agent réticulant 8	EGDMA
Rendement (MIP)		54%	20%	25%
Taille (nm)	MIP	563	160	148
	NIP	624.7	82.44	18.2

Tableau 12 : Rendements et tailles des nanoparticules de polymères imprimé et non imprimé synthétisés dans l'acétonitrile et réticulés à 83%.

Les MIPs et les NIPs ont également été caractérisés par microscopie électronique à balayage (MEB). Nous avons remarqué que les nanoparticules à base d'agent réticulant **8** sont sous forme de blocs alors que ceux à base d'agent réticulant **4** présentent un aspect quasiment sphérique. Seule la polymérisation effectuée avec l'agent réticulant classique EGDMA a permis d'obtenir des particules de tailles uniformes et sphériques (Figure 30).

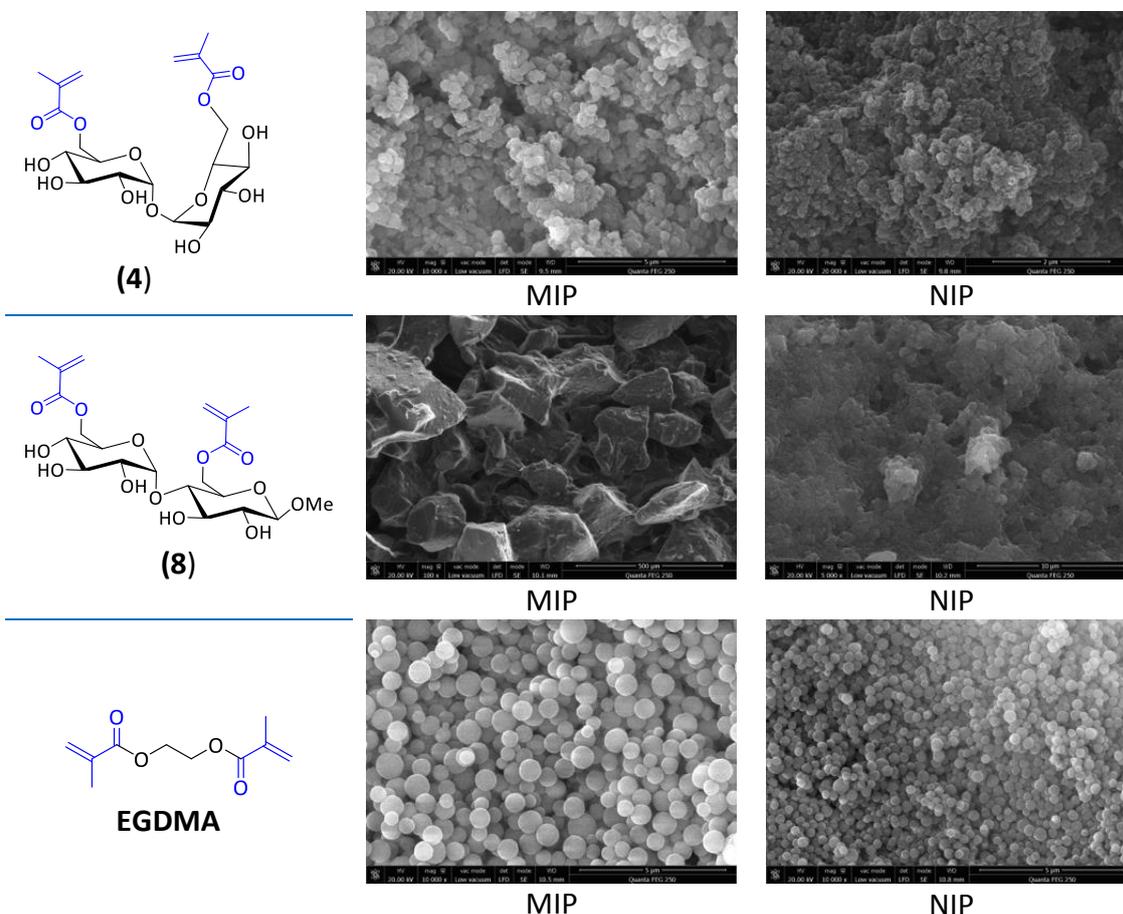


Figure 30 : Images MEB des nanoparticules synthétisées à partir des agents réticulants **4**, **8** et EGDMA

VIII.3.2 Etude de l'adsorption du 5-fluorouracile par les nanoparticules imprimées à base d'agents réticulants dérivés de sucres

Nous avons voulu évaluer le pouvoir de reconnaissance de ces polymères à empreintes moléculaires du 5-fluorouracile. Cette molécule est le principe actif d'un médicament anticancéreux habituellement utilisé dans l'impression de polymères. Les polymères imprimés (5 mg.mL^{-1}) ont été incubés pendant 24 h dans une solution de 5-fluorouracile ($10 \text{ }\mu\text{mol.L}^{-1}$) dans l'acétonitrile. Après centrifugation et récupération des nanoparticules, la quantité de 5-fluorouracile résiduelle dans le surnageant a été dosée par spectrophotométrie à 265 nm. Nous avons fait de même avec les polymères non imprimés afin de confirmer que l'éventuelle reconnaissance moléculaire est liée à la création de cavités spécifiques du 5-fluorouracile créées dans le polymère.

Tous les polymères imprimés étudiés ont démontré une spécificité pour le 5-fluorouracile. Toutefois, le MIP à base d'agent réticulant classique EGDMA a une capacité de reconnaissance trois fois plus importante que ceux à base des agents réticulants **4** et **8** et nécessitent moins de polymères (Figure 31). Néanmoins, les MIPs à base de sucres se révèlent plus efficaces que leur NIPs, comme en attestent les facteurs d'impression entre 4 et 5 contre 1.6 pour le MIP à base d'EGDMA à une même concentration de polymère (1 mg.mL^{-1}) (Tableau 13).

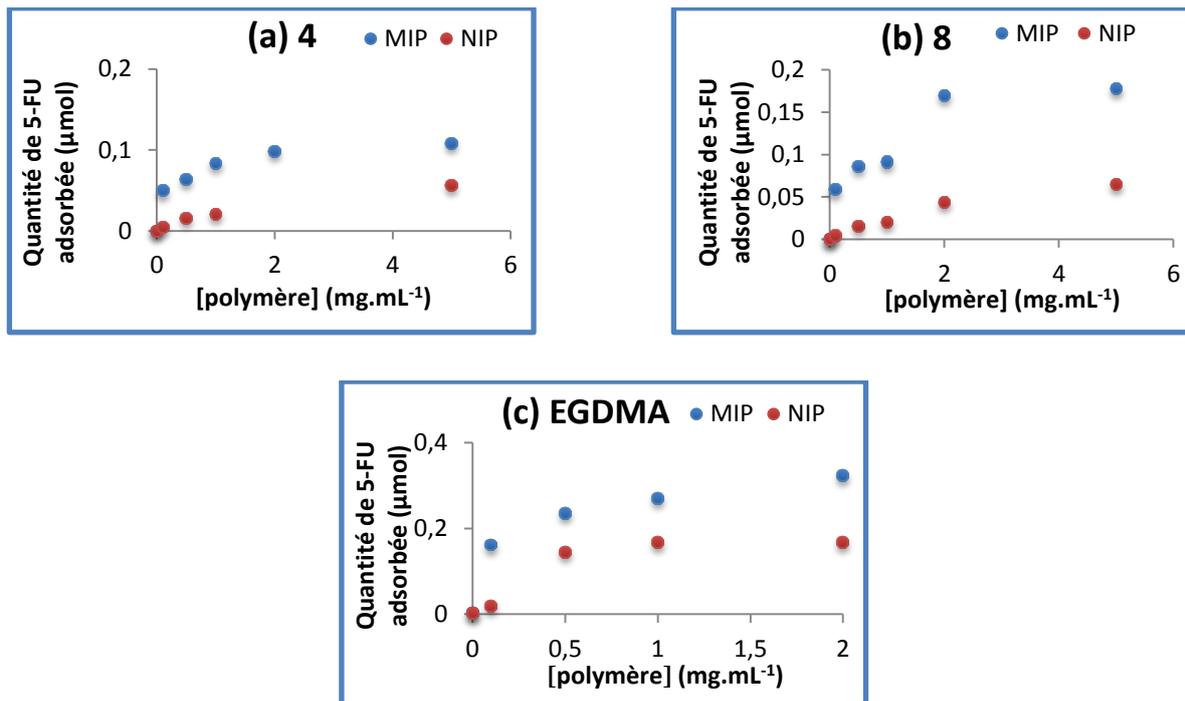


Figure 31 : Adsorption du 5-fluorouracile (5-FU) par les MIPs et les NIPs dans agents réticulants 4 (a), 8 (b) et EGDMA (c).

	Agent réticulant 4	Agent réticulant 8	EGDMA
IF $\left(\frac{[5-FU]_{MIP}}{[5-FU]_{NIP}}\right)$	4.2	4.6	1.6

Tableau 13 : Facteurs d'impression des nanoparticules imprimées et non imprimées (1 mg.mL^{-1}) à base des agents réticulants 4, 8 et EGDMA.

Cependant, des études complémentaires pour améliorer la formulation (nature des réactifs) sont indispensables afin d'optimiser l'adsorption du 5-fluorouracile sur ces matériaux sélectifs.

Une amélioration du rendement de polymérisation est aussi nécessaire pour pouvoir disposer de quantités de polymères imprimés suffisantes pour les études. Bien que leur mise en œuvre soit simple, la préparation de ces matériaux sous forme de nanoparticules nécessitera une optimisation des conditions expérimentales (température, solvant, quantités des réactifs)³⁴.

IX. CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

*« Tant que le crapaud ne tombe pas dans de l'eau chaude, il ne saura pas qu'il existe deux
sortes d'eau. »*

Proverbe africain

Le travail effectué au cours de cette thèse s'inscrit dans un cadre global lié aux polymères à empreintes moléculaires pour des applications cliniques.

Dans la première partie de ce travail, nous avons synthétisé plusieurs agents réticulants et monomères fonctionnels par des synthèses nécessitant peu (ou pas) d'étapes de protection-déprotection. Grâce à la réaction de Mitsunobu, nous avons notamment développé et optimisé une synthèse de trois agents réticulants et de trois monomères fonctionnels basés sur le tréhalose et le maltose substitués par des méthacrylates, avec des rendements de l'ordre de 50%. Cette méthode permet d'obtenir les composés désirés plus rapidement, et avec des rendements comparables à ceux décrits dans la littérature.

Le maltose et le tréhalose ont été aussi utilisés pour obtenir un agent réticulant substitué par un méthacrylamide et deux agents réticulants obtenus par chimie « click » et dont le bras espaceur est un cycle triazole et lié à un méthacrylate. La purification de ces molécules a dû être optimisée, car elles sont sensibles à la chaleur et tendent à polymériser facilement. Ensuite, nous avons également préparé trois agents réticulants basés sur le maltotriose et des maltohepta- et octaoses. Ces molécules sont plus difficiles à manipuler et nécessitent des étapes de protection-déprotection. Nous avons pu, malgré ces limitations, obtenir ces molécules dans des quantités suffisantes pour permettre la synthèse de polymères.

Dans la deuxième partie, l'étude de dégradation *in vitro* des agents réticulants et des monomères fonctionnels synthétisés a été réalisée. Nous avons réussi à dégrader les dérivés de tréhalose substitués par des esters en milieu enzymatique acide par hydrolyse des esters. Pour les agents réticulants à base de maltohepta- et octaoses, des sucres de plus petites unités ont été également obtenus, mais les analyses à notre disposition n'ont pas permis de confirmer avec précision la séquence hydrolyse des esters/clivage de la liaison glycosidique.

Pour tous les dérivés du maltose et les dérivés du tréhalose et de maltotriose liés à un bras espaceur triazole, seule l'hydrolyse des fonctions ester a été observée, sans coupure de la liaison glycosidique. Les polymères imprimés à base de ces molécules sont néanmoins potentiellement dégradables par diminution du degré de réticulation suite à l'hydrolyse des liaisons ester.

Dans la troisième partie, nous avons effectué une étude préliminaire en polymérisant les agents réticulants et les monomères fonctionnels à base de sucres chez nos partenaires de l'Université de Technologie de Compiègne. Nous avons réussi à synthétiser des films de copolymères dont les analyses par microscopie électronique ont dévoilé des films avec des morphologies différentes. Nous avons démontré que ces films de copolymères à base de sucres sont plus hydrophiles que ceux à base d'agents réticulants classiques. Cependant, des études complémentaires axées sur la topographie de la surface, les profils des images et les propriétés mécaniques seront nécessaires pour confirmer ces premières observations. Nous avons également réussi à produire des nanoparticules imprimées et non imprimées (contrôle) à partir des agents réticulants substitués par des esters à base de maltose et de tréhalose. Lors du test de reconnaissance envers le 5-fluorouracile, les nanoparticules imprimées ont présenté une meilleure affinité avec des facteurs d'impression entre 4 et 5 par rapport aux nanoparticules non imprimées servant de contrôle.

Bien que les films copolymères à base de sucres semblent se dégrader en présence d' α -glycosidase de *Saccharomyces cerevisiae*, des études en présence d'autres enzymes comme la tréhalase, l' α -glycosidase d'*Aspergillus niger* sont aussi indispensables pour évaluer l'efficacité de chacune d'entre elles envers ces films de copolymères à base de sucres.

De ce fait, l'étude de polymères imprimés à base de sucres devra également être menée à partir d'agent réticulant portant des fluorophores comme celui à base de maltose synthétisé dans ce travail. La dégradation du polymère pourra ainsi être suivie par fluorimétrie au travers de la libération du fluorophore greffé.

En perspective, il serait dès lors intéressant d'envisager la synthèse, par la réaction de Mitsunobu, des sucres de plus de deux unités saccharidiques. En effet, cette réaction, sensible à l'encombrement stérique des hydroxyles, nous permettrait d'accéder à des oligosaccharides monosubstitués ou disubstitués selon la quantité engagée de réactifs. Ces composés pourraient être de bons agents réticulants et monomères fonctionnels, car ils ont un nombre plus élevé de liaisons glycosidiques sensibles aux dégradations. De plus, la littérature sur les polymères issus de macromolécules polymérisables à base de sucres

montre qu'ils pourraient être utilisés dans les applications biomédicales et cliniques^{312,313,314,315}.

Toujours dans l'optique d'élaborer de polymères imprimés biodégradables pour des applications cliniques, il serait aussi intéressant de préparer des monomères fonctionnels et des agents réticulants à base de dipeptides et clivables par des protéases. Plusieurs hydrogels sensibles à ces enzymes ont été décrits dans la littérature pour des applications biomédicales essentiellement pour l'ingénierie tissulaire^{316,317,318}. On pourrait dès lors utiliser des réactions optimisées de couplage peptidique pour préparer des molécules où les positions N- et C- terminales seraient substitués par des méthacrylates (Figure 32).

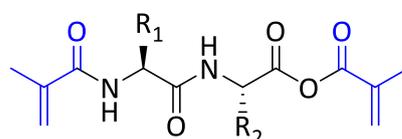


Figure 32 : Exemple de diméthacryloyl-dipeptide envisagée.

³¹² Smeds, K. A.; Grinstaff, M. W. *J. Biomed. Mater. Res.* **2001**, *54* (1), 115–121.

³¹³ Bian, L.; Hou, C.; Tous, E.; Rai, R.; Mauck, R. L.; Burdick, J. A. *Biomaterials* **2013**, *34* (2), 413–421.

³¹⁴ Puperi, D. S.; O'Connell, R. W.; Punske, Z. E.; Wu, Y.; West, J. L.; Grande-Allen, K. J. *Biomacromolecules* **2016**, *17* (5), 1766–1775.

³¹⁵ Zhu, M.; Feng, Q.; Sun, Y.; Li, G.; Bian, L. *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.* **2016**, 1–9.

³¹⁶ West, J. L.; Hubbell, J. A. *Macromolecules* **1999**, *32* (1), 241–244.

³¹⁷ Lee, S. H.; Miller, J. S.; Moon, J. J.; West, J. L. *Biotechnol. Prog.* **2005**, *21* (6), 1736–1741.

³¹⁸ Wade, R. J.; Bassin, E. J.; Rodell, C. B.; Burdick, J. a. *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 6639.

X. PARTIE EXPERIMENTALE

« Une expérience scientifique est une expérience qui contredit l'expérience commune. »

Gaston Bachelard

X.1 General remarks

X.1.1 Chemicals products and solvents

Lumiprobe, Wacker Chemicals, Sigma-Aldrich, Fluka, Acros and TCI supplied reagents and solvents. Deuterated solvents (CD_3OD , CDCl_3 , D_2O , $\text{Pyr-}d_5$, $\text{DMSO-}d_6$) were purchased from Eurisotop (France). All reactions were carried under an argon atmosphere unless otherwise stated. All solvents were reagent grade. Dimethylformamide were freshly distilled over barium oxide under argon and degassed immediately prior to use. Dichloromethane was distilled over calcium hydride.

X.1.2 Chromatography

Reactions were magnetically stirred and monitored by thin layer chromatography using Merck-Kieselgel 60F₂₅₄ plates. Ratios were specified in each case in experimental part. Products were revealed by UV light ($\lambda = 254 \text{ nm}$) followed by charring with a solution of H_2SO_4 in ethanol (v:v, 1:9). Column chromatography was performed with silica gel 60 (particle size 40-63 μm) supplied by Merck. Yields referred to chromatographically and spectroscopically pure compounds, unless otherwise noted.

Purification by flash chromatographic device were performed on Reveleris iES Flash System supplied by Grace (USA). Normal and reverse phase chromatography were respectively done thanks to silica and C18 columns. An evaporative light scattering detector and a UV detector with two wavelengths (200 nm to 400 nm) allowed us to detect the compounds.

The high-performance liquid chromatography used was an Alliance 2695 chain (Waters, France) provided with a thermostated sample distributor and a photo diode array detector PDA 2996 (Waters, France). Mass spectrometer, with electrospray ionisation source, was a ZQ 4000 (Waters-Micromass, Manchester, UK). The chromatographic column used was a reversed phase column ApolloTM C18 (4.5x250mm, 5 μm , Grace®, France). The conditions for LC-MS were an elution performed at 1 mL/min using an isocratic eluent ($\text{H}_2\text{O} + \text{formic acid (0.1\%)} / \text{MeOH} + \text{formic acid (0.1\%)} (95/5)$). LC/ESI-MS data were recorded in the positive ion mode. Nitrogen was used as a drying and nebulizing gas at flow rates of 450 and 100 L/h, respectively. The capillary voltage was 3.5 kV and a cone voltage of 35 V was used. Scanning was performed in the range 50-1000 Da at a

scan rate of 1 s/scan. The acquisition and data processing were performed with the software MassLynx 4.1.

X.1.3 Characterization methods

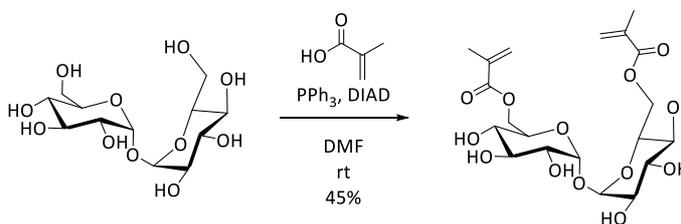
For mass spectroscopy, the compound were dissolved in MeOH, acetonitrile or water or a mixture at a concentration of 0.01 mg/mL directly introduced (5 mL/min for the Q-TOF and 20 mL/min for the ZQ) through an integrated syringe pump into the ESI source. Stepwise control of the reactions has been readily achieved using electrospray ionisation mass spectrometry (ESI-MS) using a ZQ 4000 quadrupole mass spectrometer (Waters-Micromass, Manchester, U.K.), provided with a pneumatically assisted electrospray (Z-spray) ion source. Source and desolvation temperatures are 80 °C and 150 °C respectively. Azote has been used as desolvation and nebulization gas with an output of 350 and 50 L/h respectively. The capillary voltage is around 3.5 kV and the cone voltage varies from 20 to 150 V depending on analyzed products. Spectra are cumulated at 2s/scan rate. High-resolution electrospray mass spectra (ESI-HRMS) were obtained on a Q-TOF Ultima Global hybrid quadrupole/time-of-flight instrument (Waters-Micromass, Manchester, U.K.), provided with a pneumatically assisted electrospray (Z-spray) ion source and an additional sprayer (Lock Spray) for the reference compound. Source and desolvation temperatures were 80 °C and 120 °C respectively. Nitrogen has been used as desolvation and nebulization gas with an output of 350 and 50 L/h respectively. The capillary voltage is around 3.5 kV and the cone voltage varies from 50 to 250 V depending on analyzed compounds. Before each high-resolution electrospray mass spectra (ESI-HRMS), a calibration is done with orthophosphoric acid. Spectra are cumulated at 2 s/scan rate for a mass range from 50 to 4000 Da for a 10,000 resolution. Data acquisition and processing were performed with MassLynx 4.1 software.

Proton NMR spectra were recorded using an internal deuterium lock at 25 °C on Bruker® 300 MHz, 400 MHz and 600 MHz spectrometers. Internal reference of δH 7.26 was used for CDCl_3 , δH 3.34 for CD_3OD , δH 4.79 for D_2O , δH 7.22, 7.58 and 8.74 for $\text{Pyr-}d_5$, δH 2.50 for $\text{DMSO-}d_6$. Carbon-13 NMR spectra were recorded at 75 MHz, 101 MHz and 151 MHz. Internal reference of δC 77.16 was used for CDCl_3 , δC 49.00 for CD_3OD , δC 123.87, 135.91 and 150.35 for $\text{Pyr-}d_5$, δC 39.52 for $\text{DMSO-}d_6$. Chemical shifts (δ) are reported in ppm, and coupling constants (J) are in Hertz (Hz). The following abbreviations were used to explain the multiplicities: s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quadruplet, quint. = quintuplet, sext. = sextuplet, m = multiplet, br. = broad).

Infrared spectra were recorded on Shimadzu IRAffinity-1S and ThermoScience Nicolet iS10 spectrophotometers in attenuated total reflection (ATR). Melting points were recorded using a Büchi 535 melting point apparatus.

X.2 Compounds description

6,6'-di-*O*-methacryloyl- α,α -trehalose (**4**)



To a solution of α,α -trehalose (2.25 g, 6.59 mmol), triphenylphosphine (6.92 g, 26.37 mmol) and methacrylic acid (2.8 mL, 32.97 mmol, 5 equiv.) in anhydrous DMF (70 mL), diisopropyl azodicarboxylate (DIAD) (5.2 mL, 26.37 mmol) was added dropwise over 1 h at 0 °C under Ar. The mixture was allowed to warm at room temperature. After stirring for 24 h, the reaction was concentrated under vacuum. The residue was then immediately purified by silica gel flash chromatography (4:0.7:0.3 ethyl acetate-methanol-water) followed by C18 reversed-phase flash chromatography (1:0 to 3:7 water-methanol) to afford compound **4** (1.43 g, 45% yield), as a white solid.

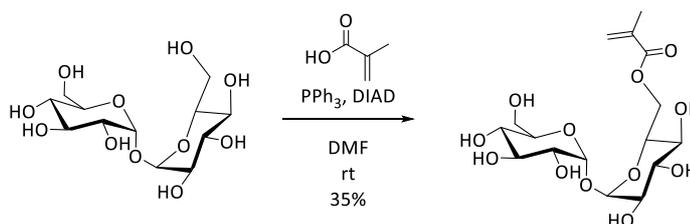
R_f: 0.42 (4:0.7:0.3, AcOEt-MeOH-H₂O); Mp: 60-62 °C (dec); [α]_D²⁰: +100 (c 0.25, MeOH)

¹H NMR (300 MHz, D₂O): δ 6.10 (m, 2H, =CHH), 5.69 (br. quint, J = 1.5 Hz, 2H, =CHH), 5.09 (d, J = 3.9 Hz, 2H, H-1, H-1'), 4.44 (dd, J = 2.2 Hz, 12.3 Hz, 2H, H-6_a, H-6_a'), 4.31 (dd, J = 5.2 Hz, 12.3 Hz, 2H, H-6_b, H-6_b'), 4.03 (ddd, J = 2.2 Hz, 5.2 Hz, 10.2 Hz, 2H, H-5, H-5'), 3.81 (dd, J = 9.0 Hz, J = 9.9 Hz, 2H, H-3, H-3'), 3.60 (dd, J = 3.9 Hz, 9.9 Hz, 2H, H-2, H-2'), 3.48 (dd, J = 9.0 Hz, J = 10.2 Hz, 2H, H-4, H-4'), 1.89 (br. s, 6H, -CH₃). **¹³C NMR (75 MHz, D₂O):** δ 169.39 (C=O), 135.77 (C_{quat.}), 127.22 (=CH₂), 93.68 (C-1, C-1'), 72.71 (C-3, C-3'), 71.12 (C-2, C-2'), 70.27 (C-5, C-5'), 69.91 (C-4, C-4'), 63.56 (C-6, C-6'), 17.48 (-CH₃).

IR (ATR) ν_{\max} 3365 ($\nu_{\text{O-H}}$), 2934 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1712($\nu_{\text{C=O}}$), 1631 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1298 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1149 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1103 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1076 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1047 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm⁻¹

ESIHRMS m/z calcd for C₂₀H₃₀O₁₃ [M+Na]⁺ 501.1539 found 501.1584.

6-O-methacryloyl- α,α -trehalose (**5**)



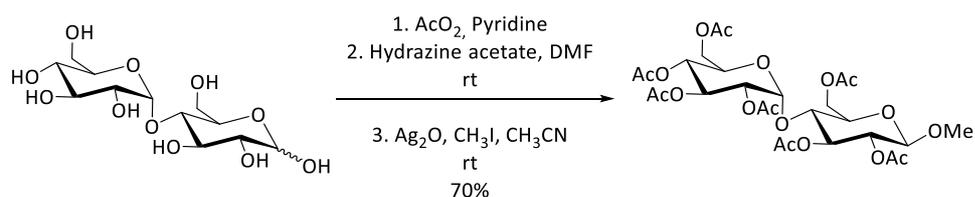
To a solution of α,α -trehalose (0.50 g, 1.46 mmol), triphenylphosphine (0.77 g, 2.94 mmol) and methacrylic acid (0.31 mL, 3.68 mmol) in dry DMF (15 mL) diisopropyl azodicarboxylate (DIAD) (0.58 mL, 2.94 mmol, 2.5 equiv) was added dropwise over 1h at 0 °C under Ar. The mixture was allowed to warm at room temperature. After stirring for 24 h, the reaction was concentrated under vacuum. The residue was then immediately purified by silica gel flash chromatography (4:0.7:0.3 ethyl acetate-methanol-water) followed by C18 reversed-phase flash chromatography (1:0 to 3:7 water-methanol) to afford compound **5** (0.21 g, 35% yield), as a white solid.

R_f: 0.24 (4:0.7:0.3, AcOEt-MeOH-H₂O); Mp: 60-63 °C (dec); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: +126 (c 0.275, MeOH)

¹H NMR (600 MHz, Pyr-*d*₅): δ 7.22 (br. signal, 7H, OH), 6.26 (br. s, 1H, =CH $\underline{\text{H}}$), 5.91 (d, J = 3.7 Hz, 2H, H-1, H-1'), 5.44 (br. quint, J = 1.5 Hz, 1H, =CH $\underline{\text{H}}$), 5.12 (ddd, J = 2.0 Hz, 5.8 Hz, 10.1 Hz, 1H, H-5), 5.02 (dd, J = 2.0 Hz, 11.7 Hz, 1H, H-6_a), 4.94 (ddd, J = 2.6 Hz, 4.8 Hz, 9.9 Hz, 1H, H-5'), 4.85 (dd, J = 5.8 Hz, 11.7 Hz, 1H, H-6_b), 4.80 (dd, J = 8.9 Hz, 9.6 Hz, 1H, H-3'), 4.77 (dd, J = 8.7 Hz, 9.6 Hz, 1H, H-3), 4.46 (dd, J = 2.6 Hz, 11.8 Hz, 1H, H-6_a'), 4.41 (dd, J = 4.8 Hz, 11.8 Hz, 1H, H-6_b'), 4.32 (dd, J = 8.9 Hz, 9.9 Hz, 1H, H-4'), 4.283 and 4.278 (2 dd, J = 3.7 Hz, 9.6 Hz, 1H each, H-2, H-2'), 4.12 (dd, J = 8.7 Hz, 10.1 Hz, 1H, H-4), 1.90 (br. s, 3H, -CH₃). **¹³C NMR (151 MHz, Pyr-*d*₅):** δ 167.70 (C=O), 137.23 (C_{quat.}), 125.89 (=CH₂), 95.93, 95.77 (C-1, C-1'), 75.30, 75.23 (C-3, C-3'), 74.82 (C-5), 73.83, 73.73 (C-2, C-2'), 72.60, 72.42 (C-4, C-4'), 71.73 (C-5'), 65.33 (C-6), 63.04 (C-6'), 18.68 (-CH₃).

IR (ATR) ν_{max} 3373 ($\nu_{\text{O-H}}$), 2931 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1712 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1631 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1298 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1149 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1105 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1076 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1047 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm⁻¹.

ESIHRMS m/z calcd for C₁₆H₂₆O₁₂ [M+Na]⁺ 433.1319, found 433.1322.

Methyl hepta-*O*-acetyl- β -maltoside (6)

Maltose (30 g, 82.26 mmol) was dissolved in acetic anhydride (150 mL) and pyridine (150 mL). After stirring for 12 h at room temperature, the solvents were removed under reduced pressure. The residue was dissolved in ethyl acetate (200 mL), washed with water (3 x 200 mL), dried over MgSO_4 , filtered and evaporated to dryness.

The peracetylated maltoside was dissolved in anhydrous dimethylformamide (300 mL) and hydrazine acetate was added under argon atmosphere. The mixture was stirred at room temperature for 2 h, diluted with ethyl acetate, washed with brine (2 x 200 mL), dried over MgSO_4 , filtered and evaporated to dryness. The desired product was enough pure for following reaction.

Silver (II) oxide (14.63 g, 63.15 mmol) was added to the anomeric mixture of 2,3,6,2',3',4',6'-hepta-*O*-acetyl-maltose (20.00 g, 31.32 mmol) suspended in acetonitrile (140 mL) in the dark. After 15 min stirring, iodomethane (3.9 mL, 63.15 mmol) was added and the mixture was stirred for 72 h at room temperature. The reaction mixture was then diluted with dichloromethane (400 mL), filtered through celite, and the solvent was removed under vacuum to give a solid foam, which was recrystallized from isopropanol to yield methyl hepta-*O*-acetyl- β -maltoside **6**.

