



UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

EDSC
École Doctorale des
Sciences Chimiques

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

Institut Charles Sadron

THÈSE présentée par :

Benoit PETIT

soutenue le : **25 septembre 2019**

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

Spécialité : Chimie des polymères

**Synthèse de polycarbamates à
séquences définies pour le stockage
d'information**

THÈSE dirigée par :

M. LUTZ Jean-François

Directeur de Recherche, ICS, Strasbourg

RAPPORTEURS :

M. THOMAS Christophe
M. FONTAINE Laurent

Professeur, IRCP, Paris
Professeur, IMMM, Le Mans

AUTRES MEMBRES DU JURY :

Mme BOULMEDAIS Fouzia

Directeur de Recherche, ICS, Strasbourg

Remerciements

Je tiens à remercier M. Jean-François Lutz pour m'avoir encadré tout au long de cette thèse et pour m'avoir accordé la confiance nécessaire à la progression de tout projet de recherche.

J'exprime ma gratitude à M. Abdelaziz « grand maître » Al Ouahabi pour sa disponibilité sans pareil, pour avoir répondu quotidiennement à mes questions concernant la chimie, pour son ouverture d'esprit et pour les centaines de cafés offerts.

Un grand merci à M. Bernard Lotz pour ses nombreux conseils et explications patientes concernant la cristallographie et la microscopie électronique, pour la réalisation des clichés de diffraction et pour m'avoir aidé à les interpréter.

J'adresse tous mes remerciements à Mme Fouzia Boulmedais, M. Christophe Thomas et M. Laurent Fontaine, d'avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie Mme Laurence Charles, Professeur à l'Université d'Aix-Marseille, et toute son équipe, plus particulièrement Salomé Poyer, Jean-Arthur Amalian et Christophe Chendo, pour les analyses de spectrométrie de masse.

Je tiens également à remercier d'autres membres de l'Institut Charles Sadron, notamment Mélanie Legros, Catherine Foussat et Huseyin Dogan, pour les analyses SEC et ATG, Christophe Contal pour les analyses AFM, Philippe Mesini et Jean-Philippe Lamps pour l'aide logistique ainsi que tous les membres anciens et actuels de l'équipe de Chimie Macromoléculaire de Précision, plus particulièrement Laurence Oswald pour sa disponibilité, Evgeniia Konishcheva, Denise Karamessini, Ufuk Gunay et Tathagata « Tito » Mondal pour nos discussions concernant les polyuréthanes.

Je tiens aussi à remercier chaleureusement ma Laure Boubou, mes parents, ainsi que Chloé Laure, Elliot Christ, Gianni Cavallo, Guillaume Fiers, Kevin Morby, Niklas König, Olivier Duverger, Paul Baxter et Philippe Chaignon qui n'ont pas participé aux travaux de recherche mais sans qui, pour des raisons diverses, les quatre années passées à travailler sur cette thèse auraient été bien différentes.

Table des matières

Liste d'abréviations	i
Liste des Figures	iv
Liste des Schémas	viii
Liste des Tableaux	ix
Introduction générale	1
Chapitre I: Introduction aux polymères à séquences définies.....	5
I. Introduction.....	7
II. Polymères uniformes biologiques.....	8
III. Synthèses de polymères à séquences définies	12
1) Polymérisations assistées par matrices.....	12
2) Polymérisations multi-étapes.....	18
IV. Auto-assemblage et propriétés des polymères à séquences définies	31
1) Influence de la séquence sur la structure secondaire.....	32
2) Foldamères	33
3) Influence de la séquence sur les propriétés biologiques	34
4) Stockage de données.....	36
V. Séquençage de polymères à séquences définies	42
1) Méthodes chimiques.....	42
2) Nanopores.....	44
3) RMN bidimensionnelle.....	45
4) Spectrométrie de masse.....	46
Chapitre II: Synthèse de polycarbamates à séquences définies	51
I. Introduction.....	53
II. Résultats et discussion.....	57
1) Modification de la résine.....	57

2)	Synthèse des monomères chiraux	59
3)	Synthèse des polycarbamates	59
4)	Analyses.....	63
5)	Résistance thermique.....	66
6)	Séquençage par MS/MS	67
III.	Conclusion	74
IV.	Procédures expérimentales	75
1)	Synthèse du bras espaceur clivable	75
2)	Synthèse et analyse des monomères chiraux	77
3)	Procédure générale de modification de la résine.....	79
4)	Procédure générale de la synthèse optimisée des oligocarbamates	80
5)	MS et MS/MS de composés décrits dans le Chapitre II.....	81
	Chapitre III: Dépolymérisation séquentielle de polycarbamates	83
I.	Introduction.....	85
II.	Résultats et discussions	89
1)	Première stratégie de dépolymérisation	90
2)	Seconde stratégie de dépolymérisation.....	91
III.	Conclusion	98
IV.	Procédures expérimentales	99
1)	Obtention des molécules modèles.....	99
2)	Etudes des conditions réactionnelles	105
	Chapitre IV: Etude cristallographique d'oligocarbamates numériques.....	111
I.	Introduction.....	113
II.	Résultats et discussion.....	117
1)	Sélection des oligomères.	117
2)	Sélection des cristaux.....	118

3) Analyse des clichés de diffraction.....	119
4) Cristallisations conjointes.	126
III. Conclusion	130
IV. Procédures expérimentales	131
1) Préparation des échantillons	131
2) Clichés de diffractions	132
3) Distances dans l'espace réciproque	133
Conclusion générale.....	135
Matériel et Méthodes	139
1) Produits utilisés	139
2) Méthodes d'analyses.....	140
Références	143
Liste des publications	148

Liste d'abréviations

A

A: adénine

aaRS: aminoacyl-ARNt synthétase

ACN: acétonitrile

AcOEt: acétate d'éthyle

ADN: acide désoxyribonucléique

AFM: microscopie à force atomique

A_H: accepteur de protons

APTS: acide para-toluènesulfonique

ARN: acide ribonucléique

ARNm: ARN messager

ARNt: ARN de transfert

ATG: analyse thermogravimétrique

B

bp: paire de bases

BTBC: carbonate de 1,1-bis(6-trifluoromethyl-benzotriazolyle)

C

C: cytosine

CDCl₃: chloroforme deutéré

CDI: carbonyldiimidazole

CES: chromatogramme d'exclusion stérique

Cu: courant continu

CuAAC: couplage azoture-alcyne catalysé par le cuivre

Cv: courant alternatif

D

DCC: N,N'-dicyclohexylcarbodiimide

DCM: dichlorométhane

D_H: donneur de protons

DMAP: 4-diméthylaminopyridine

DMF: N,N-diméthylformamide

DMSO: diméthylsulfoxyde

DMT: 4,4'-diméthoxytrityle

DP: degré de polymérisation

DPC: carbonate de di-2-pyridyle

DSC: carbonate de N,N'-disuccinimidyle

Δm/z: différence de m/z entre deux fragments d'une même série (en MS/MS)