R_f: 0.37 (1:1, Cyclohexane-AcOEt); Mp: 126-127°C, lit.³¹⁹: 125°C; $[\alpha]_D^{20}$: +55 (c 2.7, CHCl_3), lit.³¹⁹: +51 (c 2.7, CHCl_3)

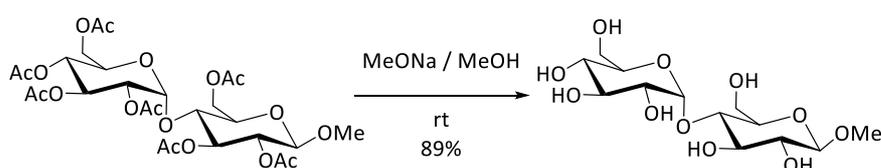
¹H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 5.39 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H, H-1'), 5.34 (dd, $J = 10.5, 9.5$ Hz, 1H, H-3'), 5.23 (dd, $J = 9.4, 8.8$ Hz, 1H, H-3), 5.03 (dd, $J = 10.3, 9.5$ Hz, 1H, H-4'), 4.84 (dd, $J = 10.5, 4.0$ Hz, 1H, H-2'), 4.79 (dd, $J = 9.4, 7.8$ Hz, 1H, H-2), 4.47 (dd, $J = 12.1, 2.8$ Hz, 1H, H-6_a), 4.43 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-1), 4.23 (dd, $J = 12.4, 4.0$ Hz, 1H, H-6_a'), 4.22 (dd, $J = 12.1, 4.4$ Hz, 1H, H-6_b), 4.03 (dd, $J = 12.4, 2.4$ Hz, 1H, H-6_b'), 3.99 (dd, $J = 9.6, 8.8$ Hz, 1H, H-4), 3.94 (ddd, $J = 10.3, 4.0, 2.4$ Hz, 1H, H-5'), 3.67 (ddd, $J = 9.6, 4.4, 2.8$ Hz, 1H, H-5), 3.47 (s, 3H, -OCH₃), 2.13 (s, 3H, CH₃-CO), 2.08 (s, 3H, CH₃-CO), 2.03 (s, 3H, CH₃-CO), 2.01 – 2.00 (2 s, 6H, 2 x CH₃-CO), 1.98 (s, 6H, 2 x CH₃-CO). **¹³C NMR (151 MHz, CDCl_3):** δ

³¹⁹ Inouye, Y.; Onodera, K.; Karasawa, I.; Nishisawa, Y. *J. Agric. Chem. Soc. Japan* **1952**, 26 (12), 631–634.

170.64 (C=O), 170.63 (C=O), 170.59 (C=O), 170.33 (C=O), 170.06 (C=O), 169.81 (C=O), 169.52 (C=O), 101.21 (C-1), 95.63 (C-1'), 75.54 (C-3), 72.82 (C-4), 72.23, 72.21 (C-2, C-5), 70.11 (C-2'), 69.45 (C-3'), 68.60 (C-5'), 68.14 (C-4'), 62.91 (C-6), 61.62 (C-6'), 57.13 (-OCH₃), 21.02 (CH₃-CO), 20.95 (CH₃-CO), 20.80 (CH₃-CO), 20.80 (CH₃-CO), 20.72(CH₃-CO), 20.69 (CH₃-CO), 20.69 (CH₃-CO).

IR (ATR) ν_{\max} 3309 ($\nu_{\text{O-H}}$), 1294 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1080 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1047 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1058 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1030 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1012 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm⁻¹.

Methyl β -maltoside (7)



To a solution of methyl hepta-*O*-acetyl- β -maltoside **6** (8.21 g, 12.62 mmol) in methanol (50 mL), a solution of sodium (0.29 g, 12.61 mmol) in methanol (50 mL) was added. The reaction mixture was stirred for 3 h at room temperature, then it was neutralized with a cation-exchange resin (Amberlyst® IR-120, H⁺ form), filtered, and evaporated under vacuum to afford the desired methyl β -maltoside **7** (4.01 g, 89% yield), as a white solid.

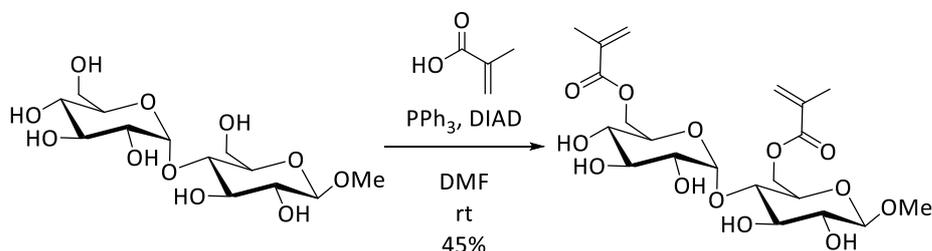
R_f: 0.37 (1:1, Cyclohexane-AcOEt); Mp: 106-108°C, lit.^{320,321}: 104-106 °C ; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: +83 (c 1, H₂O), lit.^{320,321}: +80 (c 1, H₂O)

¹H NMR (600 MHz, D₂O): δ 5.41 (d, J = 3.9 Hz, 1H, H-1'), 4.40 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H-1), 3.95 (dd, J = 12.2, 2.0 Hz, 1H, H-6_a), 3.86 (dd, J = 12.3, 2.2 Hz, 1H, H-6_a'), 3.80 – 3.75 (m, 3H, H-3, H-6_b, H-6_b'), 3.72 (ddd, J = 9.9, 5.1, 2.2 Hz, 1H, H-5'), 3.69 (dd, J = 9.9, 9.1 Hz, 1H, H-3'), 3.63 (dd, J = 9.9, 8.3 Hz, 1H, H-4), 3.60 (ddd, J = 9.9, 5.1, 2.0 Hz, 1H, H-5), 3.59 (dd, J = 9.9, 3.9 Hz, 1H, H-2'), 3.58 (s, 3H, -OCH₃), 3.42 (dd, J = 9.9, 9.1 Hz, 1H, H-4'), 3.30 (dd, J = 9.5, 8.0 Hz, 1H, H-2). ¹³C NMR (151 MHz, D₂O): δ 103.77 (C-1), 100.31 (C-1'), 77.59, 76.89, 75.23, 73.64, 73.54, 73.37, 72.36 (C-2, C-2', C-3, C-3', C-4, C-5, C-5'), 70.01 (C-4'), 61.37 (C-6), 61.16 (C-6'), 57.78 (-OCH₃).

IR (ATR) ν_{\max} 3309 ($\nu_{\text{O-H}}$), 1294 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1080 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1047 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1058 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1030 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1012 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm⁻¹.

³²⁰ Schoch, T. J.; Wilson, E. J.; Hudson, C. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1942**, 64 (12), 2871–2872.

³²¹ Cheetham, N. W. H.; Sirimanne, P. *Carbohydr. Res.* **1981**, 96 (1), 126–128.

Methyl 6,6'-di-*O*-methacryloyl- β -maltoside (8)

To a solution of methyl β -maltoside **7** (2.03 g, 5.92 mmol), triphenylphosphine (6.21 g, 23.67 mmol) and methacrylic acid (2.5 mL, 29.59 mmol) in anhydrous DMF (70 mL), diisopropyl azodicarboxylate (DIAD) (5.2 mL, 26.37 mmol) was added dropwise over 1 h at 0 °C under Ar atmosphere. The mixture was allowed to warm at room temperature. After stirring for 24 h, the reaction was concentrated under vacuum. The residue was then immediately purified by silica gel flash chromatography (4:0.7:0.3, ethyl acetate-methanol-water) followed by C18 reversed-phase flash chromatography (1:0 to 9:1, water:methanol) to afford compound **8** (1.23 g, 45% yield), as a white solid.

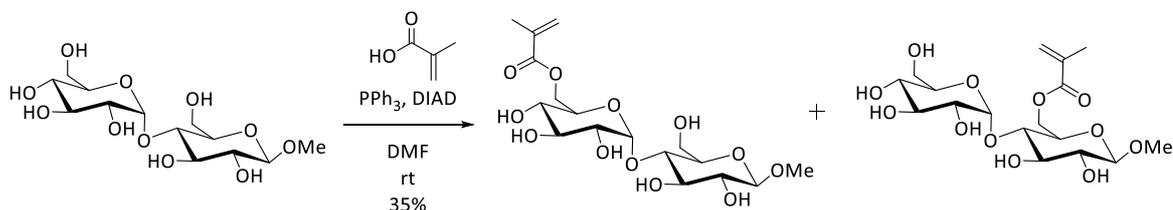
R_f: 0.52 (4:0.7:0.3, AcOEt-MeOH-H₂O); Mp: 60-62 °C (dec); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: +20 (c 0.26, MeOH)

¹H NMR (300 MHz, Pyr-*d*₅): δ 6.26 – 6.25 (m, 1H, =CHH), 6.24 – 6.23 (m, 1H, =CHH), 5.77 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1'), 5.51 (br. quint, *J* = 1.5 Hz, 1H, =CHH), 5.48 (br. quint, *J* = 1.5 Hz, 1H, =CHH), 5.12 (br. d, *J* = 11.6 Hz, 1H, H-6_a), 5.09 (br. d, *J* = 11.8 Hz, 1H, H-6_a'), 4.89 (dd, *J* = 11.8, 4.8 Hz, 1H, H-6_b'), 4.73 (dd, *J* = 11.6, 5.6 Hz, 1H, H-6_b), 4.65 (br.dd, *J* = 9.7, 4.8 Hz, 1H, H-5'), 4.63 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H-1), 4.58 (dd, *J* = 9.2, 9.0 Hz, 1H, H-3'), 4.29 (dd, *J* = 9.4, 9.0 Hz, 1H, H-3), 4.21 (dd, *J* = 9.2, 3.5 Hz, 1H, H-2'), 4.09 (br. t, *J* = 9.3 Hz, 2H, H-4, H-4'), 4.01 (dd, *J* = 9.0, 7.8 Hz, 1H, H-2), 3.90 (br. dd, *J* = 11.6, 5.6 Hz, 1H, H-5), 3.58 (s, 3H, -OCH₃), 1.95 (br. s, 3H, -CH₃), 1.92 (br. s, 3H, -CH₃). **¹³C NMR (75 MHz, Pyr-*d*₅):** δ 167.69 (C=O), 167.46 (C=O), 137.19 (C_{quat.}), 137.12 (C_{quat.}), 126.08 (=CH₂), 125.95 (=CH₂), 105.79 (C-1), 104.05 (C-1'), 82.80 (C-4), 78.03 (C-3), 75.44 (C-3'), 74.67 (C-2), 74.55 (C-2'), 73.81 (C-5), 72.91 (C-5'), 71.78 (C-4'), 65.35 (C-6'), 64.73 (C-6), 57.04 (-OCH₃), 18.72(-CH₃).

IR (ATR) ν_{max} 3323 ($\nu_{\text{O-H}}$), 2928 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1716 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1637 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1163 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1143 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1051 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1013 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm^{-1} .

ESIHRMS *m/z* calcd for C₂₁H₃₂O₁₃ [M+Na]⁺ 515.1731, found 515.1741.

Methyl 6'-O-methacryloyl- β -maltoside (9) and methyl 6-O-methacryloyl- β -maltoside (10)



To a solution of methyl β -maltoside **7** (2.00 g, 5.92 mmol), triphenylphosphine (3.065 g, 11.69 mmol) and methacrylic acid (1.2 mL, 14.61 mmol) in anhydrous DMF (50 mL), diisopropyl azodicarboxylate (DIAD) (2.3 mL, 11.69 mmol) was added dropwise over 1 h at 0 °C under Ar. The mixture was allowed to warm at room temperature. After stirring for 24 h, the reaction was concentrated under vacuum. The residue was then immediately purified by silica gel flash chromatography (4:0.7:0.3 ethyl acetate-methanol-water) followed by reversed-phase chromatography (1:0 to 9:1, water:methanol) to afford compounds **9** and **10** (0.84 g, 35% yield), as a white solid. LC-MS purification was then used to separate these two isomers (Column: C18 reverse phase, eluent: 1:0 to 9:1, water-methanol)

R_f (mixture): 0.23 (4:0.7:0.3, AcOEt-MeOH-H₂O); Mp (mixture): 70-71 °C (dec)

Analysis of Methyl 6'-O-methacryloyl- β -maltoside (9)

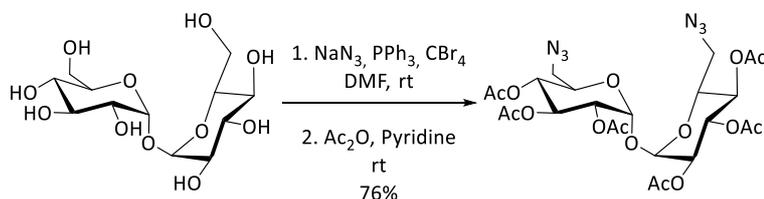
$[\alpha]_D^{20}$: +23 (c 0.06, MeOH)

¹H NMR (300 MHz, Pyr-*d*₅): δ 6.35 – 6.30 (br. s, 1H, =CHH), 5.90 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1'), 5.51–5.49 (m, 1H, =CHH), 5.09 (dd, *J* = 11.7, 2.0 Hz, 1H, H-6_a'), 4.80 (dd, *J* = 11.7, 6.5 Hz, 1H, H-6_b'), 4.69 (m, 1H, H-5'), 4.68 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H-1), 4.60 (dd, *J* = 9.6, 8.8 Hz, 1H, H-3'), 4.45 (dd, *J* = 12.1, 2.3 Hz, 1H, H-6_a), 4.41 (dd, *J* = 12.1, 4.4 Hz, 1H, H-6_b), 4.36 – 4.28 (m, 2H, H-3, H-4), 4.18 (dd, *J* = 9.6, 3.5 Hz, 1H, H-2'), 4.04 (dd, *J* = 10.0, 8.8 Hz, 1H, H-4'), 4.01 (dd, *J* = 9.2, 7.7 Hz, 1H, H-2), 3.81 – 3.75 (m, 1H, H-5), 3.58 (s, 3H, -OCH₃), 1.95 (br. s, 3H, -CH₃). **¹³C NMR (151 MHz, Pyr-*d*₅)**: δ 167.81 (C=O), 137.09 (C_{quat.}), 126.15 (=CH₂), 105.85 (C-1), 103.41 (C-1'), 81.76 (C-4), 78.14 (C-3), 77.14 (C-5), 75.55 (C-3'), 74.93 (C-2), 74.71 (C-2'), 72.68 (C-5'), 72.05 (C-4'), 65.86 (C-6'), 62.14 (C-6), 57.09 (-OCH₃), 18.73 (-CH₃).

IR (ATR) ν_{\max} 3367 ($\nu_{\text{O-H}}$), 2922 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1714 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1636 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1163 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1143 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1051 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1013 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm⁻¹.

ESIHRMS m/z calcd for $C_{21}H_{32}O_{13}$ $[M+Na]^+$ 447.1500, found 447.1478.

2,2',3,3',4,4'-Hexa-*O*-acetyl-6,6'-diazido-6,6'-dideoxy- α,α -trehalose (11)



To a stirred solution of anhydrous α,α -trehalose (6.05 g, 17.68 mmol) and sodium azide (22.98 g, 353.51 mmol) in anhydrous DMF (100 mL), triphenylphosphine (18.55 g, 70.70 mmol) was added under Ar followed by a solution of tetrabromomethane (23.45 g, 70.70 mmol) in anhydrous DMF (25 mL) under Ar. The mixture was stirred at room temperature for 60 h. Methanol (50 mL) was added and the solution was filtered. After solvent evaporation under reduced pressure, the residue was poured to a solution of water (200 mL) and toluene (200 mL) and the mixture was vigorously stirred and ethyl acetate was added dropwise until the aqueous phase becomes clear. The organic layer is extracted with water (2×200 mL). Aqueous layers were combined and reduced pressure to syrup.

The residue was dissolved in a solution of acetic anhydride (150 mL) and pyridine (150 mL). After stirring for 12 h at room temperature, the solvents were removed under reduced pressure and the residue was dissolved in ethyl acetate (200 mL). The organic layer was washed with water (200 mL), dried over $MgSO_4$, filtered and evaporated to dryness. The residue was recrystallized from methanol to afford compound **11** (9.34 g, 76% yield), as white crystals.

R_f: 0.27 (3:2, Cyclohexane-AcOEt); Mp: 119-121°C, lit.^{322,323,324}: 114-116 °C; $[\alpha]_D^{20}$: +138 (c 0.5, $CHCl_3$), lit.³²²: 134 (c 0.5, $CHCl_3$)

¹H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 5.46 (dd, $J = 9.2$ Hz, 10.3 Hz, 2H, H-3, H-3'), 5.32 (d, $J = 3.9$ Hz, 2H, H-1, H-1'), 5.07 (dd, $J = 10.3$ Hz, 3.9 Hz, 2H, H-2, H-2'), 4.98 (dd, $J = 9.2$ Hz, 10.2 Hz, 2H, H-4, H-4'), 4.08 (ddd, $J = 10.2$ Hz, 7.3 Hz, 2.5 Hz, 2H, H-5, H-5'), 3.36 (dd, $J = 13.3$ Hz, 7.3 Hz, 2H, H-6_a, H-6_a'), 3.16 (dd, $J = 13.3$ Hz, 2.5 Hz, 2H, H-6_b, H-6_b'), 2.12 (s, 6H, $2 \times CH_3$ -CO), 2.06 (s, 6H, $2 \times CH_3$ -CO), 2.02 (s, 6H, $2 \times CH_3$ -CO). **¹³C NMR (75 MHz, $CDCl_3$):** δ 170.07 ($2 \times C=O$), 169.75 ($4 \times C=O$), 93.13 (C-1, C-1'),

³²² Birch, G.; Richardson, A. C. *Carbohydr. Res.* **1968**, 8 (4), 411–415.

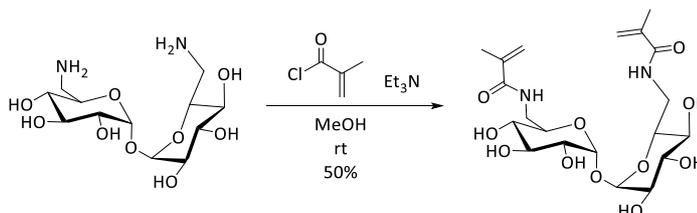
³²³ Srinivasachari, S.; Liu, Y.; Zhang, G.; Prevet, L.; Reineke, T. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128 (25), 8176–8184.

³²⁴ Kurita, K.; Masuda, N.; Aibe, S.; Murakami, K.; Ishii, S.; Nishimura, S.-I. *Macromolecules* **1994**, 27 (26), 7544–7549.

70.04, 69.95, 69.85, 69.79 (C-2, C-2', C-3, C-3', C-4, C-4', C-5, C-5'), 51.11(C-6, C-6'), 20.78 (3 × CH₃-CO).

IR (ATR) ν_{\max} 2098 ($\nu_{\text{N=N}}$), 1743 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1295 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1132 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1105 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1078 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1031 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm⁻¹.

6,6'-dideoxy-6,6'-dimethacrylamido- α,α -trehalose (**13**)



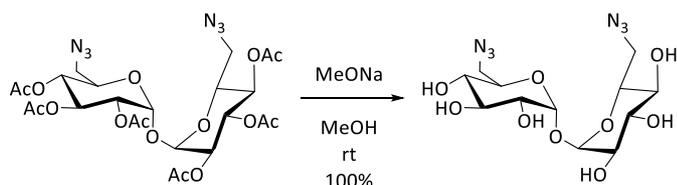
To a solution of 6,6'-diamino-6,6'-dideoxy- α,α -trehalose **18** (0.25 g, 0.74 mmol) and triethylamine (0.21 ml, 1.55 mmol) in methanol (15 mL), methacryloyl chloride (0.14 ml, 1.48 mmol) was added dropwise at 0 °C under Ar. The mixture was stirred at this temperature for 15 minutes. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was immediately purified by C18 reversed-phase flash chromatography (1:0 to 9:1, water:methanol) followed by silica gel flash chromatography (4:0.7:0.3 ethyl acetate-methanol-water) to afford compound **13** (0.18 g, 50% yield), as a white solid.

R_f: 0.23 (4:0.7:0.3, AcOEt-MeOH-H₂O); Mp: 70-74 °C (dec); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: +83 (c 0.25, MeOH)

¹H NMR (300 MHz, Pyr-d₅): δ 8.37 (t, J = 5.4 Hz, 2H, -NH), 6.98 (br. s, 6H, OH), 6.06 – 5.98 (m, 2H, =CHH), 5.69 (d, J = 3.9 Hz, 2H, H-1, H-1'), 5.30 (br. quint, J = 1.6 Hz, 2H, =CHH), 4.96 (ddd, J = 9.4, 5.7, 3.1 Hz, 2H, H-5, H-5'), 4.63 (dd, J = 9.1, 9.3 Hz, 2H, H-3, H-3'), 4.29 – 4.12 (m, 4H, H-2, H-2' H-6_a, H-6_a'), 4.06 (ddd, J = 13.9, 5.4, 3.1 Hz, 2H, H-6_b, H-6_b'), 3.92 (dd, J = 9.3, 9.4 Hz, 2H, H-4, H-4'), 2.04 (br. s, 6H, -CH₃). ¹³C NMR (75 MHz, Pyr-d₅): δ 170.01 (C=O), 141.42 (C_{quat.}), 119.75 (=CH₂), 97.12 (C-1, C-1'), 74.80 (C-3, C-3'), 73.85 (C-4, C-4', C-2, C-2'), 72.62 (C-5, C-5'), 42.12 (C-6, C-6'), 19.37 (-CH₃).

IR (ATR) ν_{\max} 3335 ($\nu_{\text{O-H}}$), 2924 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1653($\nu_{\text{C=O}}$), 1608($\nu_{\text{C=C}}$), 1533($\nu_{\text{N-H}}$), 1521 ($\nu_{\text{N-H}}$), 1147 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1105 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1078 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1039 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm⁻¹

ESIHRMS m/z calcd for C₂₀H₃₂N₂O₁₁ [M+Na]⁺ 499.1901, found 499.1904.

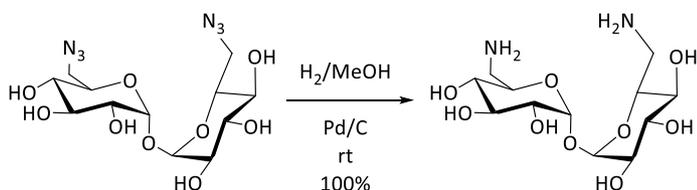
6,6'-diazido-6,6'-dideoxy- α,α -trehalose (17)

To a solution of 2,2',3,3',4,4'-hexa-*O*-acetyl-6,6'-diazido-6,6'-dideoxy- α,α -trehalose **11** (2.08 g, 3.11 mmol) in methanol (50 mL), a solution of sodium (0.07 g, 3.11 mmol) in methanol (50 mL) was added. The reaction mixture was stirred for 3 h at room temperature. The solution was neutralized with a cation-exchange resin (Amberlyst® IR-120, H⁺ form), filtered and concentrated under vacuum to dryness, leading to the desired compound **17** (1.23 g, 100% yield), as a white solid.

R_f: 0.75 (5:3:3:1, *i*-PrOH-H₂O-AcOEt-NH₄OH); Mp: 211-213 °C (dec) lit.^{322,325}: 211 °C (dec); [α]_D²⁰: +155 (*c* 1.0, H₂O) lit.³²²: +158 (*c* 0.7, H₂O)

¹H NMR (300 MHz, D₂O): δ 5.22 (d, *J* = 3.7 Hz, 2H, H-1, H-1'), 4.00 (ddd, *J* = 9.5 Hz, 5.8 Hz, 2.5 Hz, 2H, H-5, H-5'), 3.86 (dd, *J* = 9.8 Hz, 9.0 Hz, 2H, H-3, H-3'), 3.70 (dd, *J* = 13.5 Hz, 2.5 Hz, 2H, H-6_a, H-6_a'), 3.69 (dd, *J* = 9.0 Hz, 3.7 Hz, 2H, H-2, H-2'), 3.58 (dd, *J* = 13.5, 5.8 Hz, 2H, H-6_b, H-6_b'), 3.49 (dd, *J* = 9.8 Hz, 9.5 Hz, 2H, H-4, H-4'). ¹³C NMR (75 MHz, Pyr-*d*₅): δ 96.58 (C-1, C-1'), 75.00 (C-3, C-3'), 73.57 (C-2, C-2'), 73.36 (C-5, C-5'), 73.09 (C-4, C-4'), 53.02 (C-6, C-6').

IR (ATR) ν_{\max} 3271 ($\nu_{\text{O-H}}$), 2106 ($\nu_{\text{N=N=N}}$), 1284 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1147 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1109 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1066 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1041 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1030 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm⁻¹.

6,6'-diamino-6,6'-dideoxy- α,α -trehalose (18)

³²⁵ Rose, J. D.; Maddy, J. a.; Comber, R. N.; Suling, W. J.; Wilson, L. N.; Reynolds, R. C. *Carbohydr. Res.* **2002**, 337 (2), 105–120

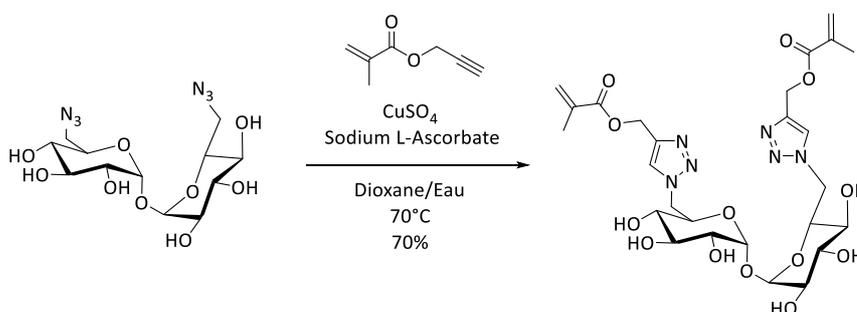
A solution of 6,6'-diazido-6,6'-dideoxy- α,α -trehalose **17** (1.22 g, 3.11 mmol) in methanol (100 mL) was continuously passed through a Pd/C cartridge on a constant flow hydrogenation setup (H-CUBE[®]) at 25 °C until TLC indicated disappearance of starting material. Methanol was removed under reduced pressure to afford compound **18** (1.07 g, 100% yield), as a white solid.

R_f: 0.13 (5:3:3:1, *i*-PrOH-H₂O-AcOEt-NH₄OH), lit.³²⁶ : 0.13; Mp: 198-201°C, lit.³²⁴: 200 °C; [α]_D²⁰: +163 (c 0.12, MeOH)

¹H NMR (300 MHz, D₂O): δ 5.22 (d, *J* = 3.8 Hz, 2H, H-1, H-1'), 3.85 (dd, *J* = 9.9 Hz, 9.0 Hz, 2H, H-3, H-3'), 3.77 (ddd, *J* = 10.1, 7.7, 2.8 Hz, 2H, H-5, H-5'), 3.67 (dd, *J* = 9.9, 3.8 Hz, 2H, H-2, H-2'), 3.35 (dd, *J* = 10.1 Hz, 9.0 Hz, 2H, H-4, H-4'), 3.02 (dd, *J* = 13.7, 2.8 Hz, 2H, H-6_a, H-6_a'), 2.77 (dd, *J* = 13.7, 7.7 Hz, 2H, H-6_b, H-6_b'). ¹³C NMR (75 MHz, D₂O): δ 93.64 (C-1, C-1'), 73.17, 73.08 (C-5, C-5', C-3, C-3'), 72.02 (C-4, C-4'), 71.77 (C-2, C-2'), 42.12 (C-6, C-6').

IR (ATR) ν_{\max} 3288 ($\nu_{\text{O-H, N-H}}$), 2933 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1631 ($\nu_{\text{N-H}}$), 1149 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1101 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1083 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1060 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1035 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm⁻¹.

6,6'-dideoxy-6,6'-bis-(4-methacryloyloxymethyl-1,2,3-triazol-1-yl)- α,α -trehalose (**19**)



6,6'-diazido-6,6'-dideoxy- α,α -trehalose **17** (0.50 g, 1.27 mmol) and propargyl methacrylate (0.31 mL, 2.54 mmol) were dissolved in dioxane (40 mL) and water (10 mL) (4:1). Sodium L-ascorbate (0.25 g, 1.27 mmol) and copper (II) sulfate pentahydrate (0.16 g, 0.64 mmol) were added to the solution and the mixture was heated by microwave irradiation (1h, 200 W, 70 °C). Copper salts were filtered off and washed with methanol. The filtrate was concentrated under vacuum and

³²⁶ Cucinotta, V.; Giuffrida, A.; Maccarrone, G.; Messina, M.; Puglisi, A.; Vecchio, G. *Electrophoresis* **2007**, *28* (15), 2580–2588.

the resulting residue was immediately purified by C18 reversed-phase flash chromatography (1:0 to 9:1, water:methanol) followed by silica gel flash chromatography (4:0.7:0.3 ethyl acetate-methanol-water) to afford compound **19** (0.57 g, 70% yield), as a white solid.

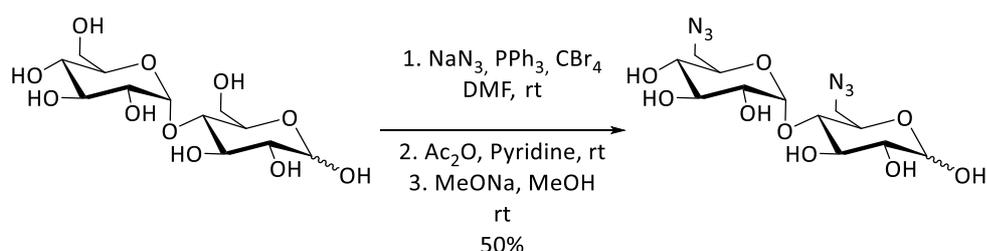
R_f: 0.37 (4:0.7:0.3, AcOEt-MeOH-H₂O); Mp: 69°C-72 °C (dec); [α]_D²⁰: +129 (c 0.27, MeOH)

¹H NMR (300 MHz, Pyr-*d*₅): δ 8.49 (s, 2H, =CH-), 6.16 – 6.08 (m, 2H, =CHH), 5.48 (s, 4H, O-CH₂-), 5.45 (m, 2H, =CHH), 5.44 (d, *J* = 3.7 Hz, 2H, H-1, H-1'), 5.26 – 5.09 (m, 4H, H-5, H-5', H-6_a, H-6_a'), 4.97 (dd, *J* = 14.2, 7.9 Hz, 2H, H-6_b, H-6_b'), 4.62 (dd, *J* = 9.6, 8.7 Hz, 2H, H-3, H-3'), 4.07 (dd, *J* = 9.6, 3.7 Hz, 2H, H-2, H-2'), 3.81 (dd, *J* = 9.8, 8.7 Hz, 2H, H-4, H-4'), 1.86 (br. s, 6H, -CH₃). **¹³C NMR (75 MHz, Pyr-*d*₅):** δ 167.38 (C=O), 143.27 (2 × C_{quat.} (triazole)), 136.79 (2 × C_{quat.} (methacrylate)), 126.40 (2 × =CH₂), 126.15 (2 × =CH-), 96.34 (C-1, C-1'), 75.05 (C-3, C-3'), 73.31 (C-4, C-4'), 73.18 (C-2, C-2'), 71.68 (C-5, C-5'), 58.85 (O-CH₂), 52.38 (C-6, C-6'), 18.60 (2 × -CH₃).

IR (ATR) ν_{max} 3344 (ν_{O-H}), 2929 (ν_{C-H}), 1712 (ν_{C=O}), 1635 (ν_{C=C}), 1294 (ν_{C-O}), 1147 (ν_{C-O}), 1105 (ν_{C-O}), 1058 (ν_{C-O}), 1037 (ν_{C-O}) cm⁻¹.

ESIHRMS *m/z* calcd for C₂₆H₃₆N₆O₁₃ [M+Na]⁺ 663.2240, found 663.2238.

6,6'-diazido-6,6'-dideoxy-maltose (**20**)²⁷³



To a stirred solution of maltose monohydrate (5.00 g, 13.88 mmol) and sodium azide (18.04 g, 277.53 mmol) in anhydrous DMF (75 mL), triphenylphosphine (14.55 g, 55.51 mmol) was added under Ar atmosphere followed by a solution of tetrabromomethane (18.40 g, 55.51 mmol) in anhydrous DMF (25 mL). The mixture was stirred at room temperature for 60 h. Methanol (50 mL) was added and the solution was filtered. After solvent evaporation under reduced pressure, the residue was dissolved in a solution of water (200 mL) and toluene (200 mL) and the mixture was vigorously stirred. Ethyl acetate was added dropwise until the aqueous phase becomes clear. The

organic layer is extracted with water (2 × 200 mL). Aqueous layers were combined and evaporated under reduced pressure to syrup.