E

ESI: ionisation par électronébulisation

EtOH: éthanol

G

G: guanine

H

H^α: proton porté par le carbone en α d'une fonction amide

HCl: acide chlorhydrique

H^N: proton porté par l'azote d'une fonction amide

HRMS: spectrométrie de masse haute résolution

L

LAH: hydrure de lithium et d'aluminium

M

MALDI: désorption-ionisation laser assistée par matrice

MeOH: méthanol

MS: spectrométrie de masse

MS/MS: spectrométrie de masse en tandem

MsCl: chlorure de méthanesulfonyle

(+)MTPA: acide de Mosher de configuration R

m/z: rapport masse sur charge

N

NaH: hydrure de sodium

NaOH: hydroxyde de sodium

NGS: séquençage de nouvelle génération

NHS: N-hydroxysuccinimide

NOESY: effet Overhauser nucléaire

nt: nucléotide

P

PEG: polyéthylène glycol

PNPCOCl: chloroformiate de para-nitrophényle

PPh₃: triphénylphosphine

R

RMN: résonance magnétique nucléaire

S

SPE: extraction phase solide

T

T: thymine

t.a.: température ambiante

TCA: acide trichloroacétique

TEA: triéthylamine

TFA: acide trifluoroacétique

THF: tétrahydrofurane

TOCSY: spectroscopie à corrélation totale

TOF: analyseur temps de vol

U

U: uracile

X

XNA: acide xénonucléique

Liste des Figures

Figure 1: Résumé graphique de la recherche menée dans cette thèse.....	2
Figure 2: Formation de paires de bases (gauche) et mécanisme schématique de la réPLICATION (droite).....	9
Figure 3: Mécanisme schématique de la traduction.....	11
Figure 4: Code génétique utilisé par l'être humain (gauche) et structure et abréviations des 20 acides aminés de ce code (droite).....	12
Figure 5: Méthode d'obtention d'une protéine contenant un acide aminé non-naturel (haut gauche), utilisation d'un ribozyme pour la synthèse de polyesters uniformes (bas gauche) et modification du code génétique pour la synthèse de protéines non-naturelles (droite)	14
Figure 6: Ligature chimique d'un brin d'ADN de domaines complémentaires.....	15
Figure 7: Synthèse non-enzymatique assistée par matrice d'un polymère abiotique.....	16
Figure 8: Synthèse d'un polymère à séquence définie utilisant la complémentarité des séquences d'ADN.....	17
Figure 9: Représentation schématique de la méthode de synthèse sur support solide dans un tube SPE avec une stratégie [AB] + [AB].....	20
Figure 10: Structures de complexes de séquences complémentaires (gauche) et non-complémentaires (droite) de donneurs et accepteurs de protons.	33
Figure 11: Peptide naturel Tat (haut) et oligourée analogue de squelette (bas).....	35
Figure 12: Structure d'un oligo(alkoxyamine-amide) numérique encodant un octet d'information.....	36
Figure 13: Principe d'encodage d'un message dans un polymère.	37
Figure 14: Structure d'un poly(phosphodiester) encodant le mot « Macromolecule » en langage ASCII.	40
Figure 15: Système abiotique codant pour 13.7 bits par unité répétitive.	40
Figure 16: Représentation schématique du séquençage de l'ADN par nanopore....	45
Figure 17: Spectres théoriquement obtenus par TOCSY (gauche) et NOESY (droite) pour la détermination de la séquence du peptide Tyr-Thr-Lys-Arg-Cys.	46
Figure 18: Représentation schématique d'une expérience ESI-quadrupole/TOF. ...	48

Figure 19: Représentation schématique de la fragmentation par MS/MS d'un peptide de séquence Tyr-Thr-Lys-Arg-Cys (gauche) permettant la reconstitution d'un spectre MS/MS du même peptide (droite).	48
Figure 20: Fragmentation du peptide naturel 406-423 de la lactoferrine (haut) et de son isomère non-naturel (bas).	49
Figure 21: Stratégie de formation de carbamates (gauche) et sous-monomères envisagés (droite).....	54
Figure 22: Différents monomères envisagés (gauche) et structure de l'oligocarbamate P1 encodant l'information binaire 0001 dans l'alphabet C4 _R /C4 _S (droite).	56
Figure 23: Hypothèse pour la fragmentation par MS/MS des oligomères à tacticité contrôlée isotactiques α -R-S-R-S et syndiotactiques α -S-S-S-S.....	57
Figure 24: Spectres MS en mode négatif des octamères P6 (gauche) et P7 (droite).	62
Figure 25: CES du tétramère P8 (rouge), du pentamère P9 (brun) et de l'hexamère P10 (bleu).....	64
Figure 26: Spectres MS en mode négatif des octamères P11 (gauche) et P12 (droite).	65
Figure 27: Spectre RMN ¹ H de l'hexamère P13.....	65
Figure 28: Spectre RMN ¹³ C de l'hexamère P13.....	66
Figure 29: Courbe ATG obtenue pour le tétramère P8.....	67
Figure 30: Spectres MS (gauche) et MS/MS (droite) en mode négatif de l'hexamère P13.....	68
Figure 31: Spectres MS (gauche) et MS/MS (droite) en mode négatif de l'oligomère P7.....	69
Figure 32: Spectre MS/MS en mode négatif du polymère P14.	70
Figure 33: Spectre MS/MS en mode négatif de l'oligomère P12.	70
Figure 34: Spectres MS (gauche) et MS/MS (droite) en mode négatif de l'oligomère P15.....	71
Figure 35: Intensités relatives des fragments obtenus pour les oligomères P16-23 d'alphabet C2 _R /C2 _S	72
Figure 36: Spectre ¹ H RMN du bras espaceur clivable fraîchement synthétisé (gauche) et après une semaine sous argon (droite).....	77

Figure 37: Structures chimiques et projections axiales préférentielles des molécules V (rouge) et VI (noir) (haut), ^{19}F RMN (gauche) et ^1H RMN (droite).....	79
Figure 38: Spectre MS en mode négatif de l'oligomère P14.	81
Figure 39: Spectres MS/MS en mode négatif des tétramères d'alphabet C _{2R} /C _{2S} . ..	82
Figure 40: Première (gauche) et seconde (droite) stratégies de dépolymérisation séquentielle d'oligocarbamates.	86
Figure 41: Approche utilisée pour concevoir une stratégie de dépolymérisation séquentielle de polyuréthanes.....	88
Figure 42: Spectre ^1H RMN de D avant (haut) et après réduction par LAH (bas). ...	92
Figure 43: Spectre ^1H RMN de la molécule E avant (haut) et après traitement par l'hydrure de sodium (bas).....	94
Figure 44: Spectres ^1H RMN de D (bleu), de G (rouge) et du produit de la réduction de ces deux composés par LAH.	95
Figure 45: Spectre ^1H RMN correspondant à la réduction du carbamate D par LAH.	108
.....	
Figure 46: Spectre ^1H RMN correspondant à la réduction du mélange de carbamates carbamate D et G par LAH.....	110
Figure 47: Spectre ^1H RMN correspondant à la réduction du carbamate F par LAH.	110
.....	
Figure 48: Organisations antiparallèles (a, b) et parallèles (c) permises par la formation de liaisons hydrogène de feuillets constitués de polyuréthanes séparés par un nombre pair (a) et impair (b, c) de carbones aliphatiques.	115
Figure 49: Evolution de la distance interfeuillet b dans des cristaux de copolymères d'alanine et de glycine en fonction de la fraction molaire d'alanine et de glycine dans le copolymère.	116
Figure 50: Cliché de diffraction (gauche) et maille correspondante (droite) obtenus pour le cristal de l'oligomère $\alpha 111111$	120
Figure 51: Clichés de diffractions obtenus pour les cristaux d'oligomères de séquence $\alpha 111111$ (gauche) et $\alpha 000000$ (droite).	120
Figure 52: Distance entre les feuillets b en fonction de la séquence de l'oligomère contenu dans le cristal.....	123