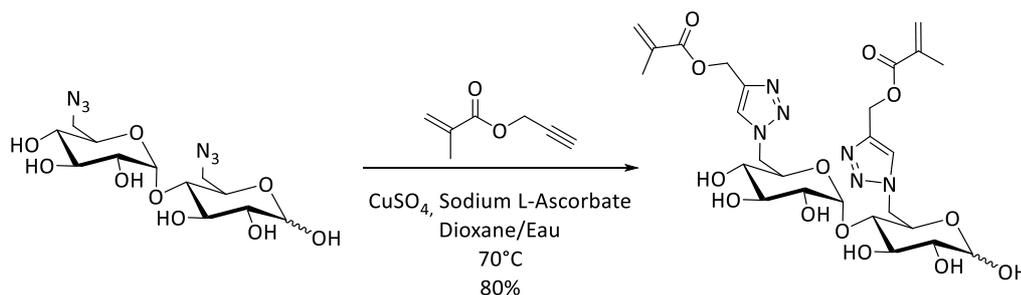
The residue was dissolved in acetic anhydride (150 mL) and pyridine (150 mL). After stirring for 12 h at room temperature, the solvents were removed under reduced pressure and the residue was dissolved in ethyl acetate (200 mL). The organic layer was washed with water (200 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated to dryness. The residue was purified by silica gel flash chromatography (6:4, cyclohexane-ethyl acetate) to afford compound as a white solid. The compound's properties were similar as reported in the literature¹.

To a solution of intermediate (2.08 g, 3.11 mmol) in methanol (50 mL), a solution of sodium (0.07 g, 3.11 mmol) in methanol (50 mL) was added. The reaction mixture was stirred for 3 h at room temperature. The solution was neutralized with a cation-exchange resin (Amberlyst® IR-120, H⁺ form), filtered and concentrated under vacuum to dryness, leading to the desired compound **20** (1.23 g, 100% yield), as a white solid.

R_f: 0.23 (4:0.7:0.3, AcOEt-MeOH-H₂O); Mp: 210-211 °C (dec)

¹H NMR (600 MHz, D₂O): δ 5.34 (d, *J* = 3.8 Hz, 2H, H-1'_α, H-1'_β), 5.15 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, H-1_α), 4.59 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-1_β), 3.99 (ddd, *J* = 9.9, 4.8, 2.5 Hz, 1H, H-5_α), 3.87 (dd, *J* = 9.9, 8.9 Hz, 1H, H-3_α), 3.75 – 3.44 (m, 19H, H-2_α, H-4_α, H-6_{aα}, H-6_{bα}, H-2'_α, H-3'_α, H-5'_α, H-6'_{aα}, H-6'_{bα}, H-3_β, H-4_β, H-5_β, H-6_{aβ}, H-6_{bβ}, H-2'_β, H-3'_β, H-5'_β, H-6'_{aβ}, H-6'_{bβ}), 3.36 – 3.29 (m, 2H, H-4'_α, H-4'_β), 3.21 (dd, *J* = 9.5, 8.0 Hz, 1H, H-2_β). **¹³C NMR (151 MHz, D₂O):** δ 99.77, 99.66 (C-1'_α, C-1'_β), 95.76 (C-1_β), 91.86 (C-1'_α), 77.87, 77.60, 75.90, 73.82, 72.98, 72.90, 72.45, 72.44, 71.56, 71.49, 71.47, 71.11, 70.13, 70.10 (C-2_β, C-2'_β, C-3_β, C-3'_β, C-4_β, C-4'_β, C-5_β, C-5'_β, C-2_α, C-2'_α, C-3_α, C-3'_α, C-4_α, C-4'_α, C-5'_α), 68.44 (C-5_α), 51.06, 51.05, 50.84, 50.72 (C-6_α, C-6'_α, C-6_β, C-6'_β).

IR (ATR) ν_{max} 3277 (ν_{O-H}), 2119-2106 (ν_{N=N=N}), 1286 (ν_{C-O}), 1147 (ν_{C-O}), 1109 (ν_{C-O}), 1066 (ν_{C-O}), 1043 (ν_{C-O}), 1030 (ν_{C-O}) cm⁻¹.

6,6'-bis-(4-methacryloyloxymethyl-1,2,3-triazol-1-yl)-6,6'-dideoxy-maltose (21)

6,6'-diazido-6,6'-dideoxy-maltose **20** (1.35 g, 3.45 mmol) and propargyl methacrylate (0.86 mL, 6.89 mmol) were dissolved in dioxane-water (50 mL) (4:1). Sodium L-ascorbate (0.68 g, 3.45 mmol) and copper (II) sulfate pentahydrate (0.43 g, 1.72 mmol) were added to the solution and the mixture was heated by microwave irradiation (1 h, 200 W, 70 °C). Cooper salts were filtered off and washed with methanol. The filtrate was concentrated under vacuum and the resulting residue was immediately purified by C18 reversed-phase flash chromatography (1:0 to 9:1, water:methanol) followed by silica gel flash chromatography (4:0.7:0.3 ethyl acetate-methanol-water) to afford compound **21** (1.76 g, 80% yield), as a white solid.

R_f: 0.37 (4:0.7:0.3, AcOEt-MeOH-H₂O); Mp: 80-83 °C (dec)

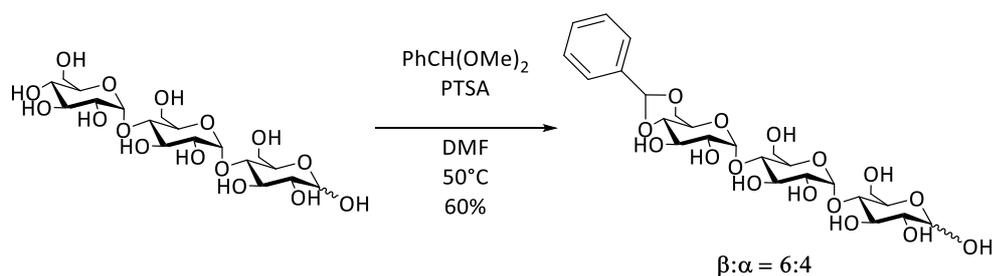
¹H NMR (600 MHz, D₂O): δ 8.11 (s, 1H, =CH-(triazole)_α), 8.10, 7.94 (2 s, 1H each, =CH-(triazole)_β), 7.91(s, 1H, =CH-(triazole)_α), 6.18 – 6.14 (m, 2H, =CHH_{α,β}), 6.08 – 6.03 (m, 2H, =CHH_{α,β}), 5.76 – 5.71 (m, 2H, =CHH_{α,β}), 5.705 (br. quint, *J* = 1.5 Hz, 1H, =CHH_β), 5.698 (br. quint, *J* = 1.5 Hz, 1H, =CHH_α), 5.34 – 5.30 (m, 4H, O-CH_{2α,β}), 5.29 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, H-1'_α), 5.28 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, H-1'_β), 5.07 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, H-1_α), 4.98 (dd, *J* = 14.7, 2.1 Hz, 2H, H-6'_{αα}), 4.97 (dd, *J* = 14.7, 2.1 Hz, 2H, H-6'_{αβ}), 4.940 (br. s, 2H, O-CH_{2α}), 4.91 (s, 2H, O-CH_{2β}), 4.57 (dd, *J* = 14.7, 9.7 Hz, 2H, H-6'_{βα}, H-6'_{ββ}), 4.49 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, H-1_β), 4.18 (ddd, *J* = 10.2, 9.7, 2.1 Hz, 1H, H-5'_α), 4.17 (ddd, *J* = 10.2, 9.7, 2.1 Hz, 1H, H-5'_β), 4.07 (ddd, *J* = 9.9, 7.3, 2.8 Hz, 1H, H-5_α), 3.96 (dd, *J* = 14.4, 2.7 Hz, 1H, H-6_{αβ}), 3.95 (dd, *J* = 14.4, 2.8 Hz, 1H, H-6_{αα}), 3.89 (dd, *J* = 10.0, 8.8 Hz, 1H, H-3_α), 3.84 (dd, *J* = 14.4, 7.4 Hz, 1H, H-6_{ββ}), 3.803 (dd, *J* = 14.4, 7.3 Hz, 1H, H-6_{βα}), 3.800 (dd, *J* = 10.0, 8.9 Hz, 1H, H-3'_α), 3.79 (dd, *J* = 10.0, 8.9 Hz, 1H, H-3'_β), 3.75 (ddd, *J* = 9.9, 7.4, 2.7 Hz, 1H, H-5_β), 3.702 (dd, *J* = 9.6, 8.7 Hz, 1H, H-3_β), 3.702 (dd, *J* = 10.0, 3.8 Hz, 1H, H-2'_β), 3.700 (dd, *J* = 10.0, 3.8 Hz, 1H, H-2'_α), 3.439 (dd, 1H, *J* = 10.2, 8.9 Hz, H-4'_α), 3.434 (dd, 1H, *J* = 10.2, 8.9 Hz, H-4'_β), 3.42 (dd, 1H, *J* = 3.7, 10.0 Hz, H-2_α), 3.28 (dd, *J* = 9.9, 8.7 Hz, 1H, H-4_β), 3.20 (dd, *J* = 9.9, 8.8 Hz, 1H, H-4_α), 3.16 (dd, *J* = 9.6, 7.9 Hz, 1H, H-2_β), 1.94 – 1.91 (m, 6H, 2 × -CH₃), 1.89 – 1.84

(m, 6H, 2 × -CH₃). ¹³C NMR (151 MHz, D₂O): δ 169.05 (C=O), 168.74 (C=O), 142.43 (4 × C_{quat.} (triazole)), 135.51 (2 × C_{quat.} (methacrylate)), 135.28 (2 × C_{quat.} (methacrylate)), 127.43 (2 × =CH₂), 127.37 (=CH₂), 127.32 (2 × =CH₂), 126.57 (=CH-), 126.50 (=CH-), 126.43 (=CH-), 101.09, 100.98 (C-1'_α, C-1'_β), 95.60 (C-1_β), 91.68 (C-1_α), 81.04, 80.95 (C-4_α, C-3_β), 75.51, 73.32 (C-2_β), 72.68, 72.68, 72.40, 72.03, 72.01, 71.93, 71.67, 71.59, 71.12, 71.06, 70.70 (C-2_β, C-2'_β, C-3_β, C-3'_β, C-4_β, C-4'_β, C-5_β, C-5'_β, C-2_α, C-2'_α, C-3_α, C-3'_α, C-4_α, C-4'_α, C-5'_α), 67.62 (C-5_α), 57.48 (2 × O-CH₂), 57.22 (2 × O-CH₂), 51.60, 50.14, 50.09 (C-6_α, C-6'_α, C-6_β, C-6'_β), 17.31, 17.27, 17.26 (4 × -CH₃).

IR (ATR) ν_{max} 3383 (ν_{O-H}), 2927 (ν_{C-H}), 1716 (ν_{C=O}), 1508 (ν_{C=C}), 1296 (ν_{C-O}), 1153 (ν_{C-O}), 1105 (ν_{C-O}), 1058 (ν_{C-O}), 1033 (ν_{C-O}) cm⁻¹.

ESIHRMS *m/z* calcd for C₂₆H₃₆N₆O₁₃ [M+Na]⁺ 663.2242, found 663.2248.

4'',6''-O-Benzylidenemaltotriose (27)



To a solution of maltotriose (6.55 g, 12.98 mmol) in anhydrous dimethylformamide (15 mL) were added benzaldehyde dimethyl acetal (4.4 mL, 25.97 mmol) and *p*-toluenesulfonic acid monohydrate (25 mg, 0.13 mmol) under an argon atmosphere. The reaction was stirred at 50 °C in a vacuum for 4 h. The solution was concentrated under vacuum and the resulting residue was immediately purified by silica gel flash chromatography (1:1 chloroform-methanol) followed by C18 reversed-phase flash chromatography (1:0 to 1:1, water:methanol) to afford compound **27** (4.59 g, 60% yield), as a white solid.

R_f: 0.58 (1:1, Chloroform-Methanol)

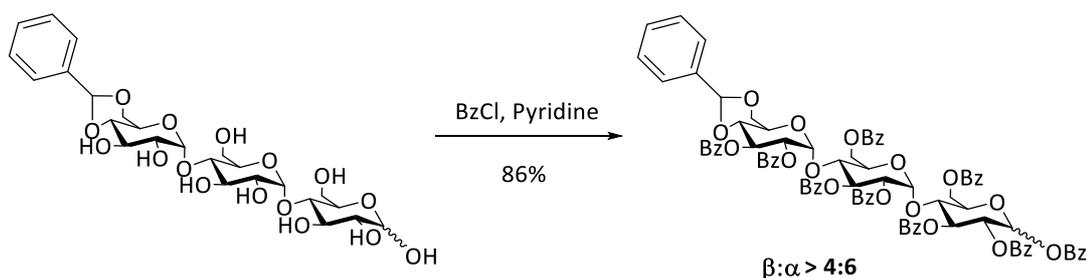
¹H NMR (600 MHz, D₂O): δ 7.53 – 7.47 (m, 4H, 4 × H_{Ph α,β}), 7.46 – 7.40 (m, 6H, 6 × H_{Ph α,β}), 5.68 (s, 2H, 2 × Ph-CH_{α,β}), 5.43 – 5.36 (m, 2H, H-1''_α, H-1''_β), 5.36 – 5.29 (m, 2H, H-1'_α, H-1'_β), 5.18 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, H-1_α), 4.59 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-1_β), 4.25 (dd, *J* = 10.1, 4.6 Hz, 2H, H-6''_{αα}, H-6''_{αβ}), 3.95 – 3.48 (m,

33H, H-2_α, H-3_α, H-4_α, H-5_α, H-6_{αα}, H-6_{βα}, H-3_β, H-4_β, H-5_β, H-6_{αβ}, H-6_{bb}, H-2'_α, H-3'_α, H-4'_α, H-5'_α, H-6'_{αα}, H-6'_{βα}, H-2'_β, H-3'_β, H-4'_β, H-5'_β, H-6'_{αβ}, H-6'_{bb}, H-2''_α, H-3''_α, H-4''_α, H-5''_α, H-6''_{αα}, H-2''_β, H-3''_β, H-4''_β, H-5''_β, H-6''_{bb}), 3.22 (dd, $J = 9.5, 8.0$ Hz, 1H, H-2_β). **¹³C NMR (151 MHz, D₂O):** δ 136.77 (2 × C_{quat. (Ph α,β)}) 130.53 (2 × CH_{Ph α,β}), 129.35 (4 × CH_{Ph α,β}), 126.91 (2 × CH_{Ph α,β}), 126.90 (2 × CH_{Ph α,β}), 102.41 (2 × Ph-CH_{α,β}), 101.18, 101.15 (C-1''_α, C-1''_β), 100.32, 100.22 (C-1'_α, C-1'_β), 96.42 (C-1_β), 92.54 (C-1_α), 80.79, 77.99, 77.72, 77.60, 77.53, 76.78, 75.17, 74.60, 73.94, 73.81, 72.96, 72.93, 72.26, 72.16, 71.91, 71.63, 71.60, 70.70, 70.57 (C-2_{α,β}, C-3_{α,β}, C-4_{α,β}, C-5_{α,β}, C-2'_{α,β}, C-3'_{α,β}, C-4'_{α,β}, C-5'_{α,β}, C-2''_{α,β}, C-3''_{α,β}, C-4''_{α,β}) 68.66 (C-6''_{α,β}), 63.97 (C-5''_{α,β}), 61.28, 61.15, 61.00 (C-6_{α,β}, C-6'_{α,β}).

IR (ATR) ν_{\max} 3395 ($\nu_{\text{O-H}}$), 2938 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1541 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1520 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1053 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1031 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm^{-1} .

ESIHRMS m/z calcd for C₂₅H₃₆O₁₆ [M+Na]⁺ 615.1901, found 615.1884.

Nona-*O*-benzoyl-4'',6''-*O*-benzylidenemaltotriose (**28**)



To a solution of 4'',6''-*O*-Benzylidene-maltotriose **27** (3.20 g, 4.94 mmol) in pyridine (20 mL) was added benzoyl chloride (11.5 mL, 98.83 mmol). The mixture was allowed to stir at room temperature for 24 h. The excess of benzoyl chloride was quenched with methanol. The solvents were removed under reduced pressure and the residue was dissolved in dichloromethane (100 mL). The organic layer was washed with water (2 x 100 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated to dryness. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (6:4 cyclohexane-ethyl acetate) to give compound **28** (6.51 g, 86% yield), as a white solid.

R_f: 0.65 (4:6, AcOEt-Cyclohexane)

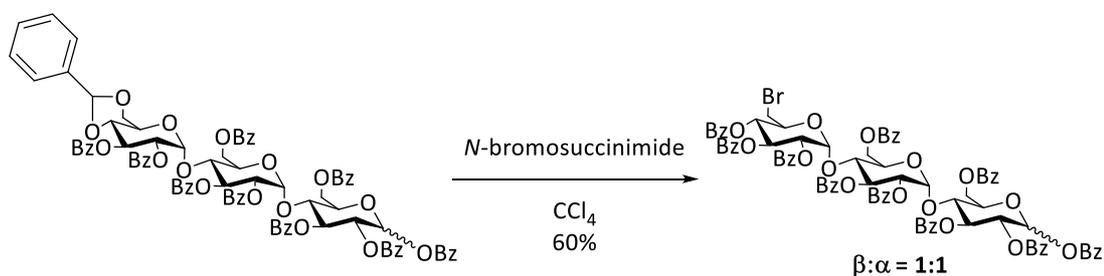
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.23 – 7.97 (m, 12H, 12 × H_{Ph α,β}), 7.87 – 7.06 (m, 88H, 88 × H_{Ph α,β}), 6.75 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, H-1_α), 6.26 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, H-1_β), 6.17 – 6.07 (m, 1H, H-3_α), 6.00 – 5.83 (m, 4H, H-3'_α, H-3'_β, H-3''_α, H-3''_β), 5.74 (t, $J = 8.3$ Hz, 1H, H-3_β), 5.68 – 5.62 (m, 3H, H-1'_α, H-1''_α, H-1'_β), 5.61

– 5.55 (m, 2H, H-1''_β, H-2_β), 5.44 (s, 2H, 2 × Ph-CH_{α,β}), 5.39 (dd, *J* = 10.1, 3.7 Hz, 1H, H-2_α), 5.27 (dd, *J* = 10.3, 4.1 Hz, 1H, H-2'_β or H-2''_β) 5.25 (dd, *J* = 10.2, 4.2 Hz, 1H, H-2'_α or H-2''_α), 5.10 (dd, *J* = 10.0, 3.7 Hz, 1H, H-2'_α or H-2''_α) 5.06 (dd, *J* = 9.8, 3.8 Hz, 1H, H-2'_β or H-2''_β), 4.95 (br. d, *J* = 12.4 Hz, 1H, H-6_{αα}), 4.90 (br. d, *J* = 12.5 Hz, 1H, H-6_{αβ}), 4.78 – 4.24 (m, 14H, H-4_α, H-5_α, H-6_{bα}, H-4_β, H-5_β, H-6_{bβ}, H-4'_α, H-5'_α, H-6'_{aα}, H-6'_{bα}, H-4'_β, H-5'_β, H-6'_{aβ}, H-6'_{bβ}), 4.14 and 4.13 (2 dd, *J* = 10.2, 4.7 Hz, 2H, H-6''_{aα}, H-6''_{aβ}), 4.00 (ddd, *J* = 10.2, 9.6, 4.7 Hz, 1H, H-5''_α), 3.92 (ddd, 10.2, 9.6, 4.7 Hz, 1H, H-5''_β), 3.80 (t, *J* = 9.6 Hz, 1H, H-4''_α), 3.79 (t, *J* = 9.6 Hz, 1H, H-4''_β), 3.64 (t, *J* = 10.2 Hz, 1H, H-6''_{bα}), 3.63 (t, *J* = 10.2 Hz, 1H, H-6''_{bβ}). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 166.12, 165.76, 165.54, 165.41, 164.96, 164.87, 164.65, 164.53 (19 × C=O), 136.93, 133.83, 133.34, 133.12, 132.97, 130.26, 130.20, 130.12, 129.97, 129.92, 129.73, 129.58, 129.15, 129.06, 128.86, 128.78, 128.65, 128.45, 128.38, 128.30, 128.23, 128.17, 128.14, 128.03, 126.37 (120 × C_{Ph α,β}), 101.68, 101.62 (2 × Ph-CH_{α,β}), 98.16, 96.88, 96.03 (C-1'_{α,β}, C-1''_{α,β}), 92.18 (C-1_β), 89.93 (C-1_α), 79.32 (C-4''_{α,β}), 75.12 (C-3_β), 74.17, 73.51, 73.20, 72.57, 72.30, 71.78, 71.42, 71.18, 70.99, 70.35, 70.15, 69.61, 69.49 (C-2_{α,β}, C-3_α, C-4_{α,β}, C-5_{α,β}, C-2'_{α,β}, C-3'_{α,β}, C-4'_{α,β}, C-5'_{α,β}, C-2''_{α,β}, C-3''_{α,β}), 68.48 (C-6''_{α,β}), 64.23, 64.14 (C-5''_{α,β}), 62.92, 62.70 (C-6_{α,β}, C-6'_{α,β}).

IR (ATR) ν_{\max} 1732 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1556 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1541 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1520 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1508 ($\nu_{\text{C=C}}$) 1267 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1096 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1067 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1030 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm⁻¹.

ESIHRMS *m/z* calcd for C₈₈H₇₂O₂₅ [M+Na]⁺ 1551.4260, found 1551.4259.

Deca-*O*-benzoyl-6''-bromo-6''-deoxymaltotriose (29)



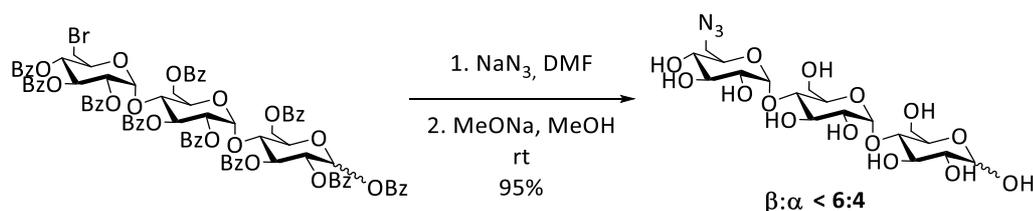
A solution of nona-*O*-benzoyl-4'',6''-*O*-benzylidenemaltotriose **28** (3.48 g, 2.27 mmol) was dissolved in tetrachloromethane (40 mL) beforehand deoxygenated and under an argon atmosphere. *N*-bromosuccinimide (0.62 g, 3.51 mmol) was added and the mixture was allowed to

reflux for 2 h. The reaction was diluted in dichloromethane and washed with 10% aqueous $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (100 mL). The organic layer was dried over MgSO_4 , filtered and concentrated under vacuum to dryness. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (6:4 cyclohexane-ethyl acetate) to give compound **29** (2.22 g, 60% yield), as a white solid.

R_f : 0.39 (6:4, Cyclohexane-AcOEt)

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8.25 – 7.10 (m, 100H, $100 \times \text{H}_{\text{Ph } \alpha, \beta}$), 6.79 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, H-1 $_{\alpha}$), 6.27 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, H-1 $_{\beta}$), 6.18 (dd, $J = 7.7, 10.1$ Hz, 1H, H-3 $_{\alpha}$), 6.10 (2 br. dd, 2H, H-3'' $_{\alpha}$, H-3'' $_{\beta}$), 6.00 and 5.98 (2 dd, 2H, H-3' $_{\alpha}$, H-3' $_{\beta}$), 5.84 – 5.78 (m, 3H, H-3 $_{\beta}$, H-1'' $_{\alpha}$, H-1'' $_{\beta}$), 5.74 and 5.68 (2 d, $J = 3.8$ Hz, 2H, H-1' $_{\alpha}$, H-1' $_{\beta}$), 5.62 (dd, 1H, H-2 $_{\beta}$), 5.59 and 5.58 (2 dd, 2H, H-4'' $_{\alpha}$, H-4'' $_{\beta}$), 5.43 (dd, $J = 10.1, 3.6$ Hz, 1H, H-2 $_{\alpha}$), 5.30 and 5.29 (2 dd, 2H, H-2'' $_{\alpha}$, H-2'' $_{\beta}$), 5.20 (dd, 1H, $J = 10.1, 3.8$ Hz) and 5.15 (dd, $J = 9.9, 3.8$ Hz, 1H) (H-2' $_{\alpha}$, H-2' $_{\beta}$), 5.00 (d, 1H), 4.98 (d, 1H), 4.80 – 4.71 (m, 4H) (H-6 $_{\alpha, \beta}$, H-6' $_{\alpha, \beta}$), 4.68 – 4.54 (m, 4H, H-4 $_{\alpha}$, H-4 $_{\beta}$, H-6 $_{\alpha, \beta}$, H-6' $_{\alpha, \beta}$), 4.54 – 4.24 (m, 8H, H-5 $_{\alpha, \beta}$, H-4' $_{\alpha, \beta}$, H-5' $_{\alpha, \beta}$, H-5'' $_{\alpha, \beta}$), 3.46 (d, $J = 11.7$ Hz, 2H, H-6'' $_{\alpha, \beta}$), 3.39 (dd, $J = 4.3, 11.7$ Hz, 2H, H-6'' $_{\alpha, \beta}$). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3): δ 166.24, 166.19, 166.01, 165.57, 165.56, 165.52, 165.50, 165.48, 165.27, 165.08, 165.06, 164.90, 164.87, 164.84, 164.63, 164.55 ($20 \times \text{C}=\text{O}$), 133.86, 133.82, 133.65, 133.59, 133.56, 133.55, 133.49, 133.42, 133.39, 133.33, 133.28, 133.26, 133.23, 133.22, 133.17, 133.12, 133.12, 130.23, 130.10, 130.07, 129.95, 129.89, 129.80, 129.71, 129.68, 129.62, 129.50, 129.47, 129.05, 129.01, 128.85, 128.77, 128.73, 128.69, 128.66, 128.58, 128.52, 128.44, 128.39, 128.31, 128.28, 128.25, 128.23, 128.17, 128.09, 127.97 ($120 \times \text{C}_{\text{Ph } \alpha, \beta}$), 97.28 (C-1'), 97.01 (C-1'' $_{\alpha}$, C-1'' $_{\beta}$), 96.68 (C-1'), 92.24 (C-1 $_{\beta}$), 89.86 (C-1 $_{\alpha}$), 75.01 (C-3 $_{\beta}$), 74.05, 73.99, 73.59, 73.56, 73.34, 72.20, 71.77, 71.66, 71.31, 71.28, 70.95, 70.85, 70.79, 70.75, 70.73, 70.46, 70.24, 69.87, 69.82, 69.59 57 (C-2 $_{\alpha, \beta}$, C-3 $_{\alpha}$, C-5 $_{\alpha, \beta}$, C-2' $_{\alpha, \beta}$, C-3' $_{\alpha, \beta}$, C-4' $_{\alpha, \beta}$, C-5' $_{\alpha, \beta}$, C-2'' $_{\alpha, \beta}$, C-4'' $_{\alpha, \beta}$), 69.87, 69.82 (C-4' $_{\alpha, \beta}$), 69.87, 69.82 (C-3'' $_{\alpha, \beta}$), 69.59 (C-5'' $_{\alpha, \beta}$), 63.17, 63.14, 63.00, 62.77 (C-6 $_{\alpha, \beta}$, C-6' $_{\alpha, \beta}$), 31.65 (C-6'' $_{\alpha, \beta}$).

6''-azido-6''deoxy-maltotriose (**30**)



Sodium azide (0.27 g, 4.10 mmol) was added to solution of deca-O-benzoyl-6''-bromo-6''-deoxymaltotriose **29** (2.20 g, 1.37 mmol) in dimethylformamide (10 mL). The reaction was stirred at 80 °C for 12 h. The solvent was then evaporated under pressure and the resulting residue was dissolved in dichloromethane (50 mL). The organic layer was washed with water (2 x 20 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated to dryness. The residue was used without purification for debenzoylation.

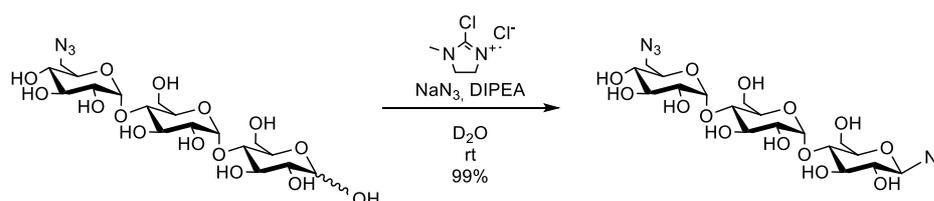
To a solution of the azide intermediate (0.78 g, 0.50 mmol) in methanol (50 mL), a solution of sodium (0.06 g, 2.49 mmol) in methanol (50 mL) was added. The reaction mixture was stirred for 12 h at room temperature. The solution was neutralized with a cation-exchange resin (Amberlyst® IR-120, H⁺ form), filtered and concentrated under vacuum to dryness. The residue was then purified by preparative HPLC C18 leading to the desired compound **30** (0.25 g, 95% yield), as a white gum.

¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ 5.34 (d, *J* = 3.4 Hz, 4H, H-1'_α, H-1'_β, H-1''_α, H-1''_β), 5.17 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, H-1_α), 4.59 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-1_β), 4.06 – 3.44 (m, 33H, H-2_α, H-3_{α,β}, H-4_{α,β}, H-5_{α,β}, H-6_{a(α,β)}, H-6_{b(α,β)}, H-2'_{α,β}, H-3'_{α,β}, H-4'_{α,β}, H-5'_{α,β}, H-6'_{a(α,β)}, H-6'_{b(α,β)}, H-2''_{α,β}, H-3''_{α,β}, H-5''_{α,β}, H-6''_{a(α,β)}, H-6''_{b(α,β)}), 3.35 (t, *J* = 9.4 Hz, 2H, H-4''_{α,β}), 3.22 (dd, *J* = 9.4, 8.0 Hz, 1H, H-2_β). **¹³C NMR (101 MHz, D₂O):** δ 100.42, 100.13, 100.05 (C-1'_{α,β}, C-1''_{α,β}), 96.39 (C-1_β), 92.52 (C-1_α), 77.76, 77.65, 77.62, 77.53, 76.80, 75.17, 74.61, 73.98, 73.96, 73.81, 73.23, 72.31, 72.29, 72.16, 72.08, 71.91, 71.78, 71.76, 70.83, 70.57 (C-2_{α,β}, C-3_{α,β}, C-4_{α,β}, C-5_{α,β}, C-2'_{α,β}, C-3'_{α,β}, C-4'_{α,β}, C-5'_{α,β}, C-2''_{α,β}, C-3''_{α,β}, C-4''_{α,β}, C-5''_{α,β}), 61.32, 61.14 (C-6_{α,β}, C-6'_{α,β}), 51.73 (C-6''_α, C-6''_β).

IR (ATR) ν_{\max} 3325 ($\nu_{\text{O-H}}$), 2106 ($\nu_{\text{N=N=N}}$), 1146 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1131 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm⁻¹.

ESIHRMS *m/z* calcd for C₁₈H₃₁N₆O₁₄ [M+Na]⁺ 552.1653, found 552.1651.

1,6''-diazido-1,6''-dideoxy-β-maltotriose (**31**)



To a mixture of 6''-azido-6''-deoxy-maltotriose **30** (21.1 mg, 0.125 mmol), diisopropylethylamine (0.07 ml, 0.375 mmol), NaN₃ (81.3 mg, 1.25 mmol) in deuterium oxide, was added 2-chloroimidazolium salt (DMC) (21.1 mg, 0.125 mmol). The mixture was stirred for 0.5 h at room temperature and the product was purified by preparative HPLC C18 leading to the desired compound **31** (0.23 g, 99% yield), as a white gum and used without other purification in the next step.

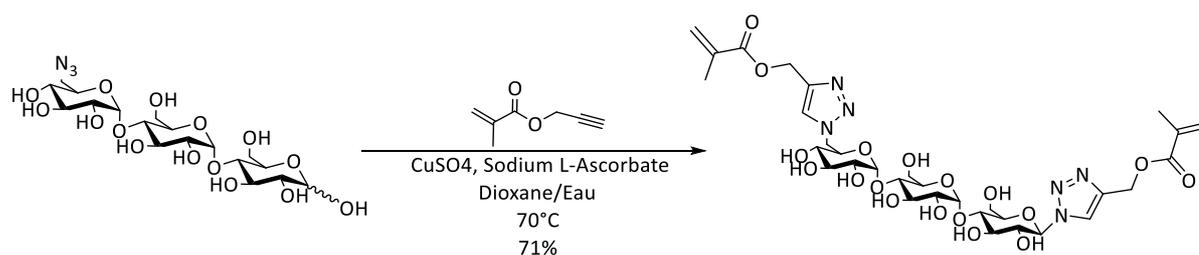
$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: +105 (c 0.05, MeOH)

¹H NMR (600 MHz, D₂O): δ 5.46 (d, *J* = 3.9 Hz, 2H, H-1', H-1''), 4.81 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, H-1), 4.05 – 3.93 (m, 3H, H-6_a, H-3', H-6'_a) 3.94 – 3.82 (m, 5H, H-3, H-6_b, H-5', H-6'_b, H-3'') 3.78 – 3.59 (m, 8H, H-4, H-5, H-2', H-4', H-5', H-5'', H-6''_a, H-6''_b), 3.47 (dd, *J* = 9.9, 9.0 Hz, 1H, H-4''), 3.37 (dd, *J* = 9.3, 8.8 Hz, 1H, H-2). **¹³C NMR (101 MHz, D₂O):** δ 100.41, 100.08 (C-1', C-1''), 90.53 (C-1), 77.63, 77.07, 77.01, 76.76, 73.92, 73.29, 73.22, 72.28, 72.16, 72.06, 71.80 (C-2, C-3, C-4, C-5, C-2', C-3', C-4', C-5', C-2'', C-3'', C-5''), 70.82 (C-4''), 61.13, 61.09 (C-6, C-6'), 51.73 (C-6'').

IR (ATR) ν_{max} 3354 ($\nu_{\text{O-H}}$), 2118 ($\nu_{\text{N=N=N}}$), 1149 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1076 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1024 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm⁻¹.

ESIHRMS *m/z* calcd for C₁₈H₃₁N₆O₁₄ [M+Na]⁺ 577.1718, found 577.1719.

1,6''-bis-(4-methacryloyloxymethyl-1,2,3-triazol-1-yl)-1,6''-dideoxy-β-maltotriose (**32**)



1,6''-diazido-1,6''-dideoxy-β-maltotriose **31** (40 mg, 0.07 mmol) and propargyl methacrylate (18 μL, 0.14 mmol) were dissolved in dioxane-water (4:1) (10 mL). Sodium L-ascorbate (14 mg, 0.07 mmol) and copper (II) sulfate pentahydrate (9 mg, 0.03 mmol) were added to the solution and the mixture was activated by microwave irradiation (1h, 200 W, 70 C). Cooper salts were filtered off and washed with methanol. The filtrate was concentrated under vacuum and the resulting residue was

immediately purified by C18 reversed-phase flash chromatography (1:0 to 9:1, water:acetonitrile) to afford compound **32** (41 mg, 71% yield), as a yellow gum.

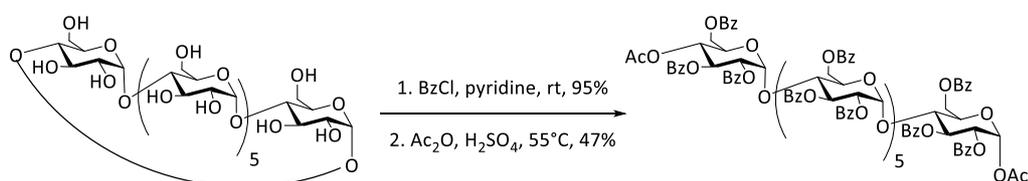
$[\alpha]_D^{20}$: +43 (c 0.06, MeOH)

^1H NMR (600 MHz, D_2O): δ 8.31 (s, 1H, =CH-(triazole)), 8.13 (s, 1H =CH-(triazole)), 6.14 – 6.13 (m, 1H, =CHH), 6.12 – 6.11 (m, 1H, =CHH), 5.77 (d, J = 8.8 Hz, 1H, H-1), 5.73 – 5.71 (m, 1H, =CHH), 5.71 – 5.70 (m, 1H, =CHH), 5.40 (d, J = 3.9 Hz, 1H, H-1'), 5.35 – 5.27 (m, 5H, H-1'', 2 \times O-CH₂-), 4.95 – 4.85 (m, 1H, H-6''_a), 4.58 (dd, J = 14.6, 8.7 Hz, 1H, H-6''_b), 4.02 – 3.96 (m, 3H, H-2, H-3, H-5''), 3.94 – 3.69 (m, 6H, H-4, H-5, H-3', H-3'', H-6_a, H-6_b), 3.66 (ddd, J = 10.1, 5.1, 2.3 Hz, 1H, H-5'), 3.60 (dd, J = 9.9, 3.8 Hz, 1H, H-2''), 3.55 (dd, J = 10.0, 3.9 Hz, 1H, H-2'), 3.40 – 3.28 (m, 3H, H-4', H-6'_a, H-4''), 3.02 (dd, J = 12.2, 5.1 Hz, 1H, H-6'_b), 1.93 – 1.87 (m, 3H, -CH₃), 1.91 – 1.87 (m, 3H, -CH₃). **^{13}C NMR (151 MHz, D_2O):** δ 168.95 (C=O), 168.93 (C=O), 142.91 (C_{quat.} (triazole)), 142.53 (C_{quat.} (triazole)), 135.52 (C_{quat.} (methacrylate)), 135.46 (C_{quat.} (methacrylate)), 127.36 (=CH₂), 127.33 (=CH₂), 126.76 (=CH-), 124.60 (=CH-), 99.94 (C-1'), 99.46 (C-1''), 87.33 (C-1), 77.55, 77.49, 76.29, 76.04, 73.15, 72.66, 72.12, 71.67, 71.42, 71.19, 70.82, 66.56 (C-2, C-3, C-4, C-5, C-2', C-3', C-4', C-5', C-2'', C-3'', C-4'' C-5''), 60.32, 60.15 (C-6, C-6'), 57.53 (2 \times O-CH₂), 51.25 (C-6''), 17.41 (-CH₃) 17.32 (-CH₃).

IR (ATR) ν_{max} 3363 ($\nu_{\text{O-H}}$), 2937 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1715 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1513 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1231 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1153 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1078 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1029 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm^{-1} .

ESIHRMS m/z calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{46}\text{N}_6\text{O}_{18}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 825.2766, found 825.2753.

1^{I-VII},4^{VII}-di-*O*-acetyl-2^{I-VII},3^{I-VII},6^{I-VII}-henicosa-*O*-benzoyl- α -maltoheptaose (**35**)



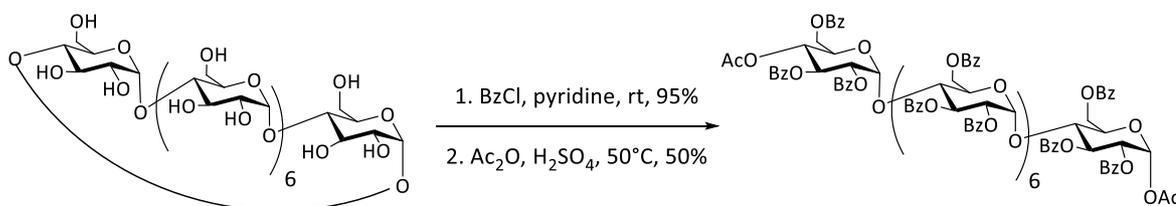
Dried β -cyclodextrin (20.00 g, 17.62 mmol) was added to a solution of benzoyl chloride (102.3 mL, 0.88 mol) in pyridine (250 mL). The solution was stirred at room temperature for 24 h, then cooled with an ice bath and neutralized with methanol (100 mL), evaporated under reduced pressure to a syrup and diluted with dichloromethane (200 mL). The organic layer was washed with

water (200 mL), dried over MgSO_4 , filtered and evaporated. 1 L of methanol was then added to the resulting syrup, followed by 100 mL of water. The obtained precipitate was filtered off, washed with methanol and resuspended in 1 L of methanol, stirred for 1 h, and reprecipitated with 100 ml of water. A new filtration afforded the desired benzoylated β -cyclodextrin (55.8 g, 95 % yield) as a white solid. Compound's characteristics were as described in literature³²⁷.

Beforehand dried heptakis(2,3,6-tri-*O*-benzoyl)cyclomaltoheptaose (35.00 g, 10.54 mmol) at 60 °C for 96 h under reduce pressure was dissolved in a solution of acetic anhydride and sulfuric acid (500 mL, 49:1). After stirring for 42 h at 55°C, the reaction mixture was cooled and neutralized with pyridine (25 mL). The solvent was evaporated and the resulting residue was diluted in dichloromethane (400 mL) and washed twice with water (200 mL). The organic layer was dried over MgSO_4 , filtered and evaporated to dryness. The residue was purified by flash chromatography (6:4, cyclohexane-ethyl acetate) and (15:1, toluene-ethyl acetate) to afford compound **35** (16.9 g, 47% yield), as a white solid. Mass spectroscopy and NMR analysis were identical with literature²⁹¹.

R_f : 0.28 (6:4, Cyclohexane-AcOEt)

1^I,4^{VIII}-Di-*O*-acetyl-2^{I-VIII},3^{I-VIII},6^{I-VIII}-tetracos-*O*-benzoyl- α -maltooctaose (36)



Dried γ -cyclodextrin (20.00 g, 15.41 mmol) was added to a solution of benzoyl chloride (89.48 mL, 0.77 mol) in pyridine (250 mL). The solution was stirred at room temperature for 24 h. The mixture was cooled with an ice bath and excess of reactant was neutralized with methanol (100 mL). The solution was evaporated under reduced pressure to a syrup and diluted with dichloromethane (200 mL). The organic layer was washed with water (200 mL), dried over MgSO_4 , filtered and evaporated. 1 L of methanol was then added to the resulting syrup, followed by 100 mL of water. The obtained precipitate was filtered off, washed with methanol and resuspended in 1 L of methanol, stirred for 1 h, and reprecipitated with 100 ml of water. A new filtration afforded the

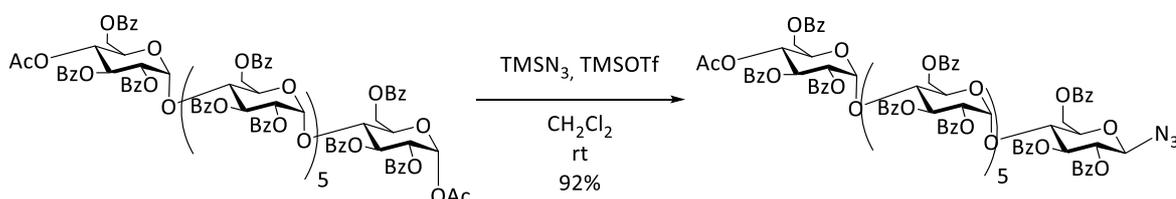
³²⁷ Richard J. Corcoran, J.-M. L. J. B. *Helv. Chim. Acta* **1978**, 61 (6), 2190–2218.

desired perbenzoylated γ -cyclodextrin (55.5 g, 95 % yield) as a white solid. Compound's characteristics were as described in literature³²⁷.

Beforehand dried octakis(2,3,6-tri-*O*-benzoyl)cyclomaltooctaose (30.00 g, 7.90 mmol) at 60 °C for 96 h under reduce pressure was dissolved in a solution of acetic anhydride and sulfuric acid (500 mL, 49:1). After stirring for 35 h at 50°C, the reaction mixture was cooled and neutralized with pyridine (25 mL). The solvent was evaporated and the resulting residue was diluted in dichloromethane (400 mL) and washed twice with water (200 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and evaporated to dryness. The residue was purified by flash chromatography (6:4, cyclohexane-ethyl acetate) and (15:1, toluene-ethyl acetate) to afford compound **36** (15.3 g, 50% yield), as a white solid. Mass spectroscopy and NMR analysis were identical with literature²⁹¹.

R_f: 0.28 (6:4, Cyclohexane-AcOEt)

4^{VII}-*O*-acetyl-1^I-azido-2^{I-VII},3^{I-VII},6^{I-VII}-henicosa-*O*-benzoyl-1^I-deoxy- β -maltoheptaose (**37**)



To a solution 1^I,4^{VII}-Di-*O*-acetyl-2^{I-VII},3^{I-VII},6^{I-VII}-henicosa-*O*-benzoyl- α -maltoheptaose **35** (5.77 g, 1.68 mmol) in anhydrous dichloromethane (60 mL) at room temperature were added trimethylsilyl azide (0.39 mL, 2.95 mmol) and trimethylsilyl triflate (0.05 mL, 0.24 mmol). The reaction mixture was stirred under argon atmosphere until complete disappearance of the starting material. The solution was then neutralized with aqueous NaHCO₃ and the organic layer was extracted with dichloromethane (2 x 100 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated to dryness. The residue was purified by flash chromatography (6:4, cyclohexane-ethyl acetate) to afford compound **37** (5.73 g, 92% yield), as a white gum.

R_f: 0.25 (6:4, Cyclohexane-AcOEt)

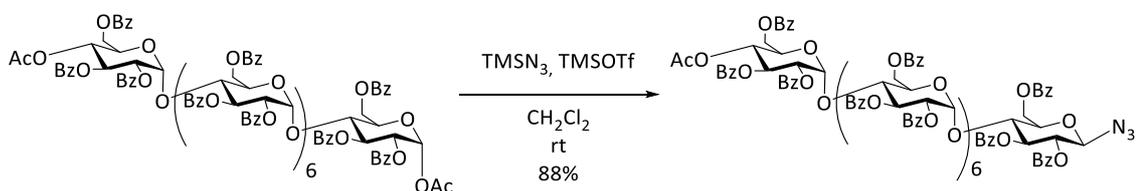
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.38 – 6.96 (m, 105H, 105 \times H_{Ph}), 6.10 – 5.58 (m, 13H), 5.43 (t, *J* = 9.8 Hz, 1H, H-4^{VII}), 5.29 – 3.93 (m, 35H), 1.88 (s, 3H, CH₃-CO). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 169.26 (CH₃-

CO), 165.88, 165.85, 165.81, 165.78, 165.75, 165.57, 165.51, 165.47, 165.44, 165.41, 165.34, 165.14, 164.86, 164.66, 164.61, 164.59, 164.53 ($21 \times C_6H_5-CO$), 133.49, 133.42, 133.38, 133.32, 133.23, 133.13, 133.01, 132.86, 130.28, 130.10, 130.04, 130.01, 129.94, 129.90, 129.81, 129.78, 129.75, 129.71, 129.68, 129.63, 129.57, 129.54, 129.34, 129.11, 128.92, 128.76, 128.74, 128.71, 128.64, 128.57, 128.49, 128.44, 128.42, 128.37, 128.31, 128.25, 128.21, 128.13, 128.10, 128.02, 127.96, 127.91 ($126 \times C_{Ph}$), 96.91, 96.85, 96.46 ($C-1^{I-VIII}$), 87.74 ($C-1^I$), 77.36, 75.20, 74.71, 73.87, 73.80, 73.42, 73.24, 73.05, 71.98, 71.90, 71.75, 71.59, 70.94, 70.83, 70.76, 70.63, 70.39, 70.23, 70.11, 69.95, 69.88, 69.00 ($C-2^{I-VII}$, $C-3^{I-VII}$, $C-4^{I-VI}$, $C-5^{I-VII}$), 68.21 ($C-4^{VII}$), 62.80, 62.62, 62.44, 62.34, 62.22, 61.86 ($C-6^{I-VII}$), 20.53 (CH_3-CO).

IR (ATR) ν_{max} 3383 (ν_{O-H}), 2927 (ν_{C-H}), 1716 ($\nu_{C=O}$), 1508 ($\nu_{C=C}$), 1296 (ν_{C-O}), 1153 (ν_{C-O}), 1105 (ν_{C-O}), 1058 (ν_{C-O}), 1033 (ν_{C-O}) cm^{-1} .

ESIHRMS m/z calcd for $C_{29}H_{42}O_{18}S$ $[M+Na]^+$ 733.1990, found 733.2000.

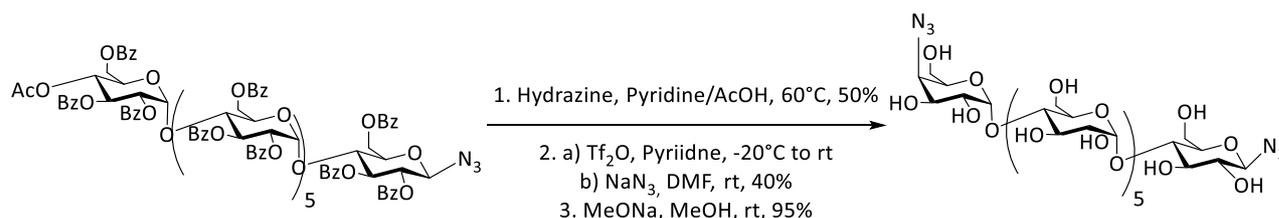
4^{VIII}-O-acetyl-1^I-azido-2^{I-VIII},3^{I-VIII},6^{I-VIII}-tetracos-O-benzoyl-1^I-deoxy- β -maltooctaose (38)



To a solution of 1^I,4^{VIII}-di-O-acetyl-2^{I-VIII},3^{I-VIII},6^{I-VIII}-tetracos-O-benzoyl- α -maltooctose **36** (10.417 g, 2.67 mmol) in anhydrous dichloromethane (20 mL) at room temperature were added trimethylsilyl azide (0.62 mL, 4.67 mmol) and trimethylsilyl triflate (0.07 mL, 0.39 mmol). The reaction mixture was stirred under argon atmosphere until complete disappearance of the starting material. The solution was then neutralized with aqueous NaHCO₃ and the organic layer was extracted with dichloromethane (2 x 100 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated to dryness. The residue was purified by flash chromatography (6:4, cyclohexane-ethyl acetate) to afford compound **38** (10.37 g, 88% yield), as a white solid.

R_f: 0.25 (6:4, Cyclohexane-AcOEt)

1^I-azido-4^{VI}-O-(4-azido-4-deoxy- α -D-galactopyranosyl)- 1^I-deoxy- β -maltose (41)



To a solution of 4^{VII}-O-acetyl-1^I-azido-2^{I-VII},3^{I-VII},6^{I-VII}-henicosa-O-benzoyl-1^I-deoxy- β -maltoheptaose **37** (4.02 g, 1.17 mmol) in pyridine-acetic acid (4:1) (12 mL), was added a solution of hydrazine (64% in water) (2.27 mL, 46.97 mmol). The mixture was stirred at 60 °C for 7 h and cooled before acetone addition (10 mL). After stirring for 30 min, dichloromethane (100 mL) was added to the crude mixture and the organic layer was washed with aqueous NaHCO₃ (2 x 50 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated to dryness. The residue was immediately purified by flash chromatography on silica gel (6:4, cyclohexane-ethyl acetate) to remove side products. The desired compound was then used in the following reaction.

Triflic anhydride (0.26 mL, 1.56 mmol) was added to a stirred solution of 1^I-azido-2^{I-VII},3^{I-VII},6^{I-VII}-henicosa-O-benzoyl-1^I-deoxy- β -maltoheptaose (3.00 g, 0.78 mmol) and pyridine (0.14 mL, 1.80 mmol) in dry dichloromethane (20 mL) at -20 °C. This temperature was maintained for 30 min and the mixture was then allowed to stir at 0 °C for 20 min. The reaction was finally warmed until room temperature for 10 min and water (100 mL) was added. Organic layers were extracted with ethyl acetate (2 x 100 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated to dryness. The residue was immediately used without purification. Sodium azide (0.152 g, 2.34 mmol) was added this residue in dimethylformamide (20 mL). The reaction was stirred at room temperature for 24 h. The solvent was then evaporated under pressure and the resulting residue was dissolved in dichloromethane (50 mL). The organic layer was washed with water (2 x 40 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated to dryness. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (6:4, cyclohexane-ethyl acetate) to afford the diazido and triazido products.

To a solution of these products in methanol (50 mL), a solution of sodium (0.03 g, 1.24 mmol) in methanol (200 mL) was added. The reaction mixture was stirred for 12 h at room temperature. The solution was neutralized with a cation-exchange resin (Amberlyst® IR-120, H⁺ form), filtered and concentrated under vacuum to dryness. The residue was then purified by

preparative HPLC on C18 phase leading to the desired compound **41** (0.13 g, 95% yield), as a white gum.

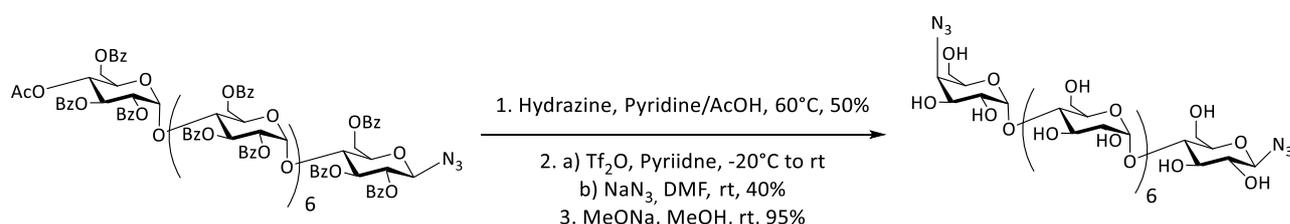
$[\alpha]_D^{20}$: +135 (*c* 0.1, MeOH)

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, D_2O): δ 5.60 – 5.29 (m, 6H, H-1^{II-VII}), 4.78 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, H-1^I), 4.16 – 4.11 (m, 3H), 4.02 – 3.94 (m, 6H), 3.92 – 3.81 (m, 18H), 3.79 – 3.76 (m, 2H), 3.72 – 3.63 (m, 12H), 3.33 (dd, *J* = 9.3, 8.9 Hz, 1H, H-2^I). **$^{13}\text{C NMR}$ (151 MHz, D_2O):** δ 99.79, 99.58, 99.42 (C-1^{II-VII}), 89.92 (C-1^I), 76.92, 76.87, 76.80, 76.78, 76.45, 76.24, 76.16, 73.31, 73.29, 73.27, 73.23, 72.69, 71.53, 71.46, 71.18, 71.14, 70.21, 69.75, 68.74 (C-2^{I-VII}, C-3^{I-VII}, C-4^{I-VI}, C-5^{I-VII}), 63.29 (C-4^{VII}), 61.11, 60.47, 60.42 (C-6^{I-VII}).

IR (ATR) ν_{max} 3344 ($\nu_{\text{O-H}}$), 2118 ($\nu_{\text{N=N=N}}$), 1150 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1076 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1024 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm^{-1} .

ESIHRMS *m/z* calcd for $\text{C}_{42}\text{H}_{70}\text{N}_6\text{O}_{34}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 1225.3831, found 1225.3860.

1^I-azido-4^{VII}-*O*-(4-azido-4-deoxy- α -D-galactopyranosyl)-1^I-deoxy- β -maltoheptaose (**42**)



To a solution of 4^{VIII}-*O*-acetyl-1^I-azido-2^{I-VIII},3^{I-VIII},6^{I-VIII}-tetracos-*O*-benzoyl-1^I-deoxy- β -maltooctaose **38** (6.01 g, 1.55 mmol) in pyridine-acetic acid (4:1) (12 mL), was added hydrazine hydrate (64% in water) (3 mL, 61.85 mmol). The mixture was stirred at 60 °C for 7 h and cooled before neutralization with acetone (10 mL). After stirring for 30 min, dichloromethane (100 mL) was added to the crude mixture and the organic layer was washed with aqueous NaHCO_3 (2 x 50 mL), dried over MgSO_4 , filtered and evaporated to dryness. The residue was immediately purified by flash chromatography (6:4, cyclohexane-ethyl acetate) to remove side products. The desacetylated compound was then used in the following reaction.

Triflic anhydride (0.13 mL, 0.78 mmol) was added to a stirred solution of 1^I-azido-2^{I-VIII},3^{I-VIII},6^{I-VIII}-tetracos-*O*-benzoyl-1^I-deoxy- β -maltooctaose (2.5 g, 0.65 mmol) and pyridine (0.12 mL, 1.50 mmol) in anhydrous dichloromethane (20 mL) at -20 °C. This temperature was maintained for

30 min and the mixture was then allowed to stir at 0 °C for 20 min. The reaction was finally warmed until room temperature for 10 min and neutralized with water (100 mL). Organic layers were extracted with ethyl acetate (2 x 100 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated to dryness. The residue was immediately used without purification. Sodium azide was added to the residue (0.78 g, 0.50 mmol) in dimethylformamide (15 mL). The reaction was stirred at room temperature for 24 h. The solvent was then evaporated under reduced pressure and the resulting residue was dissolved in dichloromethane (50 mL). The organic layer was washed with water (2 x 40 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated to dryness. The residue was purified by flash chromatography (6:4, cyclohexane-ethyl acetate) to afford a mixture of the diazido and triazido products.

To a solution of the mixture of azido derivatives in methanol (50 mL), a solution of sodium (0.03 g, 1.24 mmol) in methanol (200 mL) was added. The reaction mixture was stirred for 12 h at room temperature. The solution was neutralized with a cation-exchange resin (Amberlyst® IR-120, H⁺ form), filtered and concentrated under vacuum to dryness. The residue was then purified by preparative HPLC leading to the desired compound **42** (0.11 g, 95% yield), as a white gum.

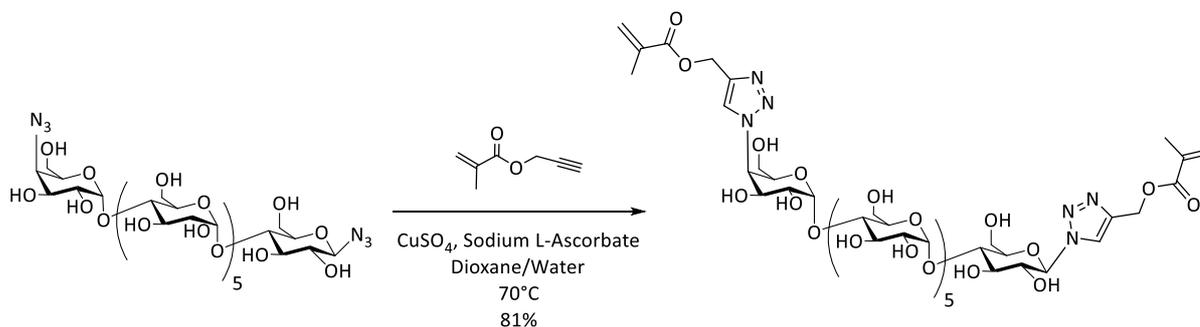
$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: +126 (*c* 0.1, MeOH)

¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ 5.43 – 5.35 (m, 7H, H-1^{II-VIII}), 4.74 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, H-1^I), 4.13 – 4.02 (m, 3H), 3.98 – 3.89 (m, 7H), 3.89 – 3.56 (m, 23H), 3.69 – 3.56 (m, 14H), 3.28 (dd, *J* = 9.4, 8.8 Hz, 1H, H-2^I). **¹³C NMR (101 MHz, D₂O)**: 99.72, 99.71, 99.50, 99.34 (C-1^{II-VIII}), 89.87 (C-1^I), 76.78, 76.72, 76.61, 76.56, 76.36, 76.10, 73.26, 73.22, 73.18, 72.62, 71.46, 71.39, 71.09, 71.05, 70.13, 69.69, 68.67, (C-2^{I-VIII}, C-3^{I-VIII}, C-4^{I-VII}, C-5^{I-VIII}), 63.21 (C-4^{VIII}), 61.06, 60.37, 60.33 (C-6^{I-VIII}).

IR (ATR) ν_{max} 3350 ($\nu_{\text{O-H}}$), 2117 ($\nu_{\text{N=N=N}}$), 1150 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1076 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1024 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm⁻¹.

ESIHRMS *m/z* calcd for C₄₈H₈₀N₆O₃₉ [M+Na]⁺ 1387.4359, found 1387.4380.

1^I-deoxy-1^I-(4-methacryloylmethyl-1,2,3-triazol-1-yl)-4^{VI}-O-[4-4-deoxy-(4-methacryloyloxymethyl-1,2,3-triazol-1-yl)- α -D-galactopyranosyl]- β -maltohexaose (43)



4^{VI}-O-(4-azido-4-deoxy- α -D-galactopyranosyl)-1^I-azido-1^I-deoxy- β -maltohexaose **41** (82 mg, 0.07 mmol) and propargyl methacrylate (17 μ L, 0.14 mmol) were dissolved in dioxane-water (4:1) (10 mL). Sodium L-ascorbate (14.1 mg, 0.07 mmol) and copper (II) sulfate pentahydrate (9.1 mg, 0.03 mmol) were added to the solution and the mixture was activated by microwave irradiation (1 h, 200 W, 70 C). Copper salts were filtered off and washed with methanol. The filtrate was concentrated under vacuum and the resulting residue was immediately purified by reversed-phase chromatography (1:0 to 9:1, water:acetonitrile) to afford compound **43** (99 mg, 81% yield), as a white gum after evaporation.

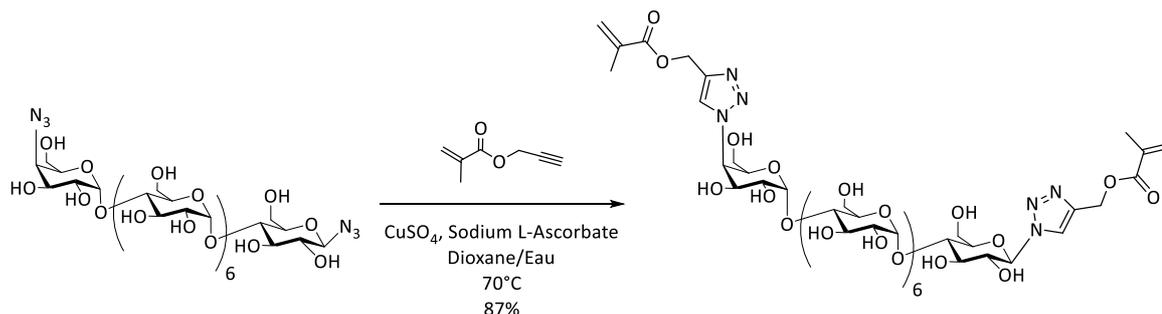
$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: +104 (*c* 0.07, MeOH)

¹H NMR (600 MHz, D₂O): δ 8.32 (s, 1H, =CH-(triazole)), 8.19 (s, 1H, =CH-(triazole)), 6.15 (s, 2H, 2 \times =CHH), 5.80 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, H-1^I), 5.75 – 5.72 (m, 2H, 2 \times =CHH), 5.64 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H, H-1^{VII}), 5.50 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H, H-1^{II}), 5.43 – 5.39 (m, 4H, H-1^{III-VI}), 5.36 (s, 2H, O-CH₂-), 5.34 (s, 2H, O-CH₂-), 5.22 (dd, *J* = 5.3, 2.3 Hz, 1H, H-4^{VII}), 4.52 (td, *J* = 6.4, 2.3 Hz, 1H, H-5^{VII}), 4.34 (dd, *J* = 10.6, 5.3 Hz, 1H, H-3^{VII}), 4.10 (dd, *J* = 10.6, 4.1 Hz, 1H, H-2^{VII}), 4.07 – 3.82 (m, 26H), 3.77 – 3.62 (m, 10H), 3.34 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H, H-6^{a VII}, H-6^{b VII}) 2.01 – 1.78 (m, 6H, 2 \times -CH₃). **¹³C NMR (151 MHz, D₂O):** δ 169.11 (C=O), 169.03 (C=O), 142.92 (C_{quat.} (triazole)), 142.29 (C_{quat.} (triazole)), 135.55 (C_{quat.} (methacrylate)), 135.51 (C_{quat.} (methacrylate)), 127.32 (=CH₂), 127.27 (=CH₂, =CH-), 124.66 (=CH-), 100.07, 99.81, 99.75 (C-1^{I-VI}), 99.53 (C-1^{VII}), 87.32 (C-1^I), 77.46, 77.36, 77.21, 77.03, 76.31, 75.91, 73.28, 72.14, 71.57, 71.50, 71.24, 71.17 (C-2^{I-VI}, C-3^{I-VI}, C-4^{I-VI}, C-5^{I-VI}), 69.21 (C-5^{VII}), 68.72 (C-2^{VII}), 67.16 (C-3^{VII}), 62.39 (C-4^{VII}), 60.42, 60.33, 60.03 (C-6^{I-VII}), 57.54 (2 \times O-CH₂-), 17.33 (2 \times -CH₃).