Figure 53: a. Différents polymorphismes permis par l'arrangement antiparallèle des chaines dans l'oligomère α 001000. b. Oligomères α 010000, α 010010 et α 010101 représentés dans la configuration la plus probable.	124
Figure 54: Image topographique de lamelles de l'oligomère α 010000 (haut gauche), tracé AFM obtenu (bas gauche) et modèle proposé pour l'empilement des feuillets (droite).	126
Figure 55: Cliché de diffraction obtenu pour la cristallisation conjointe des oligomères α 111111 et α 010101 (centre) et clichés des cristaux d'oligomères de α 010101 (gauche) et α 111111 (droite).	127
Figure 56: Cliché de diffraction obtenu pour la cristallisation conjointe des oligomères α 111111 et α 000000 (centre) et clichés des cristaux d'oligomères de α 000000 (gauche) et α 111111 (droite).	128
Figure 57: Cliché de diffraction obtenu pour la cristallisation conjointe des oligomères α 111111, α 111110, α 111000, α 101010, α 000001 et α 000000 (centre) et clichés des cristaux d'oligomères de α 000000 (gauche) et α 111111 (droite).	129
Figure 58: Clichés de diffractions obtenus pour les oligomères (de gauche à droite et de haut en bas) α 000000, α 000001, α 010000, α 001000, α 010010, α 010101, α 011111, α 111110 et α 111111.	132

Liste des Schémas

Schéma 1: Synthèse d'oligocarbamates <i>via</i> une stratégie [AB] + [AB].	24
Schéma 2: Synthèse d'oligo(amide-triazole)s <i>via</i> une stratégie [AB] + [CD].	27
Schéma 3: Synthèse de polycarboxamides <i>via</i> l'utilisation d'une réaction multicomposants.	28
Schéma 4: Synthèse d'oligocarbamates <i>via</i> une approche sous-monomère.	30
Schéma 5: Dégradation de Bergmann.	43
Schéma 6: Dégradation d'Edman.	44
Schéma 7: Stratégie itérative sur support solide envisagée pour la synthèse de polycarbamates à séquences définies.	55
Schéma 8: Synthèse du bras espaceur clivable et modification de la résine pour la synthèse d'oligocarbamates à séquences définies.	58
Schéma 9: Mécanismes simultanés menant aux fragments de la série a_n^- en MS/MS en mode négatif.	73
Schéma 10: Synthèse des différentes molécules décrites dans le Chapitre III.	89

Liste des Tableaux

Tableau 1: Conditions étudiées pour l'étape 1 et CES des tétramères P1-5.....	60
Tableau 2: Caractéristiques des oligomères P6-23.....	63
Tableau 3: Conditions étudiées pour l'étape de clivage dans la première stratégie.	106
Tableau 4: Conditions étudiées pour l'étape de clivage dans la seconde stratégie.	107
Tableau 5: Conditions étudiées sur les molécules séparées pour déterminer un protocole de clivage sélectif.	108
Tableau 6: Conditions étudiées pour déterminer un protocole de clivage sélectif..	109
Tableau 7: Séquences et HRMS des oligocarbamates étudiés dans le Chapitre IV.	117
Tableau 8: Distances a et b de la maille élémentaire des différents oligomères en fonction de leur séquence.	121
Tableau 9: distances dans l'espace réciproque des réflexions 110 et 020 dans les différents cristaux étudiés.....	133

Introduction générale

Les polymères sont des macromolécules. La structure primaire, ou séquence, d'un polymère est composée de monomères liés les uns aux autres par des liaisons covalentes. Il y a un siècle, Staudinger faisait cette découverte. Depuis, le contrôle de la séquence des polymères est un challenge intéressant pour les chimistes, car il permet d'obtenir des molécules aux propriétés précises. En effet, outre la structure chimique de ses monomères, son degré de polymérisation (DP) et sa dispersité (D), les propriétés d'un polymère sont liées au placement relatif des monomères sur sa séquence.^[1]

Au cours des dernières décennies, l'utilisation de méthodes de synthèse empruntées à la biochimie a considérablement facilité la production de polymères dont la structure primaire est parfaitement contrôlée: les polymères à séquences définies. Le stockage de données dans ces molécules est une des applications possibles les plus prometteuses. Depuis la fin des années 80 et la première preuve que de l'information peut être encodée dans de l'acide désoxyribonucléique (ADN),^[2] les méthodes de synthèse et de séquençage ont évoluées et permettent de nos jours la création de systèmes de stockage de données contenant plusieurs mégabits d'information. Ajouté à un produit, l'ADN peut aussi être utilisé en tant qu'étiquette moléculaire, l'information contenue dans la molécule permettant d'identifier le produit.^[3]

L'utilisation de polymères uniformes abiotiques pour le stockage d'information est aussi un champ de recherche d'intérêt croissant. En effet, n'importe quel copolymère peut contenir de l'information s'il est uniforme et que la position relative de chaque monomère correspond à un code. Par exemple, si un copolymère est composé de deux monomères définis arbitrairement comme « bit 0 » et « bit 1 » et que la position de chaque monomère est choisie par un expérimentateur, alors ce polymère contient de l'information numérique binaire.^[4] Une grande variété de structures chimiques est possible, ce qui permet de concevoir des molécules selon des propriétés physico-chimiques désirées.^{[5]-[6]} L'information est encodée sur un polymère à l'échelle moléculaire, et donc de façon bien plus dense que dans les systèmes informatiques.^{[7]-[8]} Des polymères abiotiques capables de stocker des données peuvent aussi entrer dans la composition de matériaux hybrides constituants des objets et ainsi servir de

marqueur anti-contrefaçon.^[9] Afin de récupérer l'information encodée, une méthode de séquençage doit être utilisée. La spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) est une technique universelle de séquençage pour les polymères uniformes,^[10] néanmoins, des techniques adaptées à la structure chimique de chaque polymère peuvent aussi être développées.^[11]

Cette thèse s'inscrit dans le contexte général de la synthèse, de l'étude et de l'utilisation de polymères à séquences définies abiotiques pour le stockage d'information. Elle se divise en quatre chapitres, dont trois chapitres de recherche résumés graphiquement dans la Figure 1.

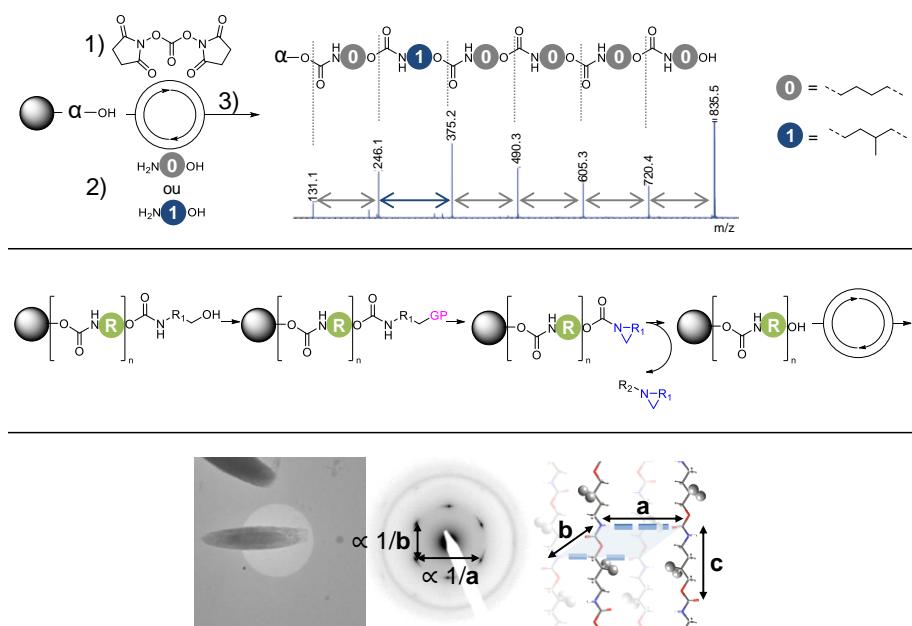


Figure 1: Résumé graphique de la recherche menée dans cette thèse.