IR (ATR) ν_{\max} 3358 ($\nu_{\text{O-H}}$), 2939 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1715 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1510 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1151 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1053 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1031 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm^{-1} .

ESIHRMS m/z calcd for $\text{C}_{56}\text{H}_{86}\text{N}_6\text{O}_{38}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 1473.4879, found 1473.4866.

1'-deoxy-1'-(4-methacryloyloxymethyl-1,2,3-triazol-1-yl)-4^{VII}-O-[4-4-deoxy-(4-methacryloyloxymethyl-1,2,3-triazol-1-yl)- α -D-galactopyranosyl]- β -maltoheptaose (44**)**



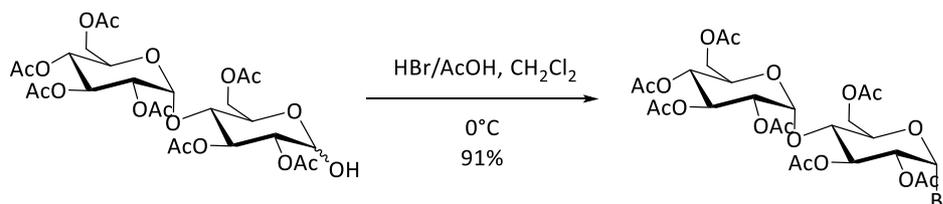
1'-azido-4^{VII}-O-(4-azido-4-deoxy- α -galactopyranosyl)-1'-deoxy- β -maltoheptaose **42** (82 mg, 0.06 mmol) and propargyl methacrylate (15 μL , 0.12 mmol) were dissolved in dioxane-water (4:1) (10 mL). Sodium L-ascorbate (12 mg, 0.06 mmol) and copper (II) sulfate pentahydrate (7 mg, 0.03 mmol) were added to the solution and the mixture was activated by microwave irradiation (1h, 200 W, 70 C). Copper salts were filtered off and washed with methanol. The filtrate was concentrated under vacuum and the resulting residue was immediately purified by C18 reversed-phase flash chromatography (1:0 to 9:1, water:acetonitrile) to afford compound **44** (84 mg, 87% yield), as a yellow gum.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: +110 (c 0.07, MeOH)

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, D_2O): δ 8.46 – 7.98 (m, 2H, $2 \times =\text{CH}_{\text{(triazole)}}$), 6.07 (Br s, 2H, $2 \times =\text{CHH}$), 5.72 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, H-1^I), 5.66 (Br s, 2H, $2 \times =\text{CHH}$), 5.56 (Br s, 1H, H-1^{VIII}), 5.41 (Broad s, 1H, H-1^{II}), 5.37 – 5.13 (m, 10H, H-1^{III-VII}, H-4^{VIII}, $2 \times \text{O-CH}_2\text{-}$), 4.44 (Br s, 1H, H-5^{VIII}), 4.36 – 4.16 (m, 1H, H-3^{VIII}), 4.06 – 3.42 (m, 43H, H-2^{I-VIII}, H-3^{I-VII}, H-4^{I-VII}, H-5^{I-VII}, H-6_a^{I-VII}, H-6_b^{I-VII}), 3.33 – 3.08 (Br s, 2H, H-6_a^{VIII}, H-6_{b^{VIII}), 1.84 (Br s, 6H, $2 \times \text{-CH}_3$). **$^{13}\text{C NMR}$ (151 MHz, D_2O):** δ 169.08 (C=O), 169.00 (C=O), 135.55 ($\text{C}_{\text{quat.}}$ (methacrylate)), 135.51 ($\text{C}_{\text{quat.}}$ (methacrylate)), 127.37(=CH₂), 127.32 (=CH₂), 100.13, 99.78, 99.60 (C-1^{II-VII}), 87.39 (C-1^I), 77.48, 77.20, 77.18, 77.04, 76.33, 76.05, 73.31, 72.14, 71.58, 71.52, 71.24 (C-2^{I-VII}, C-3^{I-VII}, C-4^{I-VII}, C-5^{I-VII}), 69.21 (C-5^{VIII}), 68.76 (C-2^{VIII}), 67.14 (C-3^{VIII}), 62.51 (C-4^{VIII}), 60.44, 60.35, 60.06 (C-6^{I-VIII}), 57.63 ($2 \times \text{O-CH}_2\text{-}$), 17.38 ($2 \times \text{-CH}_3$).}

IR (ATR) ν_{\max} 3362 ($\nu_{\text{O-H}}$), 2924 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1714 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1510 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1153 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1049 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1031 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm^{-1} . **¹ESIHRMS** m/z calcd for $\text{C}_{62}\text{H}_{96}\text{N}_6\text{O}_{43}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 1635.5408, found 1635.5448.

2,3,6,2',3',4',6'-hepta-*O*-acetyl- α -maltosyl bromide (**46**)



To a solution of an anomeric mixture of 2,3,6,2',3',4',6'-hepta-*O*-acetyl-maltose **45** (10.00 g, 15.71 mmol) in anhydrous dichloromethane (10 mL) was slowly added hydrobromic acid in acetic acid (30-32%) (17 mL). The mixture was stirred at 0°C until completion of the reaction and then diluted with CH_2Cl_2 , washed with water (3 x 100 mL), NaHCO_3 (50 mL) to remove the rest of hydrobromic acid. Organic layers were combined and evaporated reduced pressure to solid. The bromo derivative **46** (10.01 g, 91% yield) was used without purifications.

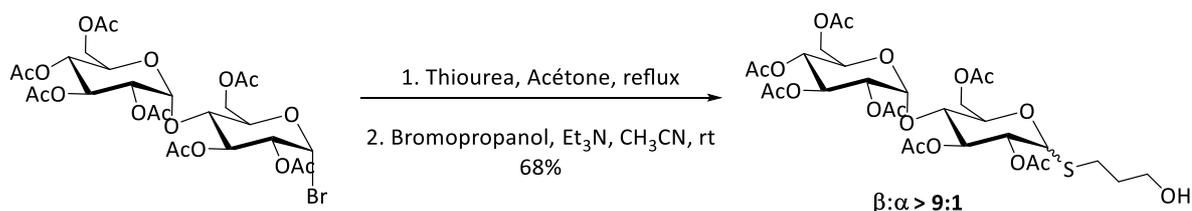
R_f: 0.30 (1:1, Cyclohexane-AcOEt); Mp: 85-88°C, lit.³²⁸ : 83°C; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: +138 (*c* 0.55, MeOH)

¹H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6.50 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H, H-1), 5.66 – 5.56 (m, 1H, H-3), 5.42 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H, H-1'), 5.37 (dd, $J = 10.5, 9.5$ Hz, 1H, H-3'), 5.07 (t, $J = 9.9$ Hz, 1H, H-4'), 4.87 (dd, $J = 10.5, 4.0$ Hz, 1H, H-2'), 4.71 (dd, $J = 9.9, 4.0$ Hz, 1H, H-2), 4.56 – 4.47 (m, 1H, H-6_a), 4.31 – 4.20 (m, 3H, H-5, H-6_b, H-6'_a), 4.11 – 4.01 (m, 2H, H-4, H-6'_b), 3.99 – 3.90 (m, 1H, H-5'), 2.14 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-CO}$), 2.11 – 2.05 (m, 9H, 3 x $\text{CH}_3\text{-CO}$), 2.04 – 2.00 (m, 9H, 3 x $\text{CH}_3\text{-CO}$). **¹³C NMR (101 MHz, CDCl_3):** δ 170.67, 170.49, 170.27, 169.85, 169.50, 169.42 (7 x C=O), 95.79 (C-1'), 86.04 (C-1), 72.55 (C-5), 72.35 (C-3), 71.60 (C-4), 71.03 (C-2), 70.03 (C-2'), 69.26 (C-3'), 68.66 (C-5'), 67.94 (C-4'), 61.86 (C-6), 61.36 (C-6'), 20.86, 20.77, 20.68, 20.64, 20.59 (7 x $\text{CH}_3\text{-CO}$).

IR (ATR) ν_{\max} 1745 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1220 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1109 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1036 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm^{-1} . **ESIHRMS** m/z calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{O}_{18}\text{S}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 733.1990, found 733.2000.

³²⁸ Yuan, X.; Cheng, S.; Shi, Y.; Xue, W. *Synthesis (Stuttg)*. **2014**, 46 (3), 331–335.

3-hydroxypropyl 2,3,4,2',3',4',6'-hepta-O-acetyl-1-thiomaltoside (47)



To a solution of acetobromomaltose **46** (10.00 g, 14.30 mmol) in acetone (20 mL) was added thiourea (1.20 g, 15.71 mmol) and the mixture was stirred to reflux for 30 min. The reaction mixture was then reduced under pressure to syrup. The Isothiourea derivative was immediately used in the following reaction without purification.

The isothiurea salts and 3-bromopropan-1-ol were dissolved in acetonitrile (15 mL). Triethylamine was added and the reaction mixture was stirred for 8 h. The solvent was evaporated under reduced pressure and the resulting residue was purified by flash chromatography (2:3, cyclohexane-ethyl acetate) to afford compound **47** (7.01g, 68% yield), as a white solid.

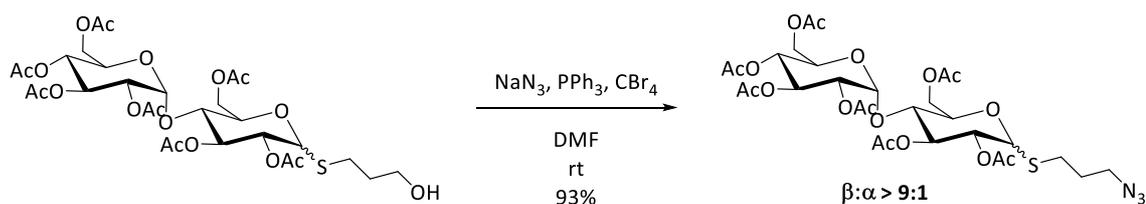
R_f: 0.11 (1:1, Cyclohexane-AcOEt)

Analysis of 3-hydroxypropyl 2,3,4,2',3',4',6'-hepta-O-acetyl- β -1-thiomaltoside (47)

$[\alpha]_D^{20}$: +50 (c 0.6, CHCl₃)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 5.37 (d, J = 4.0 Hz, 1H, H-1'), 5.31 (t, J = 12.0 Hz, 1H, H-3'), 5.25 (t, J = 9.1 Hz, 1H, H-3), 5.01 (t, J = 9.9 Hz, 1H, H-4'), 4.89 – 4.77 (m, 2H, H-2, H-2'), 4.55 – 4.44 (m, 2H, H-1, H-6_a), 4.25 – 4.14 (m, 2H, H-6_b, H-6'_b), 4.01 (dd, J = 12.5, 2.3 Hz, 1H, H-6'_a), 3.99 – 3.87 (m, 2H, H-4, H-5'), 3.72 – 3.61 (m, 3H, H-5, -CH₂-OH), 2.87 – 2.62 (m, 2H, -CH₂-S), 2.13 – 2.08 (m, 3H, CH₃-CO), 2.06 (s, 3H, CH₃-CO), 2.03 – 1.94 (m, 9H, 3 \times CH₃-CO), 2.00 – 1.94 (m, 6H, 2 \times CH₃-CO), 1.86 – 1.71 (m, 2H, -CH₂-CH₂-CH₂). **¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃):** δ 170.60, 170.59, 170.58, 170.14, 169.97, 169.80, 169.47 (7 \times C=O), 95.66 (C-1'), 83.29 (C-1), 76.33 (C-3, C-5), 72.69 (C-4), 70.75 (C-2), 70.08 (C-2'), 69.38 (C-3'), 68.62 (C-5'), 68.10 (C-4'), 62.90 (C-6), 61.59 (C-6'), 60.57 (-CH₂-OH), 32.26 (CH₂-CH₂-CH₂), 26.43 (-CH₂-S), 20.97, 20.88, 20.74, 20.66, 20.64 (7 \times CH₃-CO).

IR (ATR) ν_{\max} 1749 ($\nu_{C=O}$), 1226 (ν_{C-O}), 1040 (ν_{C-O}) cm⁻¹. **ESIHRMS** m/z calcd for C₂₉H₄₂O₁₈S [M+Na]⁺733.1990, found 733.2000.

3-azidopropyl 2,3,4,2',3',4',6'-hepta-O-acetyl-1-thiomaltoside (48)

To a stirred solution 3-hydroxypropyl 2,3,4,2',3',4',6'-hepta-O-acetyl-1-thiomaltoside **47** (6.00 g, 8.44 mmol) and sodium azide (10.98 g, 168.84 mmol) in dry DMF anhydrous (17 mL), triphenylphosphine (8.85 g, 33.77 mmol) was added under argon atmosphere followed by a solution of tetrabromomethane (11.20 g, 33.77 mmol) in anhydrous DMF (25 mL). The mixture was stirred at room temperature for 24 h. Methanol (50 mL) was added and the solution was filtered. After solvent evaporation under reduced pressure, the residue was dissolved in ethyl acetate (100 mL) and the organic layer was washed with water (2 × 200 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated to dryness. The residue was purified by flash chromatography (4:6, cyclohexane-ethyl acetate) to afford compound **48** (5.81 g, 93% yield), as a white solid.

R_f: 0.44 (1:1, Cyclohexane-AcOEt)

Analysis of 3-azidopropyl 2,3,4,2',3',4',6'-hepta-O-acetyl-β-1-thiomaltoside (48)

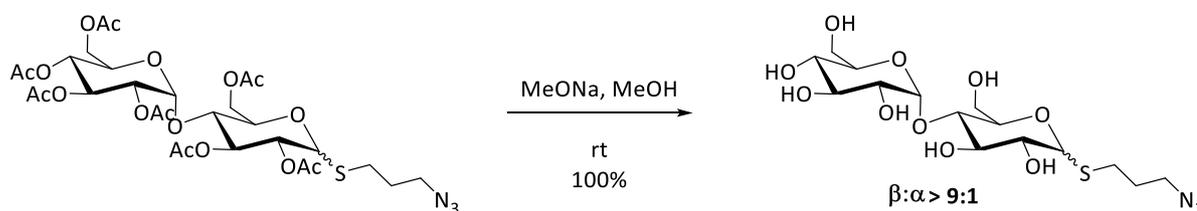
$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: +48 (*c* 1, CHCl₃)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 5.38 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H, H-1'), 5.33 (t, *J* = 10.0 Hz, 1H, H-3'), 5.26 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-3), 5.03 (t, *J* = 9.9 Hz, 1H, H-4'), 4.87 – 4.80 (m, 2H, H-2, H-2'), 4.55 – 4.44 (m, 2H, H-1, H-6_a), 4.25 – 4.15 (m, 2H, H-6_b, H-6'_b), 4.03 (dd, *J* = 12.4, 2.2 Hz, 1H, H-6'_a), 4.00 – 3.89 (m, 2H, H-4, H-5'), 3.72 – 3.62 (m, 1H, H-5), 3.39 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, -CH₂-N₃), 2.72 (ddt, *J* = 39.8, 13.6, 7.1 Hz, 2H, -CH₂-S), 2.12 (s, 3H, CH₃-CO), 2.08 (s, 3H, CH₃-CO), 2.05 – 2.00 (m, 9H, 3 × CH₃-CO), 2.01 – 1.95 (m, 6H, 2 × CH₃-CO), 1.86 (p, *J* = 6.9 Hz, 2H, -CH₂-CH₂-CH₂). **¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃):** δ 170.64, 170.59, 170.44, 170.17, 169.99, 169.71, 169.50 (7 × C=O), 95.72 (C-1'), 83.45 (C-1), 76.37, 76.36 (C-3, C-5), 72.76 (C-4), 70.79 (C-2), 70.10 (C-2'), 69.42 (C-3'), 68.68 (C-5'), 68.13 (C-4'), 63.01 (C-6), 61.62 (C-6'), 49.90 (-CH₂-N₃), 29.23 (CH₂-CH₂-CH₂), 27.37 (-CH₂-S), 21.00, 20.89, 20.78, 20.76, 20.70, 20.68 (7 × CH₃-CO).

IR (ATR) ν_{max} 2951 ($\nu_{\text{C-H}}$), 2100 ($\nu_{\text{N=N=N}}$), 1749 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1227 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1036 ($\nu_{\text{C-O}}$) cm⁻¹

ESIHRMS m/z calcd for $C_{29}H_{41}N_3O_{17}S$ $[M+Na]^+$ 758.2054, found 758.2054.

3-azidopropyl-1-thiomaltoside (49)



To a solution of 3-azidopropyl 2,3,4,2',3',4',6'-hepta-*O*-acetyl-1-thiomaltoside **48** (5.00 g, 6.80 mmol) in methanol (100 mL), a solution of sodium (0.16 g, 6.80 mmol) in methanol (50 mL) was added. The reaction mixture was stirred for 24 h at room temperature. The solution was neutralized with a cation-exchange resin (Amberlyst® IR-120, H^+ form), filtered and concentrated under vacuum to dryness, leading to the desired compound **49** (2.99 g, 100% yield), as a yellow solid.

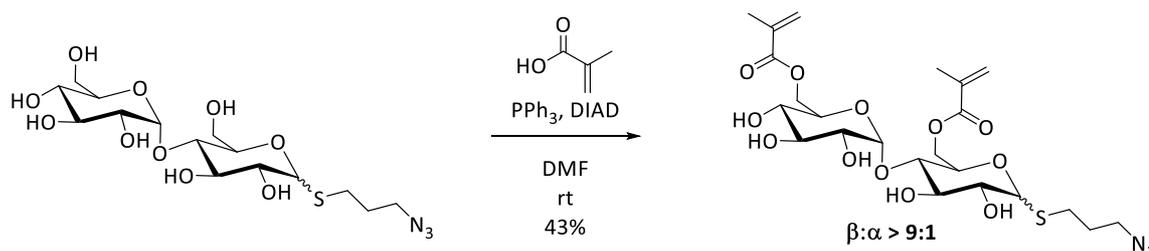
R_f: 0.34 (8:1.6:0.4, AcOEt-MeOH-H₂O)

Analysis of 3-azidopropyl- β -1-thiomaltoside (49)

$[\alpha]_D^{20}$: +41 (*c* 0.43, MeOH)

1H NMR (400 MHz, D₂O): δ 5.34 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, H-1'), 4.49 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H, H-1), 3.90 – 3.75 (m, 2H, H-6_a, H-6'_a), 3.76 – 3.48 (m, 8H, H-3, H-4, H-5, H-6_b, H-2', H-3', H-5', H-6_b'), 3.41 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, -CH₂-N₃), 3.35 (t, $J = 9.5$ Hz, 1H, H-4'), 3.30 (t, $J = 9.5$ Hz, 1H, H-2), 2.88 – 2.62 (m, 2H, -CH₂-S), 1.89 (p, $J = 7.0$ Hz, 2H, -CH₂-CH₂-CH₂). **^{13}C NMR (101 MHz, D₂O)**: δ 100.23 (C-1'), 85.89 (C-1), 79.03, 78.19, 77.36, 73.44, 73.27, 72.70, 72.27 (C-2, C-2', C-3, C-3', C-4, C-5, C-5') 69.91 (C-4'), 61.44, 61.10 (C-6, C-6'), 50.34 (-CH₂-N₃), 29.29 (CH₂-CH₂-CH₂), 27.72 (-CH₂-S).

IR (ATR) ν_{max} 3375 (ν_{O-H}), 2100 ($\nu_{N=N=N}$), 1055 (ν_{C-O}), 1032 (ν_{C-O}) cm^{-1} . **ESIHRMS** m/z calcd for $C_{15}H_{27}N_3O_{10}S$ $[M+Na]^+$ 464.1315, found 464.1325.

3-Azidopropyl 6,6'-di-*O*-methacryloyl-1-thiomaltoside (50)

To a solution of 3-azidopropyl-1-thiomaltoside **49** (1.00 g, 2.26 mmol), triphenylphosphine (2.37 g, 9.06 mmol) and methacrylic acid (0.96 mL, 11.33 mmol) in anhydrous DMF (40 mL), diisopropyl azodicarboxylate (DIAD) (1.8 mL, 9.06 mmol) was added dropwise over 1 h at 0 °C under argon. The mixture was allowed to warm at room temperature. After stirring for 24 h, the reaction was concentrated under reduced pressure. The residue was then immediately purified by silica gel flash chromatography (4:0.7:0.3, ethyl acetate-methanol-water) followed by reversed-phase chromatography (1:0 to 9:1, water:acetonitrile) to afford compound **50** (0.56 g, 43% yield), as a white solid.

R_f: 0.74 (8:1.6:0.4, AcOEt-MeOH-H₂O)

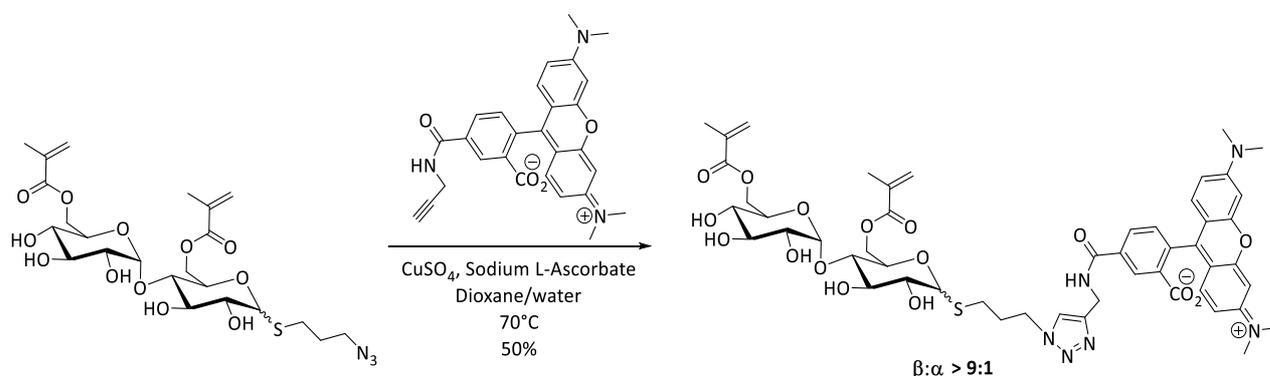
Analysis of 3-Azidopropyl 6,6'-di-*O*-methacryloyl-β-1-thiomaltoside (50)

¹H NMR (600 MHz, D₂O): δ 6.11 – 6.07 (m, 1H, =CHH), 6.06 – 6.03 (m, 1H, =CHH), 5.64 – 5.60 (m, 1H, =CHH), 5.58 – 5.54 (m, 1H, =CHH), 5.11 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, H-1'), 4.60 (dd, *J* = 12.1, 1.9 Hz, 1H, H-6_a), 4.42 (dd, *J* = 12.0, 2.2 Hz, 1H, H-6'_a), 4.38 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H, H-1), 4.29 – 4.17 (m, 2H, H-6_b, H-6'_b), 3.90 (ddd, *J* = 10.1, 5.4, 2.1 Hz, 1H, H-5'), 3.66 – 3.57 (m, 3H, H-3, H-3', H-5), 3.50 – 3.42 (m, 2H, H-4, H-2'), 3.39 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, -CH₂-N₃), 3.33 – 3.26 (m, 1H, H-4'), 3.25 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H, H-2), 2.71 (ddt, *J* = 58.8, 13.7, 7.1 Hz, 2H, -CH₂-S), 1.93 – 1.89 (m, 3H, -CH₃), 1.90 – 1.86 (m, 3H, -CH₃), 1.87 – 1.81 (m, 2H, -CH₂-CH₂-CH₂). **¹³C NMR (151 MHz, MeOD):** δ 169.11 (C=O), 168.79 (C=O), 138.10 (C_{quat.}), 137.99 (C_{quat.}), 126.99(=CH₂), 126.90 (=CH₂), 103.90 (C-1'), 87.66 (C-1), 82.78 (C-4), 79.62 (C-3), 78.20, 75.25 (C-3', C-5), 74.51 (C-2'), 74.24 (C-2), 73.02 (C-5'), 71.94 (C-4'), 65.54, 65.51 (C-6, C-6'), 51.53 (-CH₂-N₃), 31.03 (CH₂-CH₂-CH₂), 27.72 (-CH₂-S), 18.98 (-CH₃), 18.95 (-CH₃).

IR (ATR) ν_{max} 3360 (ν_{O-H}), 2924 (ν_{C-H}), 2100 (ν_{N=N=N}), 1148 (ν_{C-O}), 1053 (ν_{C-O}), 1030 (ν_{C-O}) cm⁻¹.

ESIHRMS *m/z* calcd for C₁₅H₂₇N₃O₁₀S [M+Na]⁺ 600.1839, found 600.1835.

5-(*N*-{1-[3-6,6'-di-*O*-methacryloylmaltosylthio]propyl}-1,2,3-triazol-4-ylmethyl-carbamoyl)tetramethylrhodamine (51**)**

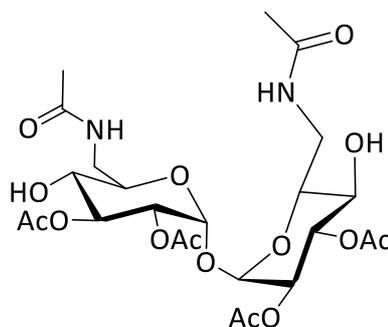


3-Azidopropyl 6,6'-di-*O*-methacryloyl-1-thiomaltoside **50** (62 mg, 0.11 mmol) and 5-carboxytetramethylrhodamine propargylamide (50 mg, 0.11 mmol) were dissolved in dioxane-water (4:1) (10 mL). Sodium L-ascorbate (11 mg, 0.05 mmol) and copper (II) sulfate pentahydrate (7 mg, 0.03 mmol) were added to the solution and the mixture was activated by microwave irradiation (1 h, 200 W, 70°C). Copper salts were filtered off and washed with methanol. The filtrate was concentrated under vacuum and the resulting residue was immediately purified by reversed-phase chromatography (1:0 to 9:1, water:acetonitrile) to afford compound **51** (58 mg, 50% yield), as a pink gum.

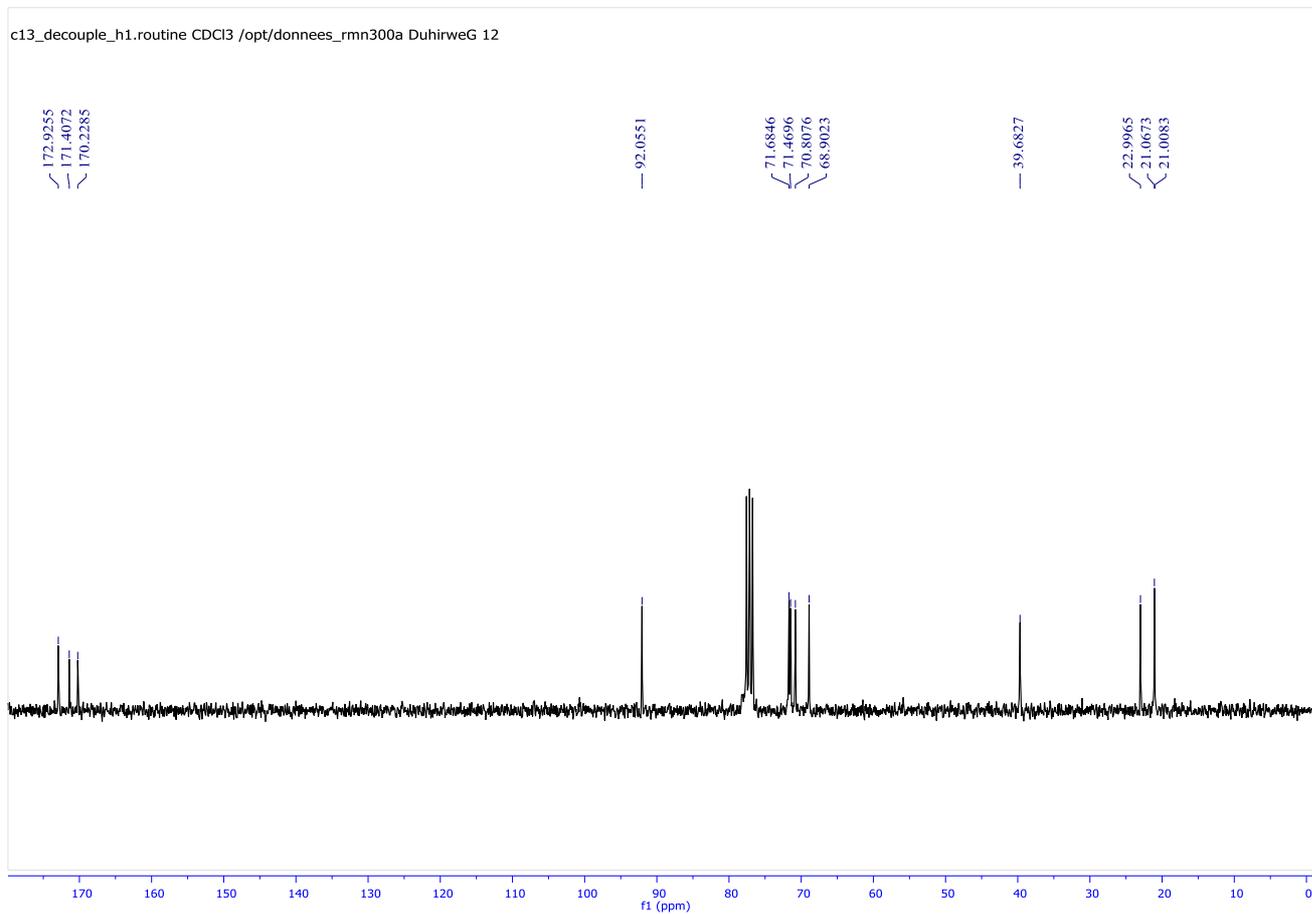
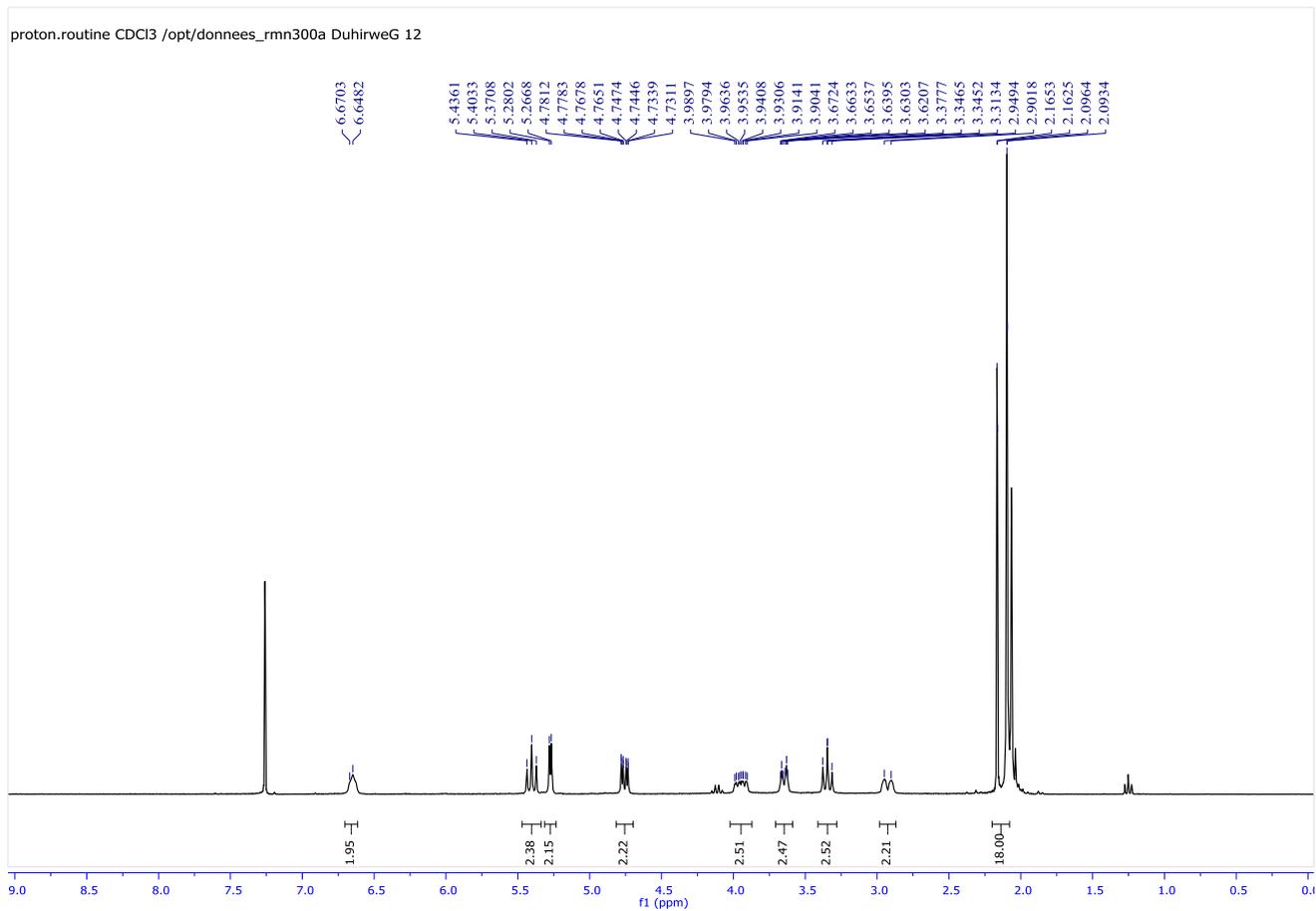
IR (ATR) ν_{max} 3302 ($\nu_{\text{O-H}}$), 1722 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1645 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1593 (ν_{COO^-}), 1535 ($\nu_{\text{N-H}}$), 1342 ($\nu_{\text{N-C}}$), 1184 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1132 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1051 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1020 ($\nu_{\text{C-O}}$), 700 ($\nu_{\text{N-H}}$) cm^{-1} .

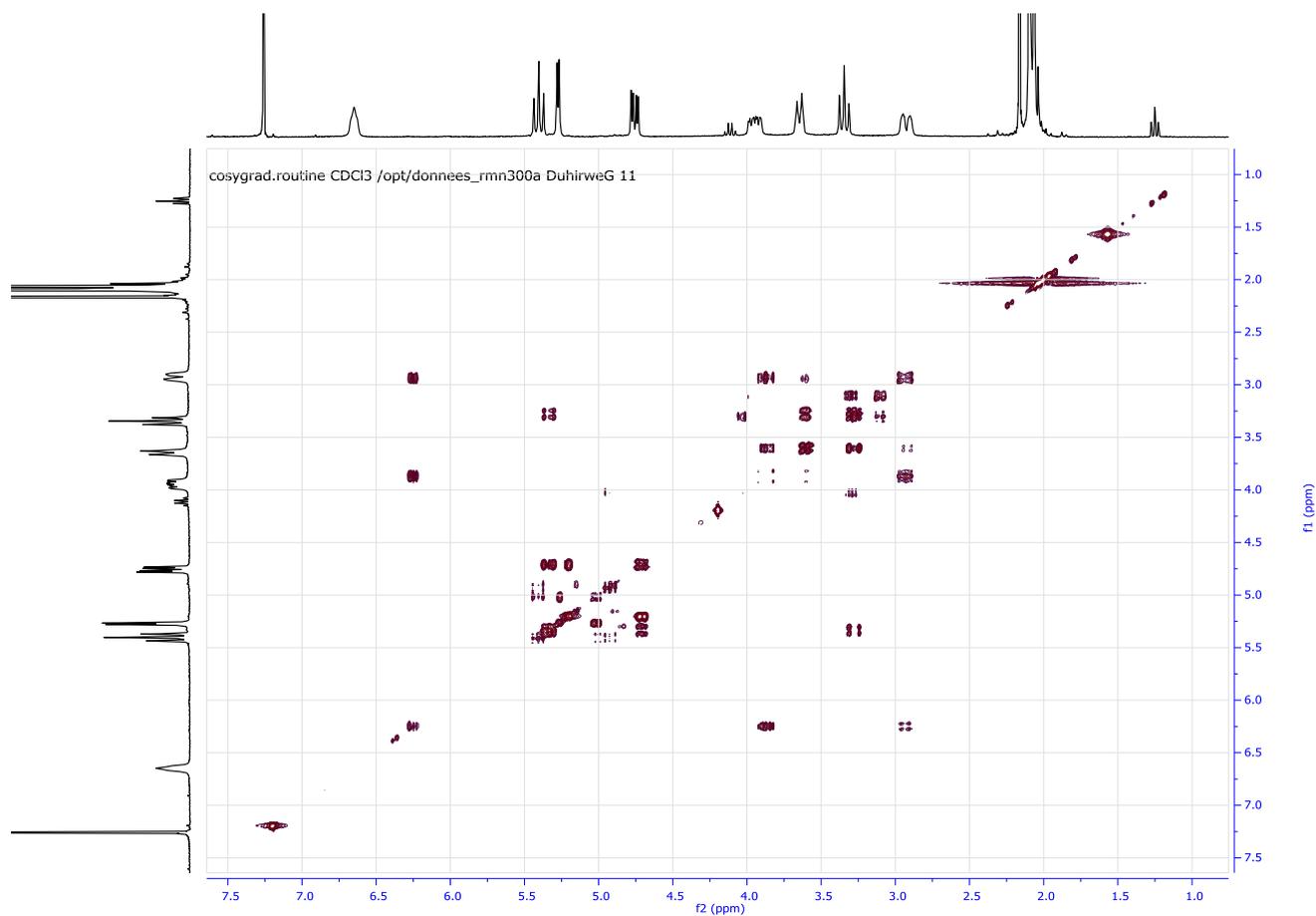
ESIHRMS m/z calcd for $\text{C}_{51}\text{H}_{60}\text{N}_6\text{O}_{16}\text{S}$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ 1045.3842, found 1045.3865.

X.3 Spectra of derivative 15

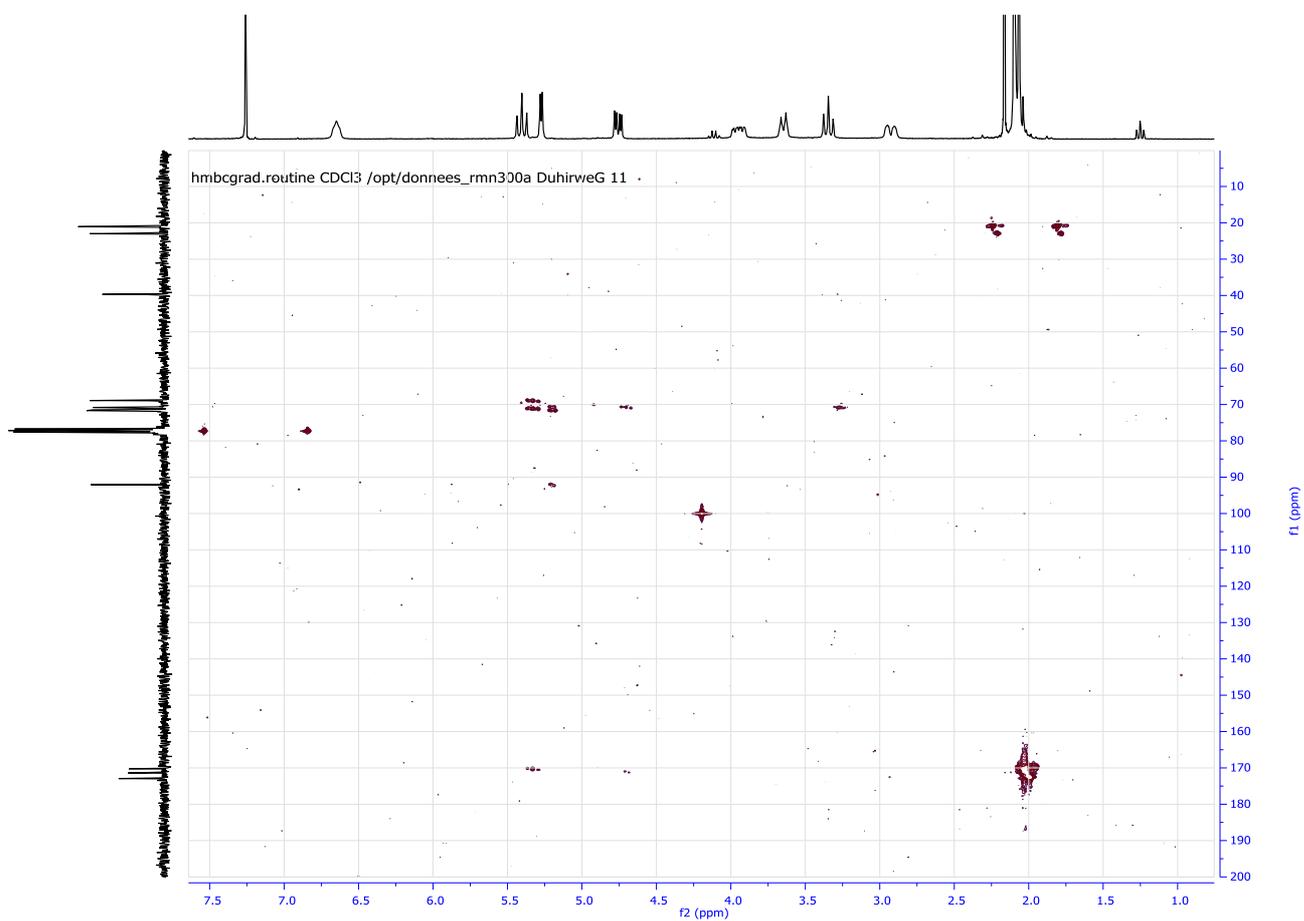
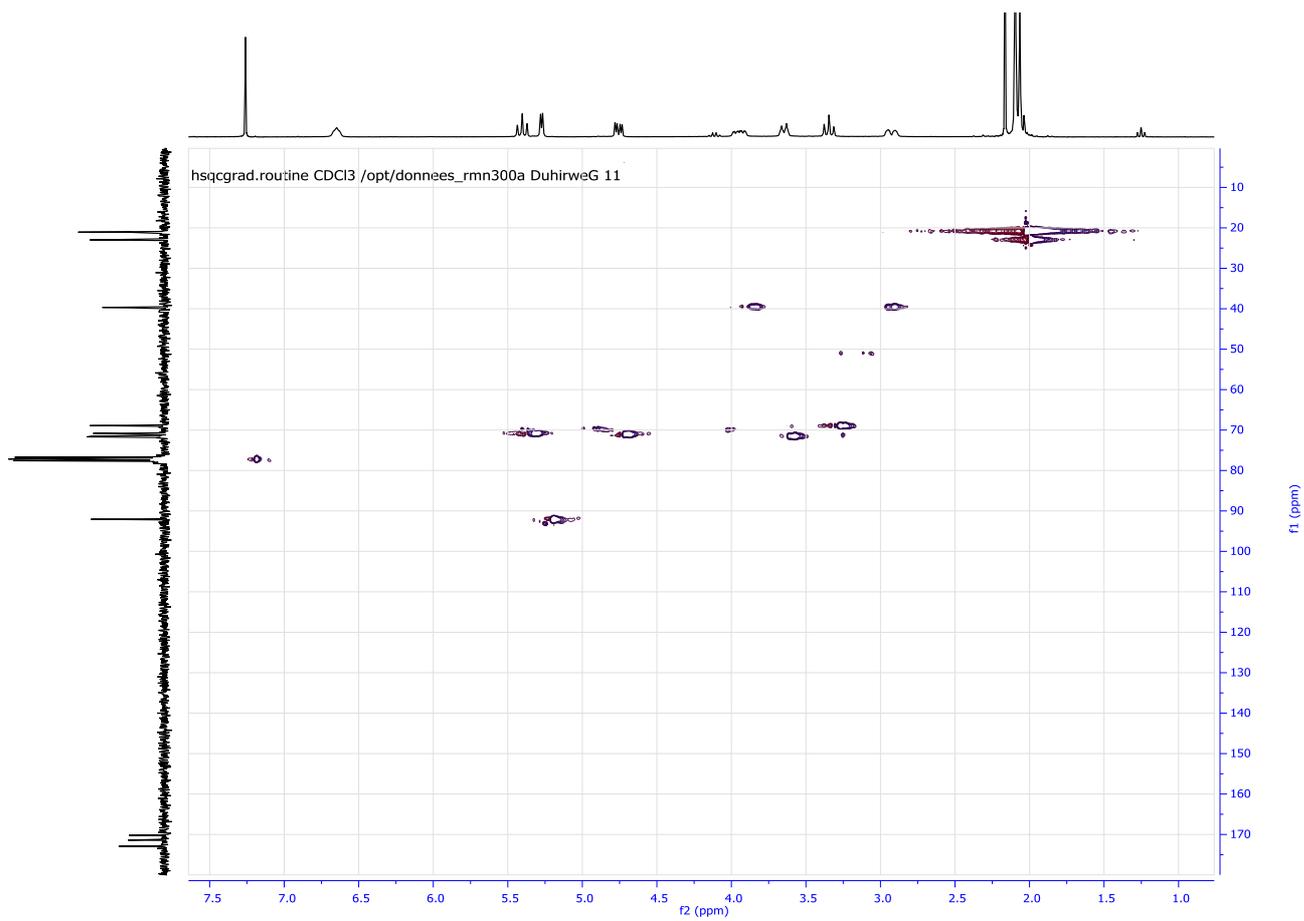


X. Partie Expérimentale





X. Partie Expérimentale



X.4 Enzymatic degradation

X.4.1 Experimental conditions

X.4.1.1 Enzymatic assay of trehalase from porcine kidney

X.4.1.1.1 Reagents

- Citrate buffer, 135 mM at pH 5.7 (Add citric acid monohydrate in 100 mL deionized water and adjust at the given pH using 1 M NaOH)
- Buffer of Tris, 500 mM at pH 7.5 (Add Trizma Base in 100 mL deionized water and adjust at the given pH using 1 M HCl)
- Trehalase enzyme solution (0.1-0.3 unit/mL) (Few seconds before use, add trehalase in cold citrate buffer)

X.4.1.1.2 Procedure

In a suitable vial, mix by inversion citrate buffer (3 mL) and trehalase solution (1 mL). After equilibration at 37°C, add 0.1 mL of a solution of the compound (0.1-0.15 mmol) in the citrate buffer. Mix again by inversion and incubate at 37 °C for 4 h. Add Tris buffer (0.5 mL) to stop the degradation.

X.4.1.2 Enzymatic assay of α -glycosidase from *Aspergillus niger*

X.4.1.2.1 Reagents

- Citrate buffer, 135 mM at pH 4.0 (Add citric acid monohydrate in 100 mL deionized water and adjust at the given pH using 1 M NaOH)
- Tris Buffer, 500 mM at pH 7.5 (Add Trizma Base in 100 mL deionized water and adjust at the given pH using 1 M HCL)

X.4.1.2.2 Procedure

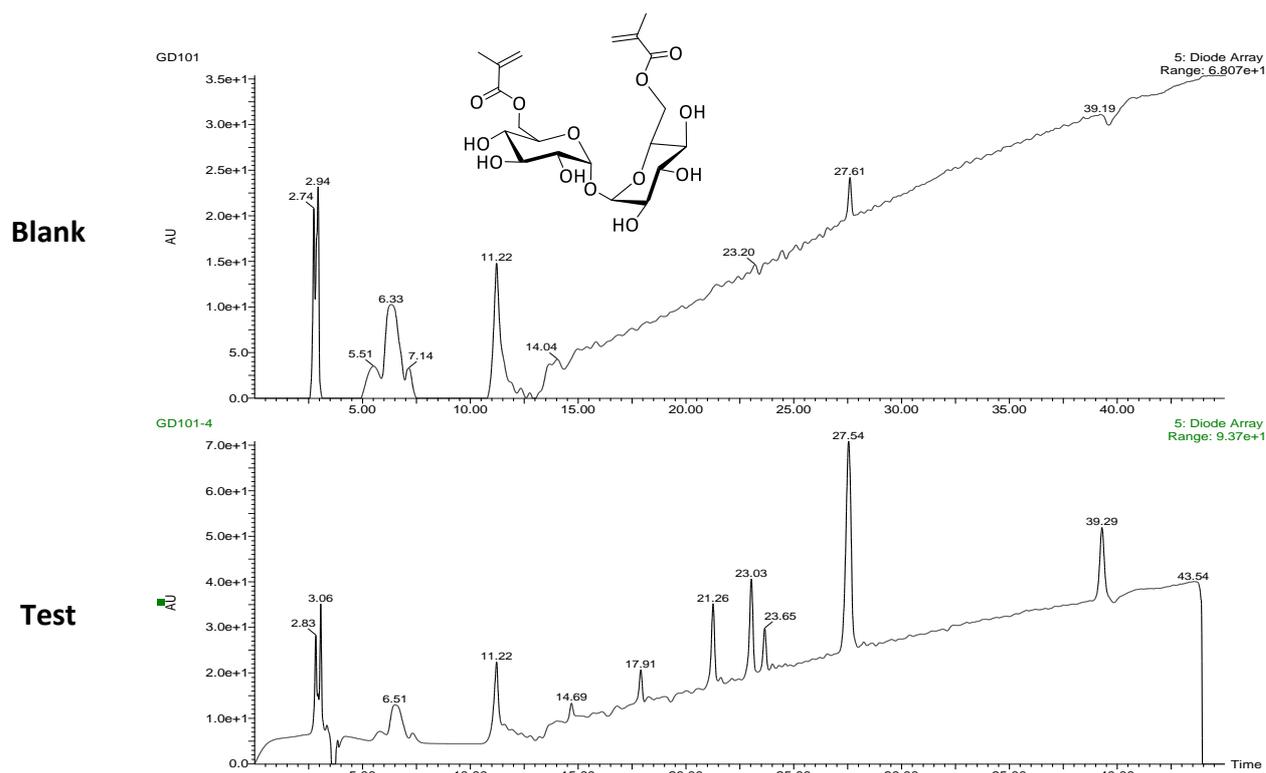
In a suitable vial, mix by inversion citrate buffer (3 mL) and enzymes (0.1-0.3 unit/mL). After equilibration at 37°C, add 0.1 mL of a solution of the compound (0.1-0.15 mmol) in the citric acid

buffer. Mix again by inversion and incubate at 37 °C for 48 h. Add Tris buffer (0.5 mL) to stop the degradation. Add Tris buffer (0.5 mL) to stop the degradation.

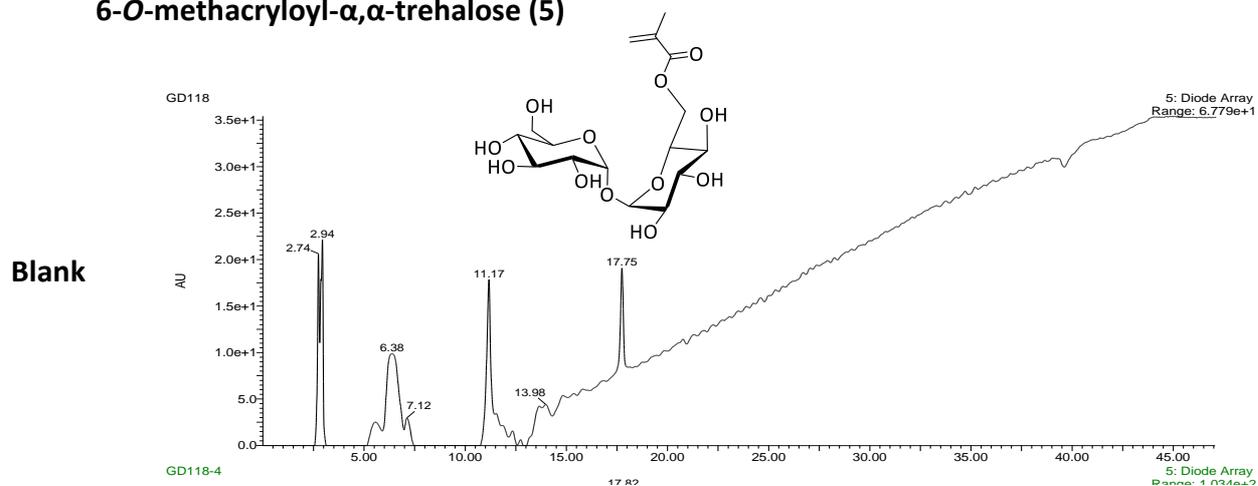
X.4.2 Chromatograms

X.4.2.1 Degradation using trehalase

6,6'-di-*O*-methacryloyl- α,α -trehalose (4)

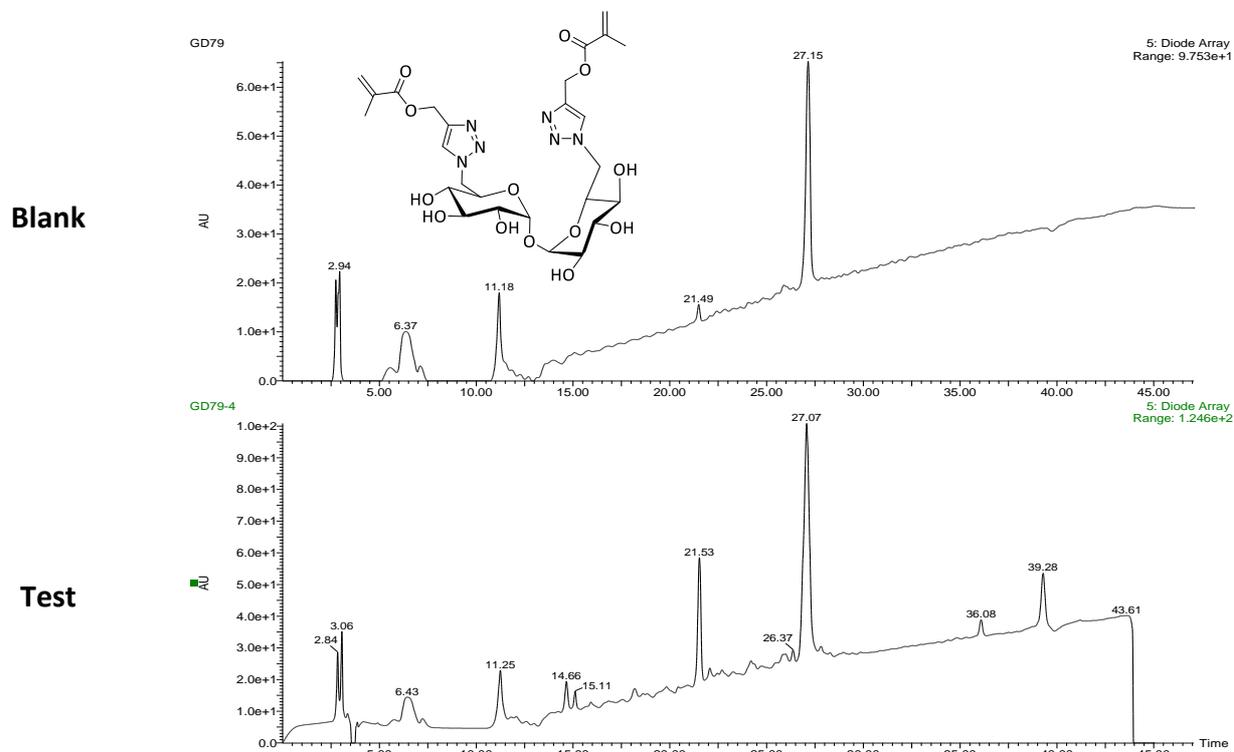


6-*O*-methacryloyl- α,α -trehalose (5)



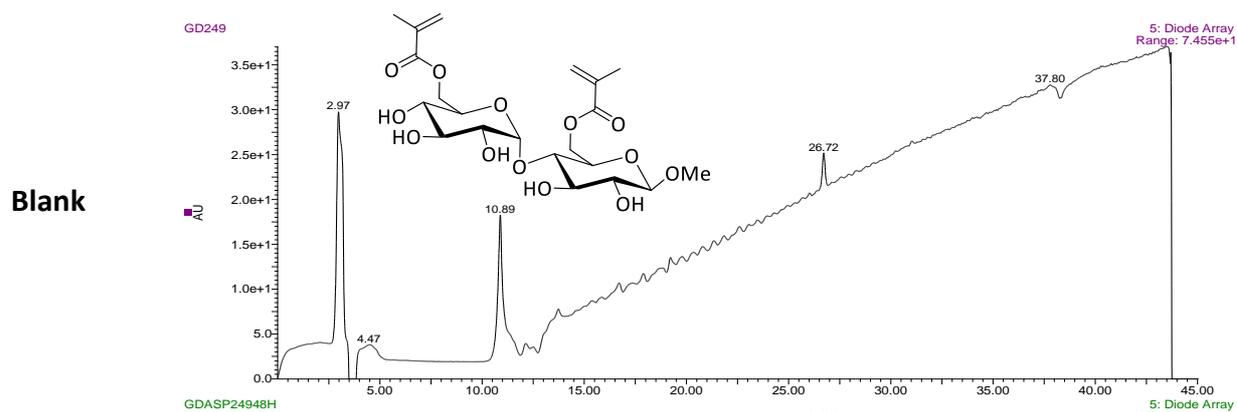
Test

6,6'-dideoxy-6,6'-di-(4-methacryloylmethyltriazol-1-yl)- α,α -trehalose (19)



X.4.2.2 Degradation using α -glycosidase from *Aspergillus niger*

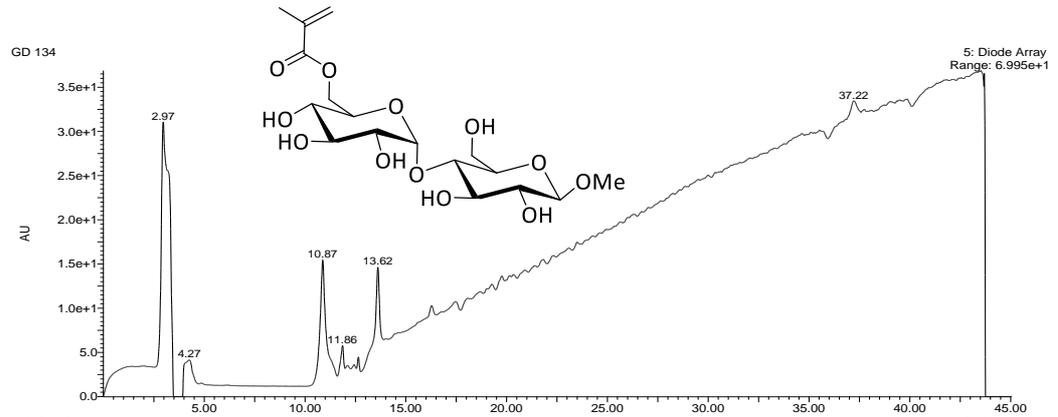
Methyl 6,6'-di-O-methacryloyl- β -maltoside (8)



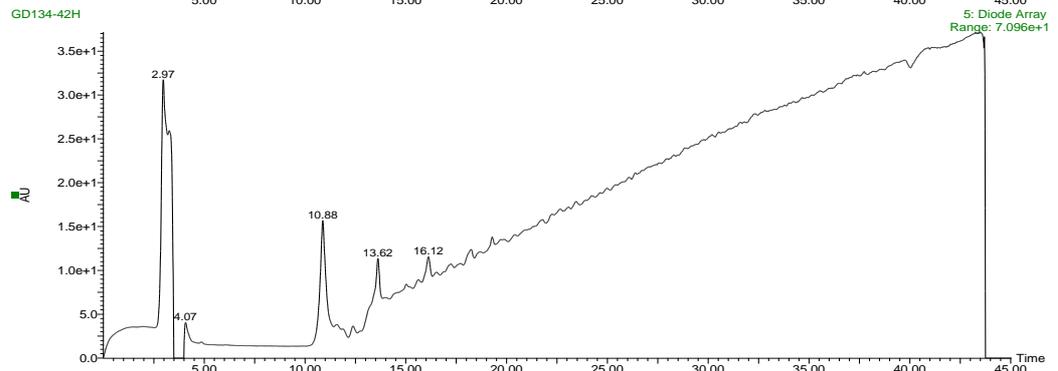
Test

Methyl 6'-O-methacryloyl-β-maltoside (9)