Haut: Chapitre II: concept de la synthèse et du séquençage par MS/MS de polycarbamates à séquences définies. Centre: Chapitre III: stratégie étudiée pour la dépolymérisation séquentielle de polyuréthanes. Bas: Chapitre IV: cristallisation d'oligocarbamates et étude de la structure cristalline par diffraction des électrons. 1) première étape 2) deuxième étape 3) répétition itérative des deux étapes et clivage. GP représente un groupe partant et R₂ dépend de la réaction de clivage envisagée. Les sphères sur le modèle moléculaire représentent les positions potentiellement occupées par un groupe méthyle.

Le Chapitre I est une introduction concernant les polymères à séquences définies. Après une brève introduction à propos des polymères à séquences définies biologiques, cette revue de la littérature se focalise sur les méthodes de synthèse permettant un contrôle parfait de la position respective de chaque monomère dans la séquence, à savoir les synthèses matricielles et les synthèses itératives. La troisième partie discute de l'influence de la séquence sur la structure des polymères et de l'application centrale visée par ce travail de thèse: le stockage de données. Un dernier sous-chapitre traite des différentes méthodes de séquençage des polymères à séquences définies.

Le Chapitre II est dédié à la mise en place d'une synthèse permettant l'obtention de polycarbamates à séquences définies encodant de l'information. La stratégie utilisée est une synthèse supportée qui repose sur deux étapes chimiosélectives. La première consiste à faire réagir un alcool primaire avec un excès de carbonate de N,N'-disuccinimidyle afin d'obtenir un carbonate activé. Ce dernier réagit sélectivement avec l'amine d'un alcool aminé lors d'une deuxième étape, produisant un carbamate portant une fonction alcool primaire. La répétition itérative de ces deux étapes permet la synthèse d'un polycarbamate à séquence définie. Afin d'implémenter un code dans ces molécules, différents monomères sont utilisés lors de la deuxième étape de la synthèse. L'utilisation de monomères de masses moléculaires différentes, arbitrairement définis comme « bit 0 » et « bit 1 », permet l'obtention de polymères numériques. L'utilisation de monomères chiraux permet de contrôler la tacticité du polymère. Un espaceur clivable relie la résine et le premier monomère par une fonction éster ; l'hydrolyse de ce dernier permet l'obtention du produit désiré. Enfin, le séquençage de ces oligomères par spectrométrie de masse en tandem est ensuite discuté. Il se révèle particulièrement facile pour les polycarbamates numériques.

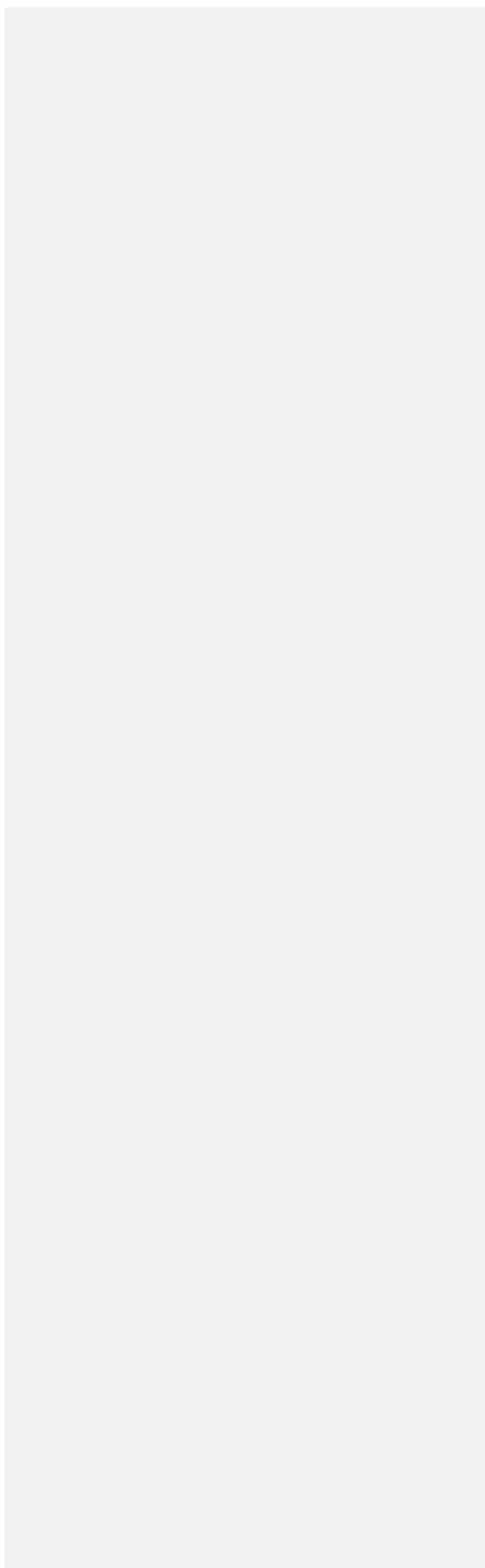
Le Chapitre III traite de la dépolymérisation séquentielle des oligocarbamates uniformes. Deux stratégies ont été envisagées. La première consiste à substituer l'alcool terminal par un groupe nucléophile qui va pouvoir réagir sur la fonction électrophile la plus proche, à savoir le carbamate de l'unité terminale. La seconde consiste à modifier sélectivement le carbamate de l'unité terminale en carbamate secondaire pour pouvoir cliver sélectivement ce dernier. Dans les deux stratégies, des rendements quasi-quantitatifs sont nécessaires afin de pouvoir répéter itérativement

les différentes étapes menant au clivage sélectif de la dernière unité. La mauvaise solubilité des oligomères synthétisés dans le Chapitre II ne permet pas d'envisager d'utiliser ces méthodes sans support. Néanmoins, comme de nombreuses conditions réactionnelles ont dû être testées, les différentes réactions ont été conduites sur des molécules modèles en solution dans le but d'adapter par la suite la méthode retenue sur support.

Le Chapitre IV est consacré à une étude cristallographique d'oligocarbamates numériques. La recristallisation des oligomères dans un mélange de solvants permet l'obtention de cristaux lamellaires orientés qui ont été analysés par diffraction des électrons. Les différents oligomères, variant par le nombre et la position de chaînes latérales méthylées ont tous une structure cristalline orthorhombique centrée dont les dimensions ont été mesurées. Elles renseignent sur la densité d'information contenue dans chaque cristal. De plus, l'introduction de chaînes latérales entraîne une augmentation de la distance interfeuillet sans modifier la distance définie par la formation de liaisons hydrogène intermoléculaires. La relation entre la distance interfeuillet et la séquence de chaque oligomère a ainsi pu être déterminée et dépend non seulement du nombre de chaînes latérales dans l'oligomère mais aussi de leurs positions dans la séquence.