Blank

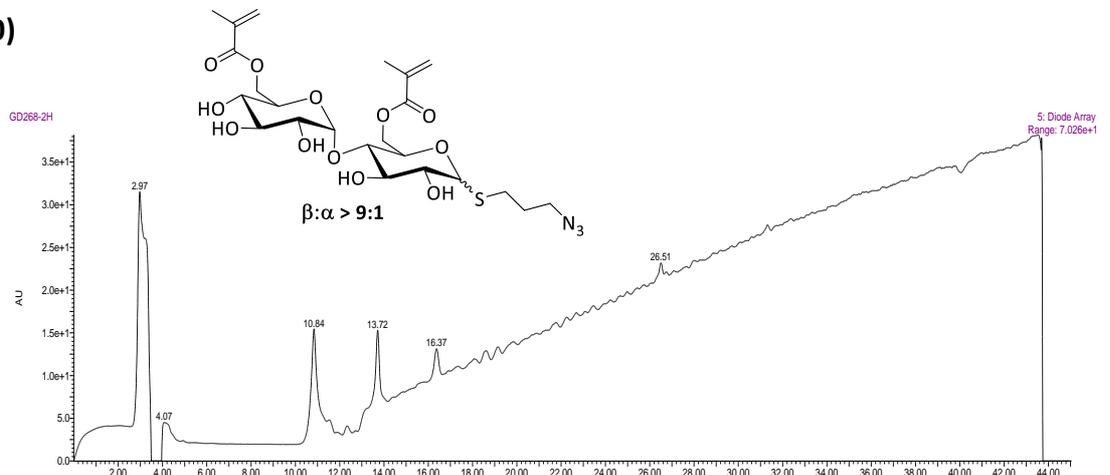


Test

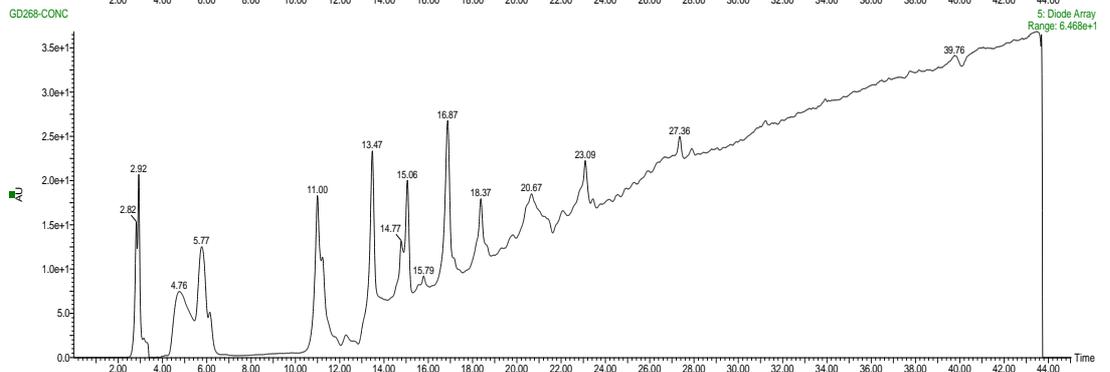


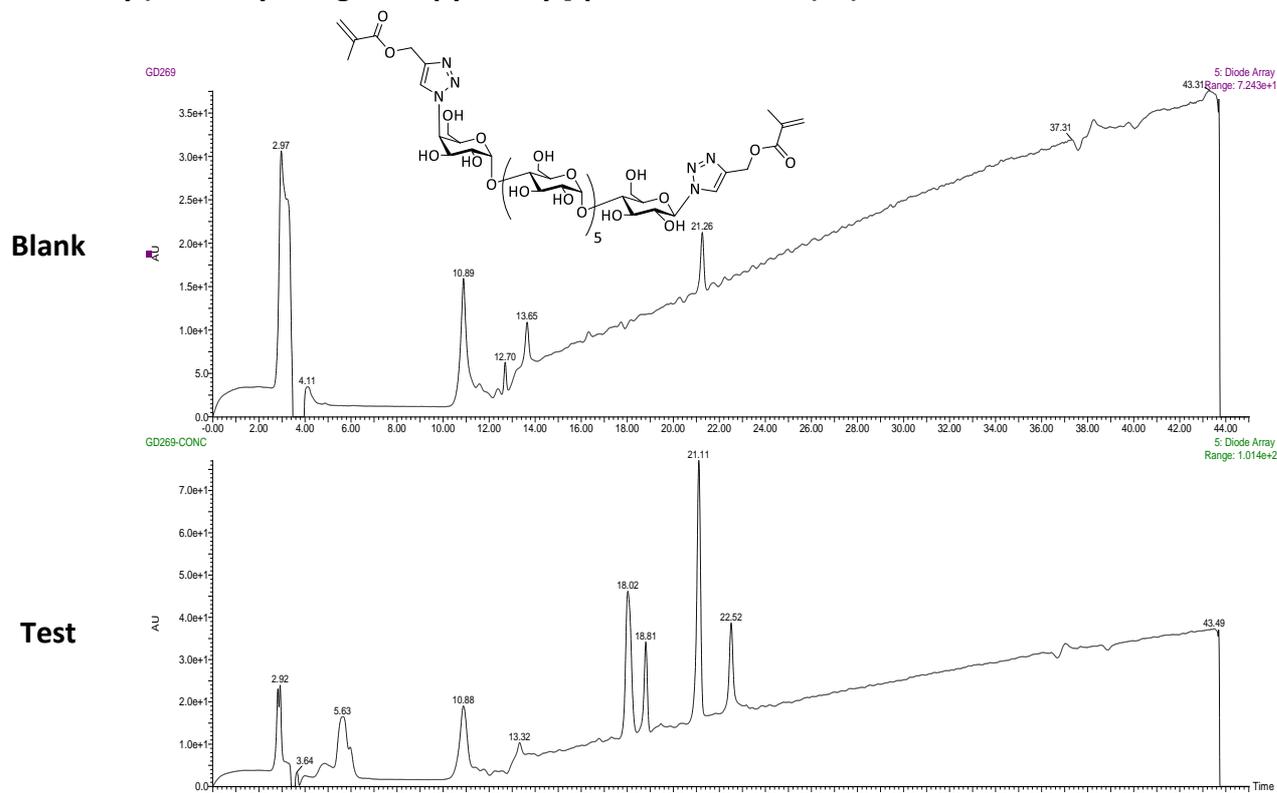
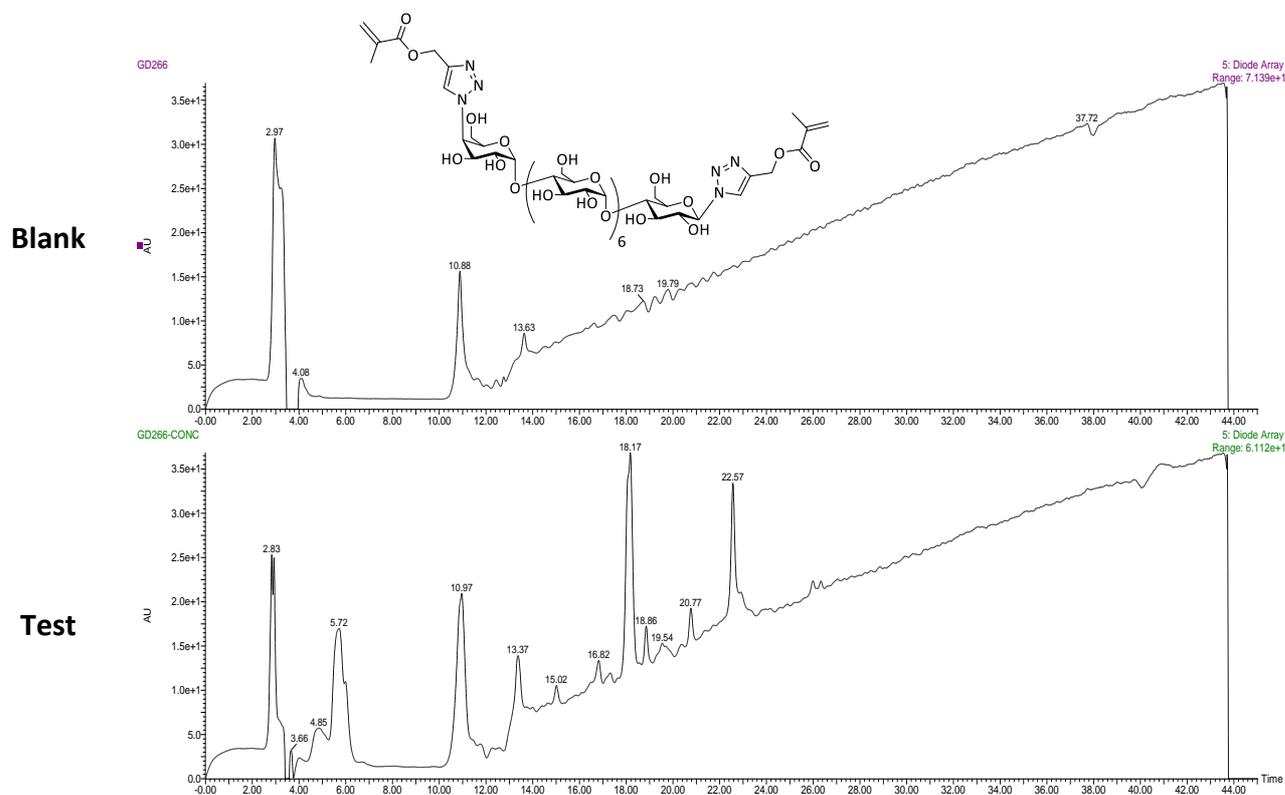
3-Azido-1-[4-O-(6-O-methacryloyl-α-D-glucopyranosyl)-6-O-methacryloyl-D-glucopyranosylthio]-propane (50)

Blank



Test



1^I-deoxy-1^I-(4-methacryloylmethyl-1,2,3-triazol-1-yl)-4^{VI}-O-[4-(4-methacryloyloxymethyl-1,2,3-triazol-1-yl)-4-deoxy- α -D-galactopyranosyl]- β -maltohexaose (43)**1^I-deoxy-1^I-(4-methacryloylmethyl-1,2,3-triazol-1-yl)-4^{VII}-O-[4-(4-methacryloyloxymethyl-1,2,3-triazol-1-yl)-4-deoxy- α -D-galactopyranosyl]- β -maltoheptaose (44)**

X.5 Syntheses of polymers

X.5.1 Synthesis of polymer films based on cross-linking agents of sugars

Cross-linked polymers were synthesized using cross-linking agents (**4**, **13**, **19**, **8**, **21**) and TEGDMA (control) (2 mmol), HEMA as functional monomer (0.5 mmol). Polymerization was performed using DPAP as the initiator and DMSO (32%, w/w) under UV irradiation. After 40 minutes, polymer films were washed with ethanol, dried, and analyzed by ESEM and AFM.

X.5.2 Synthesis of polymer films based on 6-*O*-methacryloyl- α,α -trehalose **5**

Cross-linked polymers were synthesized using TEGDMA as cross-linking agents (2 mmol), 6-*O*-methacryloyl- α,α -trehalose **5** and HEMA (control) as functional monomers (0.5 mmol). Polymerization was performed using DPAP as the initiator and DMSO (32%, w/w) under UV irradiation. After 20 minutes, polymer films were washed with ethanol, dried, and analyzed by ESEM and AFM.

X.5.3 Syntheses of molecularly imprinted and non-imprinted nanoparticles

A solution of cross-linking agents (**4**, **8** and EGDMA), methacrylic acid as functional monomer in relative ratio of 5:1, 5-fluorouracil as template and ABDV as the initiator, in acetonitrile were sonicated, purged under Ar. Polymerizations were performed at 50 °C and the resulted nanoparticles were washed 4 times with methanol-acetic acid (4:1, v/v) to remove the template. Non-imprinted polymers were synthesized using the same method without 5-fluorouracil.

XI. BIBLIOGRAPHIE

« La bibliographie se fait après et non avant d'aborder un sujet de recherche. »

Jean Perrin

1. Fischer, E. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1894**, 27 (3), 2985–2993.
2. Ball, D.; Hill, J.; Scott, R. In *The Basics of General, Organic, and Biological Chemistry*; Flat World Knowledge, **2012**; pp 1049–1050.
3. vitstudio. Digital Illustration Antibodies - 168068714 : Shutterstock
<http://www.shutterstock.com/fr/pic-168068714/stock-photo-digital-illustration-antibodies.html?src=sIPDwEP5dGVv9nua55VQIA-1-2>.
4. Shen, Y.; Joachimiak, A.; Rosner, M. R.; Tang, W.-J. *Nature* **2006**, 443 (7113), 870–874.
5. Xu, F.; Wu, H.; Katritch, V.; Han, G. W.; Jacobson, K. a; Gao, Z.-G.; Cherezov, V.; Stevens, R. C. *Science* **2011**, 332 (6027), 322–327.
6. Mulchandani, A. In *Enzyme and Microbial Biosensors*; Humana Press: New Jersey, **1998**; Vol. 6, pp 3–14.
7. Hage, D. S. *Clin. Chem.* **1999**, 45 (5), 593–615.
8. Marazuela, M.; Moreno-Bondi, M. *Anal. Bioanal. Chem.* **2002**, 372 (5-6), 664–682.
9. Lequin, R. M. *Clin. Chem.* **2005**, 51 (12), 2415–2418.
10. De Jong, L. A. A.; Uges, D. R. A.; Franke, J. P.; Bischoff, R. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2005**, 829 (1-2), 1–25.
11. Vaillant AA, J.; Na, M. *J. Chromatogr. Sep. Tech.* **2015**, 06 (07), 6–7.
12. Polyakov, M. V. *Zh. Fiz. Khim.* **1931**, 2, 799–805.
13. Dickey, F. H. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1949**, 35 (5), 227–229.
14. Curti, R.; Colombo, U. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, 74 (15), 3961–3961.
15. Beckett, A. H.; Anderson, P. *Nature* **1957**, 179 (4569), 1074–1075.
16. Erlenmeyer, H.; Bartels, H. *Helv. Chim. Acta* **1964**, 47 (1), 46–51.
17. Hans, E. Silica gel filter for removing nicotine from tobacco smoke, **1965**.
18. Wulff, G. *Microchim. Acta* **2013**, 180 (15-16), 1359–1370.
19. Wulff, G.; Sarhan, A. *Angew. Chem. - Int. Ed.* **1972**, 11, 341.
20. Takacishi, T.; Klotz, I. M. **1972**, 11 (1), 4–3.
21. Arshady, R.; Mosbach, K. *Die Makromol. Chemie* **1981**, 182 (2), 687–692.
22. Andersson, L.; Sellergren, B.; Mosbach, K. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25 (45), 5211–5214.
23. Glad, M.; Norrlov, O.; Sellergren, B.; Siegbahn, N.; Mosbach, K. *J. Chromatogr. Elsevier Sci. Publ. B.V* **1985**, 347 (17), 11–23.
24. Mattos Dos Santos, P.; Hall, A. J.; Manesiotis, P. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* **2016**, 1021, 197–203.
25. Pellizzoni, E.; Tommasini, M.; Marangon, E.; Rizzolio, F.; Saito, G.; Benedetti, F.; Toffoli, G.; Resmini, M.; Berti, F. *Biosens. Bioelectron.* **2016**, 86, 913–919.
26. Awino, J. K.; Gunasekara, R. W.; Zhao, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, 138 (31), 9759–9762.

27. Nestora, S.; Merlier, F.; Prost, E.; Haupt, K.; Rossi, C.; Tse Sum Bui, B. *J. Chromatogr. A* **2016**, *1465*, 47–54.
28. Amitha Rani, B.; Singh, K.; Pasha, A. *Chronicles Young Sci.* **2013**, *4* (1), 46.
29. Wang, Q.; Zhang, X.; Xu, Z.; Gao, H. *Food Anal. Methods* **2015**, *8* (8), 2044–2051.
30. Khadem, M.; Faridbod, F.; Norouzi, P.; Foroushani, A. R.; Ganjali, M. R.; Shahtaheri, S. J. *J. Iran. Chem. Soc.* **2016**, *13* (11), 2077–2084.
31. Stevenson, D.; Reddy, S. M. *Bioanalysis* **2016**, *8* (21), 2255–2263.
32. Nezhadali, A.; Es'haghi, Z.; Khatibi, A. *Anal. Methods* **2016**, *8* (8), 1813–1827.
33. Li, S.; Cao, S.; Whitcombe, M. J.; Piletsky, S. A. *Prog. Polym. Sci.* **2014**, *39* (1), 145–163.
34. Scorrano, S.; Mergola, L.; del Sole, R.; Vasapollo, G. *Int. J. Mol. Sci.* **2011**, *12* (3), 1735–1743.
35. Urraca, J. L.; Hall, A. J.; Moreno-Bondi, M. C.; Sellergren, B. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2006**, *45* (31), 5158–5161.
36. Çetin, K.; Denizli, A. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2015**, *126*, 401–406.
37. Neto, J. D. R. M.; Santos, W. D. J. R.; Lima, P. R.; Tanaka, S. M. C. N.; Tanaka, A. A.; Kubota, L. *Sensors Actuators B Chem.* **2011**, *152* (2), 220–225.
38. Lofgreen, J. E. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43* (3), 911–933.
39. Singh, M.; Kumar, A.; Tarannum, N. *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, *405* (12), 4245–4252.
40. Athikomrattanakul, U.; Katterle, M.; Gajovic-Eichelmann, N.; Scheller, F. W. *Biosens. Bioelectron.* **2009**, *25* (1), 82–87.
41. Kobayashi, S.; Makino, A. *Chem. Rev.* **2009**, *109* (11), 5288–5353.
42. Haginaka, J.; Takehira, H.; Hosoya, K.; Tanaka, N. *J. Chromatogr. A* **1998**, *816* (2), 113–121.
43. Schmidt, R. H.; Belmont, A.-S.; Haupt, K. *Anal. Chim. Acta* **2005**, *542* (1), 118–124.
44. Ma, Y.; Pan, G.; Zhang, Y.; Guo, X.; Zhang, H. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2013**, *52* (5), 1511–1514.
45. Scorrano, S.; Longo, L.; Vasapollo, G. *Anal. Chim. Acta* **2010**, *659* (1-2), 167–171.
46. Van Royen, G.; Dubruel, P.; Daeseleire, E. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62* (35), 8814–8821.
47. Ma, Y.; Pan, G.; Zhang, Y.; Guo, X.; Zhang, H. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2013**, *52* (5), 1511–1514.
48. Zheng, M. M.; Gong, R.; Zhao, X.; Feng, Y. Q. *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217* (14), 2075–2081.
49. Yoshimatsu, K.; Reimhult, K.; Krozer, A.; Mosbach, K.; Sode, K.; Ye, L. *Anal. Chim. Acta* **2007**, *584* (1), 112–121.
50. Poma, A.; Turner, A. P. F.; Piletsky, S. A. *Trends Biotechnol.* **2010**, *28* (12), 629–637.
51. Ye, L.; Cormack, P. a. G.; Mosbach, K. *Anal. Commun.* **1999**, *36* (2), 35–38.
52. Ye, L.; Mosbach, K. *React. Funct. Polym.* **2001**, *48* (1-3), 149–157.

53. Cacho, C.; Turiel, E.; Martin-Esteban, A.; Pérez-Conde, C.; Cámara, C. *J. Chromatogr. B* **2004**, *802* (2), 347–353.
54. Brüggemann, O.; Haupt, K.; Ye, L.; Yilmaz, E.; Mosbach, K. *J. Chromatogr. A* **2000**, *889* (1), 15–24.
55. Tamayo, F. G.; Casillas, J. L.; Martin-Esteban, A. *J. Chromatogr. A* **2005**, *1069* (2), 173–181.
56. Boonpangrak, S.; Prachayasittikul, V.; Bülow, L.; Ye, L. *J. Appl. Polym. Sci.* **2006**, *99* (4), 1390–1398.
57. Li, P.; Rong, F.; Yuan, C. *Polym. Int.* **2003**, *52* (12), 1799–1806.
58. Lai, J.-P.; Yang, M.-L.; Niessner, R.; Knopp, D. *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, *389* (2), 405–412.
59. Sari, E.; Üzek, R.; Duman, M.; Denizli, A. *Talanta* **2016**, *150*, 607–614.
60. Uzun, L.; Uzek, R.; Şenel, S.; Say, R.; Denizli, A. *Mater. Sci. Eng. C* **2013**, *33* (6), 3432–3439.
61. Esfandyari-Manesh, M.; Darvishi, B.; Ishkuh, F. A.; Shahmoradi, E.; Mohammadi, A.; Javanbakht, M.; Dinarvand, R.; Atyabi, F. *Mater. Sci. Eng. C* **2016**, *62*, 626–633.
62. Capek, I. *Adv. Colloid Interface Sci.* **1999**, *80* (2), 85–149.
63. Dvorakova, G.; Haschick, R.; Klapper, M.; Müllen, K.; Biffis, A. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2013**, *51* (2), 267–274.
64. Zeng, Z.; Hoshino, Y.; Rodriguez, A.; Yoo, H.; Shea, K. J. *ACS Nano* **2010**, *4* (1), 199–204.
65. Luo, X.; Zhan, Y.; Huang, Y.; Yang, L.; Tu, X.; Luo, S. *J. Hazard. Mater.* **2011**, *187* (1-3), 274–282.
66. Lin, M.; Li, X.; Zhang, W.; Ying, X. *J. Appl. Polym. Sci.* **2013**, *127* (3), 2067–2073.
67. Zhang, Z.; Chen, L. X.; Yang, F. F.; Li, J. H. *Rsc Adv.* **2014**, *4* (60), 31507–31514.
68. Murase, N.; Taniguchi, S. I.; Takano, E.; Kitayama, Y.; Takeuchi, T. *Macromol. Chem. Phys.* **2015**, *216* (13), 1396–1404.
69. Yu, P.; Sun, Q.; Tan, Z.; Meng, M.; Pan, J.; Yan, Y.; Li, C. *Adsorpt. Sci. Technol.* **2015**, *33* (3), 321–336.
70. Jaiswal, L.; Rakkit, S.; Pochin, K.; Jaisamut, P.; Tanthana, C.; Tanmanee, N.; Srichana, T.; Suedee, R. *Process Biochem.* **2015**, *50* (12), 2035–2050.
71. Alizadeh, T.; Ganjali, M. R.; Alizadeh, H. *Microchim. Acta* **2015**, *182* (5–6), 1205–1212.
72. Meouche, W.; Branger, C.; Beurroies, I.; Denoyel, R.; Margailan, A. *Macromol. Rapid Commun.* **2012**, *33* (10), 928–932.
73. Wolska, J.; Bryjak, M. *Sep. Sci. Technol.* **2014**, *49* (11), 1643–1653.
74. Wulff, G.; Chong, B. O.; Kolb, U. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2006**, *45* (18), 2955–2958.
75. Çakir, P.; Cutivet, A.; Resmini, M.; Bui, B. T. S.; Haupt, K. *Adv. Mater.* **2013**, *25* (7), 1048–1051.
76. Guerreiro, A. R.; Chianella, I.; Piletska, E.; Whitcombe, M. J.; Piletsky, S. A. *Biosens. Bioelectron.* **2009**, *24* (8), 2740–2743.

77. Cutivet, A.; Schembri, C.; Kovensky, J.; Haupt, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (41), 14699–14702.
78. Chen, H.; Yuan, D.; Li, Y.; Dong, M.; Chai, Z.; Kong, J.; Fu, G. *Anal. Chim. Acta* **2013**, *779*, 82–89.
79. Chen, H.; Kong, J.; Yuan, D.; Fu, G. *Biosens. Bioelectron.* **2014**, *53*, 5–11
80. Wulff, G. *Pure Appl. Chem.* **1982**, *54* (11), 2093–2102.
81. Wulff, G.; Biffis, A. In *Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*; **2000**; Vol. 23, pp 71–111.
82. Dubey, L.; Chianella, I.; Dubey, I.; Piletska, E.; Whitcombe, M. J.; Piletsky, S. *Open Anal. Chem. J.* **2012**, *6* (1), 15–21.
83. Shea, K. J.; Sasaki, D. Y.; Stoddard, G. J. *Macromolecules* **1989**, *22* (4), 1722–1730.
84. Mohamad Yusof, N. N.; Tanioka, E.; Kobayashi, T. *Sep. Purif. Technol.* **2014**, *122*, 341–349.
85. Burri, H. V. R.; Yu, D. *J. Biomed. Sci. Eng.* **2015**, *8* (12), 805–814.
86. Shen, F.; Ren, X. *RSC Adv.* **2014**, *4* (25), 13123.
87. Yang, W. L.; Huang, S. M.; Wu, Q. Z.; He, J. F. *J. Polym. Res.* **2014**, *21* (4), 383.
88. Li, X.; Tong, Y.; Jia, L.; Guan, H. *Monatshefte fur Chemie* **2015**, *146* (3), 423–430.
89. Hashim, S. N. N. S.; Boysen, R. I.; Schwarz, L. J.; Danylec, B.; Hearn, M. T. W. *J. Chromatogr. A* **2014**, *1359*, 35–43.
90. Ye, L. In *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*; **2015**; Vol. 150, pp 1–24.
91. Wulff, Gün.; Minarik, M. *J. Liq. Chromatogr.* **1990**, *13* (15), 2987–3000.
92. Haupt, K.; Mosbach, K. *Chem. Rev.* **2000**, *100* (7), 2495–2504.
93. Komiyama, M.; Takeuchi, T.; Mukawa, T.; Asanuma, H. In *Molecular Imprinting*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, FRG, **2003**; pp 9–19.
94. Inanan, T.; Tüzmen, N.; Akgöl, S.; Denizli, A. *Int. J. Biol. Macromol.* **2016**, *92*, 451–460.
95. Rossetti, C.; Abdel Qader, A.; Halvorsen, T. G.; Sellergren, B.; Reubsaet, L. *Anal. Chem.* **2014**, *86* (24), 12291–12298.
96. Krstulja, A.; De Schutter, C.; Favetta, P.; Manesiotis, P.; Agrofoglio, L. A. *J. Chromatogr. A* **2014**, *1365*, 12–18.
97. Henry, N.; Favetta, P.; Delépée, R.; Seigneuret, J. M.; Agrofoglio, L. A. *Int. J. Cosmet. Sci.* **2015**, *37* (2), 196–206.
98. Sellergren, B.; Lepisto, M.; Mosbach, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *1* (c), 5853–5860.
99. Duffy, D. J.; Das, K.; Hsu, S. L.; Penelle, J.; Rotello, V. M.; Stidham, H. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124* (28), 8290–8296.
100. Svenson, J.; Karlsson, J. G.; Nicholls, I. A. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1024* (1-2), 39–44.

- 101.** Karim, K.; Breton, F.; Rouillon, R.; Piletska, E. V.; Guerreiro, A.; Chianella, I.; Piletsky, S. A. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2005**, *57* (12), 1795–1808.
- 102.** Vasapollo, G.; Sole, R. Del; Mergola, L.; Lazzoi, M. R.; Scardino, A.; Scorrano, S.; Mele, G. *Int. J. Mol. Sci.* **2011**, *12* (9), 5908–5945.
- 103.** Zandanel, C. Préparation de polymères imprimés de sucres par mini-émulsion ‘one pot’ et l’approche semi-covalente en surface, Thèse doctorale, Université de Strasbourg, **2009**.
- 104.** Sellergren, B.; Andersson, L. *J. Org. Chem.* **1990**, *55* (2), 3381–3383.
- 105.** Whitcombe, M. J.; Rodriguez, M. E.; Villar, P.; Vulfson, E. N. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117* (27), 7105–7111.
- 106.** Caro, E.; Masqué, N.; Marcé, R. M.; Borrull, F.; Cormack, P. A.; Sherrington, D. C. *J. Chromatogr. A* **2002**, *963* (1-2), 169–178.
- 107.** Taguchi, H.; Sunayama, H.; Takano, E.; Kitayama, Y.; Takeuchi, T. *Analyst* **2015**, *140* (5), 1448–1452.
- 108.** Soares da Silva, M.; Viveiros, R.; Aguiar-Ricardo, A.; Bonifácio, V. D. B.; Casimiro, T. *RSC Adv.* **2012**, *2* (12), 5075.
- 109.** Kou, L.-J.; Liang, R.-N.; Wang, X.-W.; Chen, Y.; Qin, W. *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, *405* (14), 4931–4936.
- 110.** Qi, P.; Wang, J.; Wang, L.; Li, Y.; Jin, J.; Su, F.; Tian, Y.; Chen, J. *Polymer (Guildf)*. **2010**, *51* (23), 5417–5423.
- 111.** Sellergren, B.; Allender, C. J. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2005**, *57* (12), 1733–1741.
- 112.** Cheong, W. J.; Yang, S. H.; Ali, F. *J. Sep. Sci.* **2013**, *36* (3), 609–628.
- 113.** Wei, S.; Mizaiikoff, B. *J. Sep. Sci.* **2007**, *30* (11), 1794–1805.
- 114.** Turiel, E.; Díaz-Álvarez, M.; Martín-Esteban, A. *J. Chromatogr. A* **2016**, *1432*, 1–6.
- 115.** Lucci, P.; Moret, S.; Bettin, S.; Conte, L. *J. Sep. Sci.* **2016**.
- 116.** Thibert, V.; Legeay, P.; Chapuis-Hugon, F.; Pichon, V. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2014**, *949-950*, 16–23
- 117.** Piletsky, S. A.; Turner, N. W.; Laitenberger, P. *Med. Eng. Phys.* **2006**, *28* (10), 971–977.
- 118.** Nikesh B. Samarth, Vinayak Kamble, Prakash A. Mahanwar, A. V. R. and A. V. K. *Chem. Int.* **2015**, *4* (4), 202–210.
- 119.** Li, W.; Li, S. In *Advances in Polymer Science*; Springer Berlin Heidelberg, **2007**; Vol. 206, pp 191–210.
- 120.** Wade, H.; Scanlan, T. S.; Bornscheuer, U. T.; Huisman, G. W.; Kazlauskas, R. J.; Lutz, S.; Moore, J. C.; Robins, K.; Toogood, H. S.; Scrutton, N. S.; Shokat, K. M.; Schultz, P. G.; Pauling, L.; Shokat, K. M.; Leumann, C. J.; Sugasawara, R.; Schultz, P. G. *Nature* **1989**, *338* (6212), 269–271.

121. Ramström, O.; Mosbach, K. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *3* (6), 759–764.
122. Ramström, O.; Ye, L.; Mosbach, K. *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 471–477.
123. Chianella, I.; Guerreiro, A.; Moczko, E.; Caygill, J. S.; Piletska, E. V.; De Vargas Sansalvador, I. M. P.; Whitcombe, M. J.; Piletsky, S. A. *Anal. Chem.* **2013**, *85* (17), 8462–8468.
124. Canfarotta, F.; Poma, A.; Guerreiro, A.; Piletsky, S. *Nat. Protoc.* **2016**, *11* (3), 443–455.
125. Suedee, R. *Pharm. Anal. Acta* **2013**, *4* (8), 1–23.
126. Nestora, S.; Merlier, F.; Beyazit, S.; Prost, E.; Duma, L.; Baril, B.; Greaves, A.; Haupt, K.; Tse Sum Bui, B. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2016**, *55* (21), 6252–6256.
127. Krewski, D.; Yokel, R. a; Nieboer, E.; Borchelt, D.; Cohen, J.; Harry, J.; Kacew, S.; Lindsay, J.; Mahfouz, A. M.; Rondeau, V. *J. Toxicol. Environ. Heal. Part B* **2007**, *10* (sup1), 1–269.
128. Api, A. M.; Basketter, D. a; Cadby, P. a; Cano, M.-F.; Ellis, G.; Gerberick, G. F.; Griem, P.; McNamee, P. M.; Ryan, C. a; Safford, R. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **2008**, *52* (1), 3–23.
129. Tiwari, G.; Tiwari, R.; Sriwastawa, B.; Bhati, L.; Pandey, S.; Pandey, P.; Bannerjee, S. K. *Int J Pharm Investig* **2012**, *2* (1), 2–11.
130. Luliński, P. *Acta Pol. Pharm.* **2013**, *70* (4), 601–609.
131. Cunliffe, D.; Kirby, A.; Alexander, C. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2005**, *57* (12), 1836–1853.
132. Puoci, F.; Cirillo, G.; Curcio, M.; Parisi, O. I.; Iemma, F.; Picci, N. *Expert Opin. Drug Deliv.* **2011**, *8* (10), 1379–1393.
133. Byrne, M. E.; Park, K.; Peppas, N. A. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2002**, *54* (1), 149–161.
134. Liu, Z.; Bucknall, D. G.; Allen, M. G. *Acta Biomater.* **2010**, *6* (6), 2003–2012.
135. Mayes, A. G.; Whitcombe, M. J. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2005**, *57* (12), 1742–1778.
136. Byrne, M. E.; Hilt, J. Z.; Peppas, N. A. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A* **2008**, *84* (1), 137–147.
137. Cirillo, G.; Iemma, F.; Puoci, F.; Parisi, O. I.; Curcio, M.; Spizzirri, U. G.; Picci, N. *J. Drug Target.* **2009**, *17* (1), 72–77.
138. Malaekheh-Nikouei, B.; Ghaeni, F. A.; Motamedshariaty, V. S.; Mohajeri, S. A. *J. Appl. Polym. Sci.* **2012**, *126* (1), 387–394.
139. Xu, J.; Li, X.; Sun, F. *Drug Deliv.* **2011**, *18* (2), 150–158.
140. Hadizadeh, F.; Zakerian, A.; Mohajeri, S. A. *J. Iran. Chem. Soc.* **2013**, *10* (2), 207–212.
141. Hadizadeh, F.; Hassanpour Moghadam, M.; Mohajeri, S. A. *J. Sci. Food Agric.* **2013**, *93* (2), 304–309.
142. Mohajeri, S. A.; Hosseinzadeh, H.; Keyhanfar, F.; Aghamohammadian, J. *J. Sep. Sci.* **2010**, *33* (15), 2302–2309.
143. Singh, B.; Chauhan, N.; Sharma, V. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2011**, *50* (24), 13742–13751.

144. Yang, Y.; Yi, C.; Luo, J.; Liu, R.; Liu, J.; Jiang, J.; Liu, X. *Biosens. Bioelectron.* **2011**, *26* (5), 2607–2612.
145. Kaamyabi, S.; Habibi, D.; Amini, M. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26* (9), 2349–2354.
146. Piletsky, S. a; Andersson, H. S.; Nicholls, I. a. *Macromolecules* **1999**, *32* (Table 1), 633–636.
147. Striegler, S. *Macromolecules* **2003**, *36* (4), 1310–1317.
148. Gosavi, S. S.; Gosavi, S. Y.; Alla, R. K. *Dent. Res. J. (Isfahan)*. **2010**, *7* (2), 82–87.
149. Hilt, J. Z.; Byrne, M. E. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2004**, *56* (11), 1599–1620.
150. Svenson, J.; Nicholls, I. A. *Anal. Chim. Acta* **2001**, *435* (1), 19–24.
151. Yourtee, D. M.; Smith, R. E.; Russo, K. A.; Burmaster, S.; Cannon, J. M.; Eick, J. D.; Kostoryz, E. *L. J. Biomed. Mater. Res.* **2001**, *57* (4), 522–531.
152. Avérous, L.; Pollet, E. In *Environmental Silicate Nano-Biocomposites*; **2012**; pp 13–39.
153. Nair, L. S.; Laurencin, C. T. *Prog. Polym. Sci.* **2007**, *32* (8-9), 762–798.
154. Luten, J.; van Nostrum, C. F.; De Smedt, S. C.; Hennink, W. E. *J. Control. Release* **2008**, *126* (2), 97–110.
155. Tian, H.; Tang, Z.; Zhuang, X.; Chen, X.; Jing, X. *Prog. Polym. Sci.* **2012**, *37* (2), 237–280.
156. Siracusa, V.; Rocculi, P.; Romani, S.; Rosa, M. D. *Trends Food Sci. Technol.* **2008**, *19* (12), 634–643.
157. Vroman, I.; Tighzert, L. *Materials (Basel)*. **2009**, *2* (2), 307–344.
158. Lucas, N.; Bienaime, C.; Belloy, C.; Queneudec, M.; Silvestre, F.; Nava-Saucedo, J. E. *Chemosphere* **2008**, *73* (4), 429–442.
159. Gunatillake, P.; Mayadunne, R.; Adhikari, R. *Biotechnol. Annu. Rev.* **2006**, *12*, 301–347.
160. Paulusse, J. M. J.; Amir, R. J.; Evans, R. A.; Hawker, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (28), 9805–9812.
161. Madison, L. L.; Huisman, G. W. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **1999**, *63* (1), 21–53.
162. Staahl, M.; Jeppsson-Wistrand, U.; Maansson, M. O.; Mosbach, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113* (24), 9366–9368.
163. Lee, K. S.; Kim, D. S.; Kim, B. S. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **2007**, *12* (2), 152–156.
164. Kim, S. H.; Lee, K. S.; Kim, Y. H.; Choi, W. J.; Kim, B. S.; Kim, E. K.; Kim, D. S. *Polym.* **2007**, *31* (2), 153–159.
165. Kweon, H.; Yoo, M. K.; Park, I. K.; Kim, T. H.; Lee, H. C.; Lee, H. S.; Oh, J. S.; Akaike, T.; Cho, C. *S. Biomaterials* **2003**, *24* (5), 801–808.
166. Albertsson, A.-C.; Varma, I. K. In *Degradable Aliphatic Polyesters*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2002**; pp 1–40.
167. Okada, M. *Prog. Polym. Sci.* **2002**, *27* (1), 87–133.
168. ten Brink, G.-J.; Arends, I. W. C. E.; Sheldon, R. A. *Chem. Rev.* **2004**, *104* (9), 4105–4124.

169. Scheiner, S.; Szczesniak, M. M. *Prog. Clin. Biol. Res.* **1985**, *172B*, 53–63.
170. Eastmond, D. A.; Rupa, D. S.; Hasegawa, L. S. *Mutat. Res. Toxicol.* **1994**, *322* (1), 9–20.
171. Tokiwa, Y.; Suzuki, T.; Tokiwa, Y.; Suzuki, T. *Nature* **1977**, *270* (5632), 76–78.
172. Chandra, R. *Prog. Polym. Sci.* **1998**, *23* (7), 1273–1335.
173. Jang, H.; Kim, B. S. *Macromol. Res.* **2013**, *21* (4), 370–375.
174. Wee, Y.; Kim, J.; Ryu, H. *Food Technol. Biotechnol.* **2006**, *44* (2), 163–172.
175. Ghaffar, T.; Irshad, M.; Anwar, Z.; Aqil, T.; Zulifqar, Z.; Tariq, A.; Kamran, M.; Ehsan, N.; Mehmood, S. *J. Radiat. Res. Appl. Sci.* **2014**, *7* (2), 222–229.
176. Oh, W.-G.; Kim, B. S. *Macromol. Symp.* **2007**, *249–250* (1), 76–80.
177. Hsieh, W. C.; Wada, Y.; Chang, C. P. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* **2009**, *40* (2), 143–147.
178. Liu, X. C.; Dordick, J. S. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **1999**, *37* (11), 1665–1671.
179. Asadi, E.; Abdouss, M.; Leblanc, R. M.; Ezzati, N.; Wilson, J. N.; Kordestani, D. *Polymer (Guildf)*. **2016**, *97*, 226–237.
180. Thurston, J. H.; Levy, C. A.; Warren, S. K.; Jones, E. M. *J. Neurochem.* **1972**, *19* (7), 1685–1696.
181. Asadi, E.; Abdouss, M.; Leblanc, R. M.; Ezzati, N.; Wilson, J. N.; Azodi-Deilami, S. *RSC Adv.* **2016**, *6* (43), 37308–37318.
182. Xu, L.; Huang, Y.-A.; Zhu, Q.-J.; Ye, C. *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16* (8), 18328–18347.
183. Li, F.; Li, J.; Zhang, S. *Talanta* **2008**, *74* (5), 1247–1255.
184. Wang, J. S.; Peng, R. T.; Yang, J. H.; He, Q. H.; Liu, Y. J. In Proceedings - International Conference on Computer Distributed Control and Intelligent Environmental Monitoring, CDCIEM 2011; IEEE, **2011**; pp 1714–1717.
185. Liu, Y. Q.; Liu, Y. G.; Hu, X. J.; Guo, Y. M. *Trans. Nonferrous Met. Soc. China (English Ed.* **2013**, *23* (10), 3095–3103.
186. Liu, B.; Wang, D.; Li, H.; Xu, Y.; Zhang, L. *Desalination* **2011**, *272* (1–3), 286–292.
187. Nishad, P. A.; Bhaskarapillai, A.; Velmurugan, S.; Narasimhan, S. V. *Carbohydr. Polym.* **2012**, *87* (4), 2690–2696.
188. Guo, T.-Y.; Xia, Y.-Q.; Wang, J.; Song, M.-D.; Zhang, B.-H. *Biomaterials* **2005**, *26* (28), 5737–5745.
189. Kyzas, G. Z.; Lazaridis, N. K.; Bikiaris, D. N. *Carbohydr. Polym.* **2013**, *91* (1), 198–208.
190. Monier, M.; Ayad, D. M.; Wei, Y.; Sarhan, A. A. *Biochem. Eng. J.* **2010**, *51* (3), 140–146.
191. Wang, Y.; Wang, E. L.; Wu, Z. M.; Li, H.; Zhu, Z.; Zhu, X. S.; Dong, Y. *Carbohydr. Polym.* **2014**, *101* (1), 517–523.
192. Guo, T.-Y.; Xia, Y.-Q.; Wang, J.; Song, M.-D.; Zhang, B.-H. *Biomaterials* **2005**, *26* (28), 5737–5745.

193. Liping, W.; Weihua, W.; Qian, L.; Qian, Z.; Yong, W.; Wei, L.; Zhengpu, Z. *Macromol. Symp.* **2010**, *297* (1), 179–187.
194. Monier, M.; El-Sokkary, A. M. A. *Int. J. Biol. Macromol.* **2010**, *47* (2), 207–213.
195. Dan, R.; Wang, Y.; Du, L.; Du, S.; Huang, M.; Yang, S.; Zhang, M. *Analyst* **2013**, *138* (12), 3433–3443.
196. Chen, J. H.; Liu, Q. L.; Zhang, X. H.; Zhang, Q. G. *J. Memb. Sci.* **2007**, *292* (1–2), 125–132.
197. Kanekiyo, Y.; Naganawa, R.; Tao, H. *Chem. Commun.* **2002**, *132* (22), 2698–2699.
198. Kanekiyo, Y.; Naganawa, R.; Tao, H. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2003**, *42* (26), 3014–3016.
199. Tian, D.-T.; Zhou, Y.-C.; Xiong, L.; Lu, F.-T. *Adv. Polym. Technol.* **2015**, 21575.
200. Hui, Y.; Zou, W. In *Frontiers in Spramolecular Organic Chemistry and photochemistry*; Schneider, H.-J., Duerr, H., Eds.; **1993**; p 203.
201. Lay, S.; Ni, X.; Yu, H.; Shen, S. *J. Sep. Sci.* **2016**, *39* (12), 2321–2331.
202. Hu, Q. Da; Tang, G. P.; Chu, P. K. *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47* (7), 2017–2025.
203. Li, Z.; Chen, S.; Gu, Z.; Chen, J.; Wu, J. *Trends Food Sci. Technol.* **2014**, *35* (2), 151–160.
204. Qin, L.; He, X.-W.; Li, W.-Y.; Zhang, Y.-K. *J. Chromatogr. A* **2008**, *1187* (1–2), 94–102.
205. Zhong, N.; Byun, H.-S.; Bittman, R. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42* (10), 1839–1841.
206. Cheng, Y.; Jiang, P.; Lin, S.; Li, Y.; Dong, X. *Sensors Actuators B Chem.* **2014**, *193*, 838–843.
207. Davidson, L.; Hayes, W. *Curr. Org. Chem.* **2002**, *6* (3), 265–281.
208. Zhao, K. K.; Zhang, W.; Zhang, H. D.; Du, H.; Li, Q.; Wang, S. Y.; Wang, Y. *Asian J. Chem.* **2015**, *27* (4), 1435–1438.
209. Zhang, Y.; Li, Y.; Hu, Y.; Li, G.; Chen, Y. *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217* (47), 7337–7344.
210. Zhang, W.; Qin, L.; Chen, R. R.; He, X. W.; Li, W. Y.; Zhang, Y. K. *Appl. Surf. Sci.* **2010**, *256* (9), 3000–3005.
211. Surikumar, H.; Mohamad, S.; Sarih, N. M. *Int. J. Mol. Sci.* **2014**, *15* (4), 6111–6136.
212. Xu, Z. F.; Wen, G.; Kuang, D. Z.; Zhang, F. X.; Tang, S. P. *J. Environ. Sci. Heal. Part B -- Pestic. Food Contam. Agric. Wastes* **2013**, *48* (5), 336–343.
213. Yongfeng, K.; Wuping, D.; Yan, L.; Junxia, K.; Jing, X. *Carbohydr. Polym.* **2012**, *88* (2), 459–464.
214. Tang, W.; Du, W.; Guo, P.; Wu, N.; Du, K.; Xu, C.; Luo, Z.; Chang, R.; Zeng, A.; Jing, W.; Chang, C.; Li, J.; Fu, Q. *J. Chromatogr. Sci.* **2016**.
215. Liu, X.-Y.; Fang, H.-X.; Yu, L.-P. *Talanta* **2013**, *116*, 283–289.
216. He, J.; Liu, A.; Paul Chen, J. *J. Colloid Interface Sci.* **2015**, *439*, 162–169.
217. Wu, Y.; Meng, M.; Liu, X.; Li, C.; Zhang, M.; Ji, Y.; Sun, F.; He, Z.; Yan, Y. *Sep. Purif. Technol.* **2014**, *131*, 117–125.
218. Shi, C.; Liu, X.; Song, L.; Qiao, X.; Xu, Z. *Food Anal. Methods* **2015**, *8* (10), 2496–2503.

219. Donato, L.; Tasselli, F.; De Luca, G.; Garcia Del Blanco, S.; Drioli, E. *Sep. Purif. Technol.* **2013**, *116*, 184–191.
220. Yin, D.; Ulbricht, M. *Biomacromolecules* **2013**, *14* (12), 4489–4496.
221. Zhao, K.; Lin, B.; Cui, W.; Feng, L.; Chen, T.; Wei, J. *Talanta* **2014**, *121*, 256–262.
222. Yang, M.; Liao, L.; Zhang, G.; Xiao, X.; Lin, Y.; Nie, C. *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, *405* (23), 7545–7551.
223. Zhou, Z.; He, L.; Mao, Y.; Chai, W.; Ren, Z. *Chem. Eng. J.* **2016** (*in press*).
224. Faizal, C. K. M.; Kobayashi, T. *Polym. Eng. Sci.* **2008**, *48* (6), 1085–1093.
225. Rosy, Chasta, H.; Goyal, R. N. *Talanta* **2014**, *125*, 167–173.
226. Dima, Ş. O.; Dobre, T.; Stoica-Guzun, A.; Oancea, F.; Jinga, S. I.; Nicolae, C. A. *Macromol. Symp.* **2016**, *359* (1), 124–128.
227. Kobayashi, T.; Wang, H. Y.; Fujii, N. *Chem. Lett.* **1995**, *24* (10), 927–928.
228. Screenivasulu Reddy, P.; Kobayashi, T.; Abe, M.; Fujii, N. *Eur. Polym. J.* **2002**, *38* (3), 521–529.
229. Malaisamy, R.; Ulbricht, M. *Sep. Purif. Technol.* **2004**, *39* (3), 211–219.
230. Ulbricht, M.; Malaisamy, R. *J. Mater. Chem.* **2005**, *15* (14), 1487–1497.
231. Liu, Q.; Zhao, Y.; Pan, J.; Van Der Bruggen, B.; Shen, J. *Sep. Purif. Technol.* **2016**, *164*, 70–80.
232. Huang, C. Y.; Tsai, T. C.; Thomas, J. L.; Lee, M. H.; Liu, B. Da; Lin, H. Y. *Biosens. Bioelectron.* **2009**, *24* (8), 2611–2617.
233. Lin, Y.; Tang, S.; Mao, X.; Bao, L. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A* **2008**, *85* (3), 573–581.
234. Ceolin, G.; Navarro-Villoslada, F.; Moreno-Bondi, M. C.; Horvai, G.; Horvath, V. *J. Comb. Chem.* **2009**, *11* (4), 645–652.
235. Sueyoshi, Y.; Fukushima, C.; Yoshikawa, M. *J. Memb. Sci.* **2010**, *357* (1–2), 90–97.
236. Trotta, F.; Biasizzo, M.; Caldera, F. *Membranes (Basel)*. **2012**, *2* (3), 440–477.
237. Tamahkar, E.; Kutsal, T.; Denizli, A. *Process Biochem.* **2015**, *50* (12), 2289–2297.
238. Dima, Ş.-O.; Dobre, T.; Stoica-Guzun, A.; Oancea, F.; Jinga, S.-I.; Nicolae, C.-A. *Macromol. Symp.* **2016**, *359* (1), 124–128.
239. Silvestri, D.; Barbani, N.; Cristallini, C.; Giusti, P.; Ciardelli, G. *J. Memb. Sci.* **2006**, *282* (1–2), 284–295.
240. Monier, M.; Kenawy, I. M.; Hashem, M. A. *Carbohydr. Polym.* **2014**, *106*, 49–59.
241. Cheng, Y.; Dong, X. *Anal. Methods* **2016**, *8* (29), 5838–5842.
242. Cutivet, A. Matériaux biomimétiques pour la reconnaissance et l'inhibition d'enzymes obtenus par impression moléculaire, Thèse doctorale, Université de Technologie de Compiègne, **2008**.
243. Yang, L.; Li, J.; Li, M.; Gu, Z. *Polymers (Basel)*. **2016**, *8* (4), 151.

- 244.** Reppe, W. DRP584840, 714490, **1930**.
- 245.** Reppe, W., Hecht Ger715268, US 2157347, **1936**.
- 246.** Treadway, R. H.; Yanovsky, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1945**, *67* (6), 1038–1039.
- 247.** Haworth, W. N.; Gregory, H.; Wiggins, L. F. *J. Chem. Soc.* **1946**, No. 0, 488.
- 248.** Kimura, S.; Imoto, M. *Die Makromol. Chemie* **1961**, *50* (1), 155–160.
- 249.** Bird, T. P.; Black, W. A. P.; Colquhoun, J. A.; Dewar, E. T.; Rutherford, D. *J. Chem. Soc. C Org.* **1966**, No. 0, 1913.
- 250.** Black, W. A. P.; Colquhoun, J. A.; Dewar, E. T. *Die Makromol. Chemie* **1968**, *117* (1), 210–214.
- 251.** Mikhant'ev, B. I.; Lapenko, V. L.; Slivkin, A. I. *Vysokomol. Soedin. Seriya B Kratk. Soobshcheniya* **1970**, *12* (11), 802.
- 252.** Abeylath, S. C.; Turos, E. *Carbohydr. Polym.* **2007**, *70* (1), 32–37.
- 253.** Seymour, L. W.; Duncan, R.; Chytrý, V.; Strohmalm, J.; Ulbrich, K.; Kopeček, J. *J. Control. Release* **1991**, *16* (3), 255–262.
- 254.** Ting, S. R. S.; Min, E. H.; Escalé, P.; Save, M.; Billon, L.; Stenzel, M. H. *Macromolecules* **2009**, *42* (24), 9422–9434.
- 255.** Wang, T.; Tang, X.; Han, J.; Ding, Y.; Guo, W.; Pei, M. *Macromol. Biosci.* **2016**, *16* (5), 774–783.
- 256.** Bourhim, A.; Czernecki, S.; Krausz, P. *J. Carbohydr. Chem.* **1993**, *12* (7), 853–863.
- 257.** Carlson, W. B.; Phelan, G. D. WO2014/018020A1, **2014**.
- 258.** Zhao L.; Liu, D., X. W. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2007**, *82*, 1115–1121.
- 259.** Barros, M. T.; Petrova, K. T.; Singh, R. P. *Int. J. Mol. Sci.* **2010**, *11* (4), 1792–1807.
- 260.** Bevington, J. C.; Harris, D. O. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Lett.* **1967**, *5* (9), 799–802.
- 261.** Mitsunobu, O.; Yamada, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1967**, *40* (10), 2380–2382.
- 262.** But, T. Y. S.; Toy, P. H. *Chem. - An Asian J.* **2007**, *2* (11), 1340–1355.
- 263.** Beraud, P.; Bourhim, A.; Czernecki, S.; Krausz, P. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30* (3), 325–326.
- 264.** Barros, M. T.; Petrova, K. T.; Correia-da-Silva, P.; Potewar, T. M. *Green Chem.* **2011**, *13* (7), 1897.
- 265.** Swamy, K. C. K.; Kumar, N. N. B.; Balaraman, E.; Kumar, K. V. P. *Chem. Rev.* **2009**, *109* (6), 2551–2651.
- 266.** Barros, M. T.; Petrova, K. T.; Singh, R. P. *Eur. Polym. J.* **2010**, *46* (5), 1151–1157.
- 267.** Potier, P.; Bouchu, A.; Gagnaire, J.; Queneau, Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12* (17), 2409–2419.
- 268.** Aimetti, A.; O'shea, T.; Langer, R. S.; Zhang, X. WO2014160377, **2014**.
- 269.** Barros, M. T.; Petrova, K. T.; Singh, R. P. *Int. J. Mol. Sci.* **2010**, *11* (4), 1792–1807.
- 270.** Gebbie, S. J.; Gosney, I.; Harrison, P. R.; Lacan, I. M. F.; Sanderson, W. R.; Sankey, J. P. *Carbohydr. Res.* **1998**, *308* (3–4), 345–348.

271. Périon, R.; Lemée, L.; Ferrières, V.; Duval, R.; Plusquellec, D. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338* (24), 2779–2792.
272. Sun, B.; Pukin, A. V.; Visser, G. M.; Zuilhof, H. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47* (41), 7371–7374.
273. Gouin, S. G.; Kovensky, J. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48* (16), 2875–2879.
274. Cagnoni, A. Ligandos Multivalentes Con Residuos De Tioazúcares. Síntesis Y Actividad Biológica, thèse doctorale, Université de Picardie Jules Vernes, Université de Buenos Aires, **2013**.
275. Cagnoni, A. J.; Varela, O.; Uhrig, M. L.; Kovensky, J. *European J. Org. Chem.* **2013**, *2013* (5), 972–983.
276. Agustí, R.; Cano, M. E.; Cagnoni, A. J.; Kovensky, J.; de Lederkremer, R. M.; Uhrig, M. L. *Glycoconj. J.* **2016**, *33* (5), 809–818.
277. Patel, A.; Poller, R. C. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1988**, *107* (3), 182–184.
278. Walczyna, R.; Smiatacz, Z.; Ciunik, Z. *J. Carbohydr. Chem.* **1993**, *12* (8), 1161–1171.
279. Paterson, S. M.; Clark, J.; Stubbs, K. A.; Chirila, T. V.; Baker, M. V. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2011**, *49* (20), 4312–4315.
280. Zhou, C.-H.; Wang, Y. *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19* (2), 239–280.
281. Allen, J. D.; Thoma, J. A. *Biochemistry* **1978**, *17* (12), 2345–2350.
282. Kobayashi, K.; Sumitomo, H.; Ina, Y. *Polym. J.* **1985**, *17* (4), 567–575.
283. Singh, R. S.; Saini, G. K.; Kennedy, J. F. *Carbohydr. Polym.* **2010**, *80* (2), 402–408.
284. Tanaka, T.; Nagai, H.; Noguchi, M.; Kobayashi, A.; Shoda, S.-I. *Chem. Commun.* **2009**, No. 23, 3378.
285. Hanessian, S. *Carbohydr. Res.* **1966**, *2* (1), 86–88.
286. Hanessian, S.; Plessas, N. R. *J. Org. Chem.* **1969**, *34* (4), 1045–1053.
287. Hanessian, S.; Plessas, N. R. *J. Org. Chem.* **1969**, *34* (4), 1053–1058.
288. Failla, D. L.; Hullar, T. L.; Siskin, S. B. *Chem. Commun.* **1966**, No. 20, 716.
289. Bräse, S.; Gil, C.; Knepper, K.; Zimmermann, V. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2005**, *44* (33), 5188–5240.
290. Crich, D.; Yao, Q.; Bowers, A. A. *Carbohydr. Res.* **2006**, *341* (10), 1748–1752.
291. Lesur, D.; Gassama, A.; Moreau, V.; Pilard, S.; Djedaïni-Pilard, F. *Carbohydr. Res.* **2005**, *340* (6), 1225–1231.
292. Boger, J.; Corcoran, R. J.; Lehn, J.-M. *Helv. Chim. Acta* **1978**, *61* (6), 2190–2218.
293. Lafont, D.; Boullanger, P.; Carvalho, F.; Vottero, P. *Carbohydr. Res.* **1997**, *297* (2), 117–126.
294. Zhu, W.; Gumina, G.; Schinazi, R. F.; Chu, C. K. *Tetrahedron* **2003**, *59* (34), 6423–6431.

295. Aljarah, M.; Couturier, S.; Mathé, C.; Périgaud, C. *Bioorganic Med. Chem.* **2008**, *16* (15), 7436–7442.
296. Byramova, N.; Ovchinnikov, M. V.; Backinowsky, L. V.; Kochetkov, N. K. *Carbohydr. Res.* **1983**, *124* (1), C8–C11.
297. Kunesch, N.; Miet, C.; Poisson, J. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28* (31), 3569–3572.
298. Hu, J.-J.; Liu, L.-H.; Li, Z.-Y.; Zhuo, R.-X.; Zhang, X.-Z. *J. Mater. Chem. B* **2016**, *4* (11), 1932–1940.
299. Hnedzko, D.; McGee, D. W.; Rozners, E. *Bioorganic Med. Chem.* **2016**, *24* (18), 4199–4205.
300. Engineer, C.; Parikh, J.; Raval, A. *Trends Biomater. Artif. Organs* **2011**, *25* (2), 79–85.
301. Azevedo, H.; Reis, R. In *Biodegradable Systems in Tissue Engineering and Regenerative Medicine*; CRC Press, **2004**; pp 177–202.
302. Nordtveit, R. J.; Vårum, K. M.; Smidsrød, O. *Carbohydr. Polym.* **1996**, *29* (2), 163–167.
303. Tomihata, K.; Ikada, Y. *Biomaterials* **1997**, *18* (7), 567–575.
304. Mi, F.-L.; Tan, Y.-C.; Liang, H.-C.; Huang, R.-N.; Sung, H.-W. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2001**, *12* (8), 835–850.
305. Labat, J.; Baumann, F.; Courtois, J.-É. *Carbohydr. Res.* **1973**, *26* (2), 341–349.
306. Mori, H.; Lee, J. H.; Okuyama, M.; Nishimoto, M.; Ohguchi, M.; Kim, D.; Kimura, A.; Chiba, S. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2009**, *73* (11), 2466–2473.
307. Guilloux, E. R.; Defaye, J.; Bell, R. H.; Horton, D. *Carbohydr. Res.* **1971**, *20* (2), 421–426.
308. Belocopitow, E.; Marechal, L. R.; Gros, E. O. *Carbohydr. Res.* **1971**, *19* (2), 268–271.
309. Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S. G. *Chimie organique*; De Boeck, **2013**.
310. Withers, S. G. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271* (12), 6889–6894.
311. Yamamoto, K.; Nakayama, A.; Yamamoto, Y.; Tabata, S. *Eur. J. Biochem.* **2004**, *271* (16), 3414–3420.
312. Smeds, K. A.; Grinstaff, M. W. *J. Biomed. Mater. Res.* **2001**, *54* (1), 115–121.
313. Bian, L.; Hou, C.; Tous, E.; Rai, R.; Mauck, R. L.; Burdick, J. A. *Biomaterials* **2013**, *34* (2), 413–421.
314. Puperi, D. S.; O’Connell, R. W.; Punske, Z. E.; Wu, Y.; West, J. L.; Grande-Allen, K. J. *Biomacromolecules* **2016**, *17* (5), 1766–1775.
315. Zhu, M.; Feng, Q.; Sun, Y.; Li, G.; Bian, L. *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.* **2016**, 1–9.
316. West, J. L.; Hubbell, J. A. *Macromolecules* **1999**, *32* (1), 241–244.
317. Lee, S. H.; Miller, J. S.; Moon, J. J.; West, J. L. *Biotechnol. Prog.* **2005**, *21* (6), 1736–1741.
318. Wade, R. J.; Bassin, E. J.; Rodell, C. B.; Burdick, J. a. *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 6639.
319. Birch, G.; Richardson, A. C. *Carbohydr. Res.* **1968**, *8* (4), 411–415.

- 320.** Srinivasachari, S.; Liu, Y.; Zhang, G.; Prevette, L.; Reineke, T. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (25), 8176–8184.
- 321.** Kurita, K.; Masuda, N.; Aibe, S.; Murakami, K.; Ishii, S.; Nishimura, S.-I. *Macromolecules* **1994**, *27* (26), 7544–7549.
- 322.** Rose, J. D.; Maddry, J. a.; Comber, R. N.; Suling, W. J.; Wilson, L. N.; Reynolds, R. C. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337* (2), 105–120
- 323.** Cucinotta, V.; Giuffrida, A.; Maccarrone, G.; Messina, M.; Puglisi, A.; Vecchio, G. *Electrophoresis* **2007**, *28* (15), 2580–2588.
- 324.** Inouye, Y.; Onodera, K.; Karasawa, I.; Nishisawa, Y. *J. Agric. Chem. Soc. Japan* **1952**, *26* (12), 631–634.
- 325.** Schoch, T. J.; Wilson, E. J.; Hudson, C. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1942**, *64* (12), 2871–2872.
- 326.** Cheetham, N. W. H.; Sirimanne, P. *Carbohydr. Res.* **1981**, *96* (1), 126–128.
- 327.** Richard J. Corcoran, J.-M. L. J. B. *Helv. Chim. Acta* **1978**, *61* (6), 2190–2218.
- 328.** Yuan, X.; Cheng, S.; Shi, Y.; Xue, W. *Synthesis (Stuttg)*. **2014**, *46* (3), 331–335.

Les polymères à empreintes moléculaires (MIPs) sont des matériaux synthétiques dans lesquels des sites récepteurs spécifiques d'une molécule cible ont été créés. En raison de leur meilleure stabilité chimique et mécanique ainsi que leur faible coût de production par rapport aux systèmes de reconnaissance naturels, les MIPs sont de bons matériaux alternatifs dans des domaines tels que les sciences séparatives, les biocapteurs, les tests immunologiques, la synthèse et la catalyse. Cependant, l'utilisation de ces matériaux dans les systèmes de libération contrôlée de principes actifs pour des applications cliniques reste encore très limitée à cause de la non-dégradation et l'incompatibilité de leur structure avec l'organisme humain. Ces limitations sont dues principalement à l'utilisation à l'heure actuelle de monomères et d'agents réticulants issus de la pétrochimie difficilement biodégradables. Dans le cadre de cette thèse, nous nous sommes intéressés à l'étude de monomères fonctionnels et agents réticulants à base de sucres pour l'élaboration de MIPs biodégradables par voie enzymatique et biocompatibles. Nous avons étudié la synthèse de di-, tri-, et oligosaccharides substitués sélectivement par des fonctions polymérisables liées par des esters, des amides et des cycles triazole. Lors des études de dégradation enzymatique de ces molécules, nous avons observés des coupures de liaisons glycosidiques en plus de l'hydrolyse de certaines fonctions. Enfin, dans des études préliminaires de polymérisation, nous avons pu démontrer que nos composés permettent de synthétiser des polymères hydrophiles et sensibles aux dégradations enzymatiques.

Mots-clés : Polymères à empreintes moléculaires, oligosaccharides, dégradation enzymatique, libération contrôlée de principes actifs, substitution sélective

Molecularly imprinted polymers (MIPs) are synthetic biomimetic materials, capable of recognizing and specifically binding a target molecule in a similar way to the natural receptors (antibodies, enzymes, hormone receptors). Considering their screening ability, their mechanical and chemical stability and their weak production cost compared to conventional biomolecules, these materials are used in separative, bioreceptors, synthesis and catalysis fields. However, the use of these materials in controlled drug delivery for clinical applications is still limited due to their lack of biodegradation and biocompatibility. The main drawback lies in the use of functional monomers and cross-linking agents based on petrochemicals products. In this work, we have studied the use of functional monomers and cross-linking agents based on sugars for the development of biodegradable and biocompatible MIPs. These molecules derived from biomass resources are potentially cleavable by enzymes. Firstly, our study focused on selective modification in order to graft polymerisable functions through ester, amide and triazole groups of derivatives based on di-, tri-, and oligosaccharides. Under enzymatic conditions, we observed and verified the cleavage of glycosidic bonds. We finally began a preliminary study of polymerization with these new molecules. Our first results showed that our compounds allowed obtaining hydrophilic polymers, which are degradable under enzymatic conditions.

Keywords: Molecularly imprinted polymers, oligosaccharides, enzymatic degradation, controlled drug delivery, selective substitution