Chapitre I:

Introduction aux polymères à séquences définies



I. Introduction

Un polymère à séquence définie est une macromolécule dont la structure primaire, composée d'un ou plusieurs comonomères, est parfaitement contrôlée.^[1] En d'autres termes, un polymère à séquence défini est uniforme et la position relative des unités constituant sa chaîne principale est précise. Les exemples les plus étudiés de polymères à séquence définies sont des biopolymères tels que les acides nucléiques ou les protéines. Ces biopolymères à séquences définies, nécessaires à toutes les formes de vie connues à ce jour, sont surtout étudiés par la communauté scientifique pour leurs propriétés biologiques. La synthèse, la caractérisation et l'utilisation de polymères à séquences définies ont de ce fait longtemps été des domaines de recherche dominés par les biochimistes. Pourtant, le champ d'application de ces molécules dépasse celui de la biologie. L'utilisation de séquences précises de biopolymères permet en effet de prévoir leurs structures tertiaires et quaternaires. C'est pourquoi, l'utilisation de biopolymères à séquences définies est rentrée dans des champs de recherches qui n'exploitent pas leurs propriétés biologiques. Les propriétés de repliement de l'ADN sont par exemple exploitées afin d'obtenir des objets de formes prédéfinies.^[12] Sa structure primaire est aussi utilisée comme moyen de stocker des données.^[13] L'utilisation de polymères biologiques pour des applications abiotiques s'explique en grande partie par le fait que, parmi toutes les classes de polymères à séquences définies, ils sont les plus étudiés. Leurs propriétés sont donc connues et leur synthèse est bien établie.^{[14]-[15]} Néanmoins, ces molécules présentent des désavantages inhérents à leur structure chimique. Par exemple, la dépurination des bases de l'ADN entraîne la dégradation des chaînes latérales du polymère^[16] avant la dégradation du squelette, ce qui le rend théoriquement moins stable qu'un polyphosphodiester abiotique.

Jusqu'à récemment, peu de méthodes permettaient la synthèse de polymères à séquences définies abiotiques ce qui limitait les possibilités d'études de ces derniers, tant sur le point de leur caractérisation que de leurs potentielles applications.^[17] Néanmoins, plusieurs techniques de synthèse permettaient déjà d'obtenir diverses

classes de polymères avec un degré de contrôle de la séquence plus ou moins grand. De plus, la diversité des monomères utilisables rend quasiment infini le nombre de combinaisons possibles pour les polymères à séquences contrôlées. Les dernières décennies ont vu naître un nombre croissant de techniques de synthèse, souvent empruntées à la biochimie^[18] ou inspirées par la biologie,^[19] permettant d'obtenir des polymères à séquences définies. La possibilité de contrôler parfaitement la séquence de macromolécules a ainsi ouvert un nouveau champ d'étude visant à contrôler les propriétés des polymères grâce au contrôle de leur structure primaire.^[20]

Ce premier chapitre discute tout d'abord des polymères à séquences définies biologiques que sont l'ADN et les protéines. Ces composés sont en effet des molécules qui servent de modèles pour l'étude d'autres types de polymères à séquences définies, tant pour leur synthèse que pour leurs propriétés. Puis, les méthodes permettant la synthèse de polymères à séquences définies sont traitées. Un troisième sous-chapitre est consacré aux relations mises en évidence entre la structure primaire de polymères uniformes et leurs propriétés. Une étude des différentes méthodes de séquençage de ces polymères conclue ce chapitre.

II. Polymères uniformes biologiques

Tous les êtres vivants utilisent l'ADN, les acides ribonucléiques (ARN) et les protéines afin de se développer et de se reproduire. Le nombre d'unités répétitives différentes utilisées dans les polymères biologiques est faible, l'ADN et l'ARN utilisant chacun quatre monomères et les protéines vingt-deux ; leur diversité chimique est faible. Pourtant, l'organisation de chaque séquence donne lieu à une fonction précise ; leur diversité fonctionnelle est grande. Ce sous-chapitre résume la synthèse et le rôle des polymères à séquences définies biologiques.^[21]

Les acides nucléiques sont classés en deux types: les ADN et les ARN. Un ADN est, d'un point de vue chimique, un copolymère de désoxyribonucléotides. Chaque nucléotide (nt) est composé d'un désoxyribose présentant à la fois un groupe phosphate en position 5' et une des quatre différentes bases nucléiques de l'ADN en

position 1'. Les quatre différents monomères sont liés de façon covalente par des liaisons 3'-5' phosphodiesters selon une séquence précise. Les bases nucléiques constituant l'ADN sont: l'adénine (A), la thymine (T), la guanine (G) et la cytosine (C). Ces bases azotées ont des structures permettant la formation de liaisons hydrogène entre les bases A et T, et entre les bases G et C. Cela permet à deux brins d'ADN, dont les séquences sont complémentaires, de s'assembler par ces interactions supramoléculaires afin de former une double hélice (Figure 2). De plus, la capacité des nucléotides à former des paires de bases (bp) permet la réPLICATION de l'information génétique dans l'ADN, sa transcription dans l'ARN et sa traduction dans les protéines.

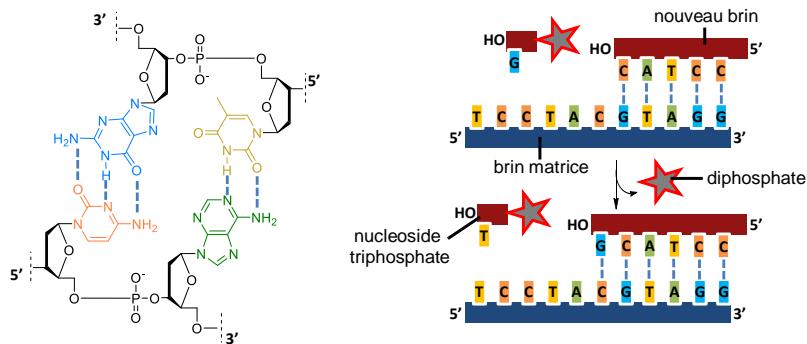


Figure 2: Formation de paires de bases (gauche) et mécanisme schématique de la réPLICATION (droite).

Les pointillés bleus indiquent des liaisons hydrogène entre G (bleu) et C (orange), T (jaune) et A (vert) entre deux dimères d'ADN de séquences complémentaires.

La biosynthèse de l'ADN est appelée réPLICATION. C'est un mécanisme complexe mettant en jeu différentes protéines permettant de désolidariser les deux brins de la double hélice de l'ADN, appelés brin codant et brin matrice, et de les stabiliser. Un complexe enzymatique, l'ADN polymérase intègre les nucléotides un par un sur deux nouveaux brins d'ADN via des réactions de substitution de groupes diphosphates des nucléosides triphosphates du milieu réactionnel par la fonction hydroxyle de l'extrémité 3' du brin d'ADN en formation. Un nucléotide est placé sur le nouveau brin uniquement

s'il forme une bp avec le brin matriciel. A la fin de la réPLICATION, deux nouveaux brins de séquences identiques aux brins matrice et codants sont synthétisés (Figure 2).

Les ARN sont, comme les ADN, des polyphosphodiesters. Ils diffèrent néanmoins de ces derniers par leur chaîne principale, composée d'un ribose au lieu d'un désoxyribose. Les quatre bases azotées constituant les ARN sont: l'adénine, la guanine, la cytosine et l'uracile (U). Cette dernière forme des liaisons hydrogène avec A. Dans le milieu cellulaire, la majorité des ARN se trouvent sous la forme de simples brins ; ils peuvent former des structures secondaires, tertiaires et quaternaires bien plus diverses que les ADN, ce qui leur confère d'autres fonctions biologiques que le stockage d'information génétique.

La biosynthèse de l'ARN est appelée transcription. Le mécanisme de cette réaction enzymatique est basé sur la complémentarité supramoléculaire des bases d'un brin d'ADN, appelé brin matrice, avec les nucléotides du milieu réactionnel. Comme pour la biosynthèse de l'ADN, l'information contenue dans la séquence de l'ARN synthétisé provient de la séquence primaire de l'ADN matrice.

Les protéines sont des polymères à séquences définies dont la chaîne principale est une succession d'acides L- α -aminés liés les uns aux autres par des liaisons amides. Les protéines se distinguent des peptides par leurs DP, supérieurs à 50. Les extrémités amine et acide carboxylique des peptides sont appelées respectivement extrémité N-terminale et extrémité C-terminale. 22 acides L- α -aminés, différents par leur chaîne latérale positionnée en α de leur fonction acide carboxylique, composent l'alphabet utilisé dans les protéines chez tous les êtres vivants.

La biosynthèse des protéines est appelée traduction. C'est une polycondensation séquentielle d'acides aminés catalysée par le ribosome. La séquence des acides aminés dans la protéine est définie par un ARN simple brin appelé ARN messager (ARNm). Ce dernier se divise en différents domaines composés chacun de trois bases d'ARN appelés codons. Le premier acide aminé incorporé est toujours la méthionine. Comme tous les autres acides aminés participant à la synthèse de la protéine, elle est préalablement liée par un ester à un ARN de transfert (ARNt) qui lui est spécifique. Cette réaction est catalysée par une enzyme spécifique de l'acide aminé et de son

ARNt, la méthionyl-ARNt synthétase. Il existe donc autant d'aminoacyl-ARNt synthétases (aaRS) que d'acides aminés. Chaque ARNt présente un anticodon, dont les bases sont complémentaires avec un codon spécifique. Le premier codon de l'ARNm est exposé dans le site actif du ribosome et les différents ARNt sont ciblés jusqu'à la reconnaissance du codon par l'ARNt de la méthionine. Le deuxième codon est alors exposé et les ARNt sont à nouveau ciblés. Lors de la reconnaissance du second codon par l'ARNt complémentaire, le ribosome catalyse la réaction d'amidification du second acide aminé sur la méthionine, qui se détache alors de son ARNt (Figure 3). La biosynthèse de la protéine continue jusqu'à l'arrivée dans le site actif d'un codon stop, ne codant pour aucun acide aminé.

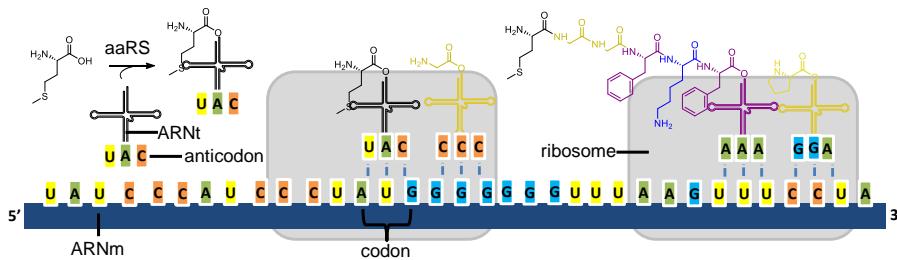


Figure 3: Mécanisme schématique de la traduction.

Chaque codon étant spécifique d'un acide aminé, on parle de code génétique, la séquence des protéines étant déterminée par la séquence de l'ARNm et donc de l'ADN codant (Figure 4).

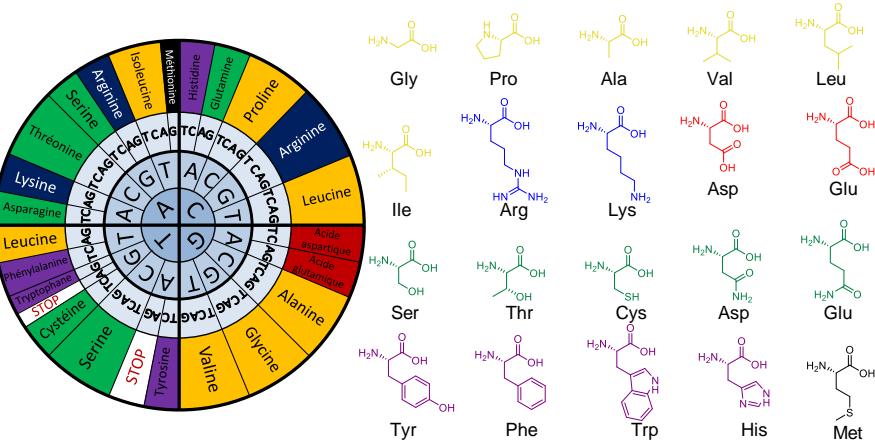


Figure 4: Code génétique utilisé par l'être humain (gauche) et structure et abréviations des 20 acides aminés de ce code (droite).

III. Synthèses de polymères à séquences définies

Différentes stratégies de synthèse ont été développées au fil du temps afin d'obtenir des polymères à séquences définies.^[22] Ce sous-chapitre est dédié aux différentes méthodes de synthèse pouvant aboutir à la production de polymères uniformes dont chaque monomère est positionné arbitrairement dans la séquence. Ces stratégies peuvent être classées en deux grandes catégories: les polymérisations assistées par matrices, inspirées par la biologie, et les polymérisations multi-étapes. Les stratégies ne permettant pas le contrôle total de la séquence, comme les polymérisations vivantes^{[23]-[24]} ou permettant l'obtention de polymères uniformes à séquences répétitives, comme la synthèse itérative à croissance exponentielle^[25] ou la synthèse de dendrimères^[26] ne sont pas décrites.

1) Polymérisations assistées par matrices

Dans les synthèses assistées par matrices de polymères à séquences définies, la structure primaire de la molécule finale découle de l'information contenue dans une macromolécule matrice qui ordonne les monomères lors de la synthèse. La

biosynthèse des protéines est un exemple de synthèse assistée par matrice, la structure de la protéine synthétisée résultant de la séquence du gène à traduire. Dans ce cas, c'est l'interaction par liaisons hydrogène des ARNt portant les acides aminés avec la matrice d'ARNm qui va définir la séquence de la protéine synthétisée en accord avec le code génétique.

a. Polymérisations enzymatiques

i. Utilisant la traduction

Les premiers travaux de synthèse d'une macromolécule abiotique assistée par une matrice d'ADN et utilisant la machinerie cellulaire sont réalisés par l'équipe de Schultz à la fin des années 1980.^[27] Le but recherché est de modifier un acide aminé précis de la séquence d'une protéine pour pouvoir étudier l'impact fonctionnel de cette modification. Pour ce faire, un acide aminé non-naturel est attaché de façon covalente à un ARNt dont l'anticodon correspond à un codon stop. L'ARNm codant pour la protéine à étudier, modifié à la position désirée par ce codon stop, est synthétisé. Lors de la biosynthèse de la protéine, le ribosome insère dans la protéine l'acide aminé non-naturel à l'endroit voulu. Cette technique a évolué jusqu'à la synthèse de polyamides totalement non-naturels par reprogrammation du code génétique.^[28] Pour ce faire, des acides aminés non-naturels sont chargés chacun sur un ARNt dédié par leur aaRS spécifique. Un ARNm est synthétisé et le ribosome incorpore les acides aminés non-naturels dans le peptide en fonction de sa séquence. Le problème de cette méthode est que chaque aaRS est spécifique d'un acide aminé. Pour pouvoir utiliser la machinerie cellulaire pour produire des polymères abiotiques à séquences définies, le monomère non-naturel couplé à un ARNt doit être un isostère de l'acide aminé dédié à cet ARNt. Des études récentes proposent l'utilisation d'un ribozyme pouvant charger n'importe quel acide aminé ou acide hydroxylé non-naturel, activé par un groupe partant, sur une seule classe d'ARNt dont la séquence varie uniquement au niveau de l'anticodon.^[29] En reprogrammant le code génétique en fonction de la molécule ciblée, l'équipe de Suga est ainsi capable de synthétiser des séries de polyesters^[30] ou encore de polyamides composés d'un mélange d'acides α - et β -aminés.^[31] La Figure 5 résume

les méthodes de polymérisations enzymatiques assistées par matrices utilisant la traduction.

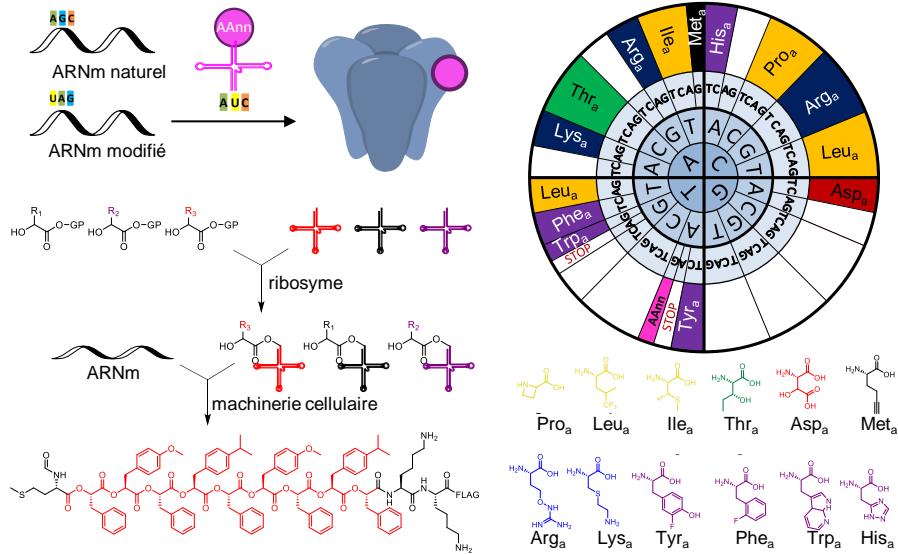


Figure 5: Méthode d'obtention d'une protéine contenant un acide aminé non-naturel (haut gauche), utilisation d'un ribozyme pour la synthèse de polyesters uniformes (bas gauche) et modification du code génétique pour la synthèse de protéines non-naturelles (droite).

Adapté d'après les références [27], [28] et [30].

ii. Utilisant la réplication et la transcription

L'utilisation de la réplication et de la transcription pour la synthèse de polymères à séquences définies abiotiques revient à modifier les différentes protéines effectuant ces biosynthèses afin d'insérer des motifs d'acide xénonucléique (XNA) dans des séquences d'ADN ou d'ARN, voire de synthétiser des XNA totalement abiotiques.^[32]

b. Synthèses sans enzyme

Le processus de synthèse de polymères uniformes par la machinerie cellulaire met en jeu des enzymes. Ces complexes ont évolué avec le temps afin de catalyser des réactions spécifiques de manière efficace. Le désavantage intrinsèque lié à cette spécificité, dans le cadre de la synthèse de polymères, est qu'elle limite la structure

chimique des monomères utilisables et donc de polymères synthétisables, à des structures chimiques proches des molécules biologiques. Il est néanmoins possible de concevoir des synthèses sans enzymes assistées par matrices, ce qui permet l'utilisation d'un large panel de réactions chimiques. Au milieu des années 80, le groupe d'Orgel étudie la copolymérisation assistée par une matrice d'ADN de nucléosides aux groupes phosphates activés.^[33] Les premiers résultats obtenus montrent des rendements faibles et des taux d'erreur d'incorporation élevés, le complexe formé entre chaque monomère et la matrice étant trop instable pour positionner les monomères selon la bonne séquence. Letsinger montre dans une étude ultérieure qu'il est possible de catalyser de façon matricielle la ligature chimique d'un brin d'ADN. Pour ce faire, un brin d'ADN a été modifié à ses extrémités 5' et 3' respectivement en groupe tosylate et phosphorothioate. De plus, la séquence du brin est conçue afin de former une structure secondaire circulaire grâce à l'appariement intramoléculaire de huit bp, ce qui rapproche les extrémités 5' et 3' (Figure 6).^[34] Une réaction de substitution s'effectue entre les extrémités 5' et 3'. Ce type de ligature dirigée par la complémentarité des bases entre les brins d'ADN est réutilisée avec d'autres réactions chimiques, notamment des additions/éliminations^[35] ou encore des additions.^[36]

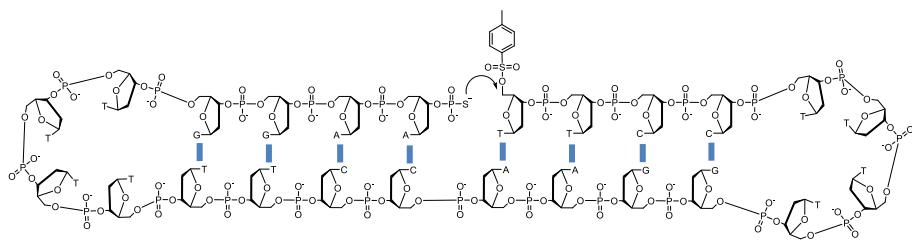


Figure 6: Ligature chimique d'un brin d'ADN de domaines complémentaires.

Les traits bleus représentent des liaisons hydrogène entre les différentes bases. Adapté d'après la référence^[34].

En se basant sur la même approche, le groupe de Liu polymérisé des acides nucléiques peptidiques (PNA) bifonctionnels par amination réductrice en utilisant une matrice d'ADN composée de codons complémentaires à la séquence des PNA.^[37] L'appariement des bases entre les PNA et l'ADN matrice facilite la réaction entre les amines des aldéhydes. Ils démontrent aussi que la modification d'une seule base dans l'ADN matrice empêche l'appariement du codon avec le PNA ce qui inhibe la polymérisation complète du polymère. Afin d'obtenir des macromolécules totalement abiotiques par cette méthode, le même groupe propose une stratégie alternative où différents PNA sont chacun liés par des fonctions labiles à un monomère bifonctionnel.^[38] Après appariement des PNA avec l'ADN matrice, les différents groupes fonctionnels réagissent par couplage azoture-alcyne catalysé par le cuivre (CuAAC), puis la liaison labile est rompue afin d'obtenir un polymère ne contenant aucune bases de l'ADN (Figure 7).

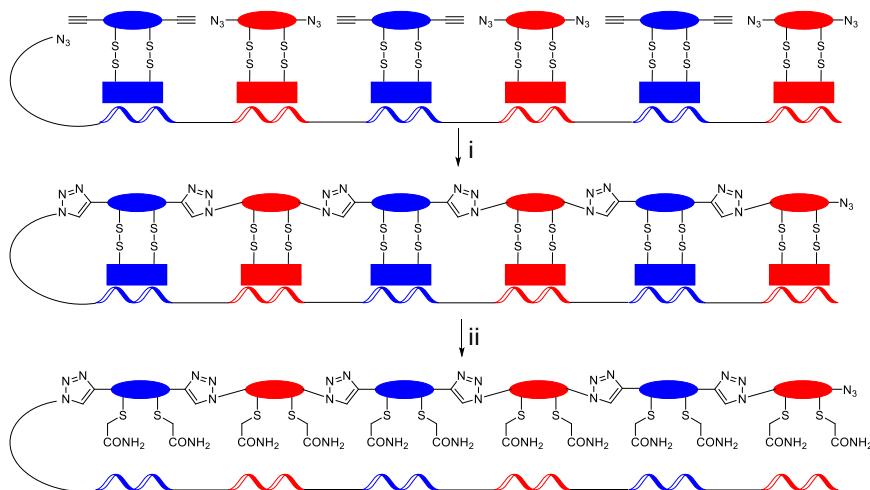


Figure 7: Synthèse non-enzymatique assistée par matrice d'un polymère abiotique.

i: CuAAC ; ii: réduction. Les ovales représentent les différents monomères, les rectangles des séquences de PNA. Les ADN rouges ont des séquences complémentaires aux PNA rouges, de même pour les bleus. Adapté d'après la référence^[38].

La stabilité d'un duplexe d'ADN dépend du nombre de bp pouvant se former entre les deux brins complémentaires. Aussi, pour un brin d'ADN (a) donné, un autre brin (b) peut être conçu avec deux blocks, l'un amenant à la formation d'un duplexe avec (a) et un autre non complémentaire. L'addition d'un troisième brin d'ADN (c), dont la séquence est totalement complémentaire à celle de (a), à un complexe (a)-(b) préalablement formé déplacera l'équilibre vers la formation d'un complexe (a)-(c). Or, la formation de complexes d'ADN portant des groupes réactifs permet de catalyser des réactions entre ces derniers. En se basant sur ces deux principes, une stratégie de synthèse rapportée par le groupe de Liu permet, par l'ajout séquentiel de séquences d'ADN portant différents monomères réactifs, de former des hexamères à séquences définies.^[39] Des tétramères^[40] et des octamères^[41] ont aussi été obtenus par les groupes de Turberfield et de O'Reilly via une stratégie similaire décrite graphiquement dans la Figure 8.

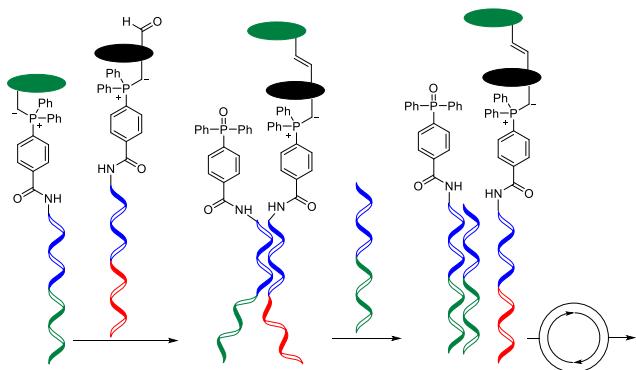


Figure 8: Synthèse d'un polymère à séquence définie utilisant la complémentarité des séquences d'ADN.

Les ovales représentent les différents monomères. Les similarités des couleurs utilisées pour les différents domaines des ADN dénotent leur complémentarité. Adapté d'après la référence^[40].

D'autres systèmes, plus complexes et reposant sur les principes évoqués dans cette partie, comme l'utilisation d'ADN « marcheur »^[42] ou d'ADN « cargo »,^[43] permettent de programmer des synthèses monotopes de polymères à séquences définies.

2) Polymérisations multi-étapes

La polymérisation multi-étapes consiste en l'addition séquentielle de monomères sur une chaîne de polymère en croissance jusqu'à l'obtention de la séquence voulue.^[44] Afin de pouvoir contrôler la séquence de la chaîne en croissance, les monomères doivent présenter des fonctions qui vont réagir avec cette dernière. Par exemple, si la fonction [A] réagit avec la fonction [B] alors un monomère hétérobifonctionnel [AB], dont [A] est désactivé, peut réagir lors d'une première étape sur une chaîne en croissance présentant [A]. Il en résulte une chaîne en croissance présentant à nouveau une fonction [A] désactivée. Après activation de cette fonction lors d'une deuxième étape, la chaîne en croissance peut réagir avec un autre monomère [AB]. La répétition itérative des deux étapes permet de faire croître le polymère de façon parfaitement contrôlée jusqu'à l'obtention du produit désiré. Cette stratégie est appelée [AB] + [AB]. Chaque réaction doit être quasiment quantitative. Pour ce faire les réactifs sont souvent utilisés en excès par rapport à la chaîne en croissance. La répétition itérative d'étapes à rendements moyens entraîne en effet une décroissance exponentielle du rendement global. De plus, les réactions incomplètes conduisent à la formation de molécules de structures similaires mais de masses moléculaires inférieures au polymère visé. Ces produits secondaires sont appelés congénères inférieurs. Une étape supplémentaire, dite de capping, peut être ajoutée au cycle de réactions itératives afin de modifier les congénères inférieurs. Cette étape permet d'une part leur désactivation vis-à-vis des monomères et leur différenciation du polymère final d'autre part, ce qui permet une purification. De nombreuses stratégies de polymérisations multi-étapes existent. Dans le cadre d'une utilisation de monomères homobifonctionnels, la stratégie est appelée [AA] + [BB]. Des stratégies ne nécessitant pas de groupes protecteurs sont aussi utilisées comme la stratégie [AB] + [CD] où [A] et [B] réagissent orthogonalement et respectivement avec [C] et [D], ou les stratégies « sous-monomères ». Ces dernières reposent sur un réactif [CC] portant deux fonctions pouvant séquentiellement réagir lors des différentes étapes de synthèse. Ces différentes stratégies sont détaillées dans un point dédié page 22.

La polymérisation multi-étapes est la manière la plus efficace de synthétiser des polymères à séquences définies. Il est intéressant de noter que les molécules matrices utilisées dans les polymérisations assistées par matrices sont synthétisées au préalable, le plus souvent par polymérisation multi-étapes. Cette sous-partie discute des différentes stratégies de polymérisations multi-étapes utilisées pour la synthèse de polymères à séquences définies.

a. En solution/supportées

Les polymérisations multi-étapes sont dites en solution ou supportées si la chaîne principale du polymère est respectivement libre ou immobilisée par liaison covalente sur un support, solide ou non, durant les différentes réactions.^[45] La plupart des méthodes de polymérisations multi-étapes sont réalisables à la fois en solution et sur support, les deux méthodes ayant leurs avantages et désavantages respectifs.

i. En solution

Choisir d'effectuer des polymérisations multi-étapes en solution revient à réaliser itérativement des réactions de chimie organique classiques, ce qui donne une grande liberté en termes de choix du solvant, de la température ou de la pression. Cette méthode permet d'adapter facilement des réactions connues en chimie organique pour la synthèse de polymères, en reproduisant les conditions présentées dans la littérature ; les cinétiques et les rendements attendus sont reproductibles. De plus, cette méthode ouvre la possibilité d'analyser les produits de chaque étape avec des méthodes d'analyse routinières de laboratoire et permet la synthèse de grandes quantités de matière. Le désavantage non négligeable de cette méthode est la nécessité de purifier, après chaque étape, le produit afin d'éliminer les réactifs en excès, les sous-produits ou encore les éventuels catalyseurs utilisés.

ii. Supportées

Le principe de la polymérisation multi-étapes supportée repose sur l'immobilisation de l'espèce chimique à modifier sur un support. Les propriétés physico-chimiques de ce dernier doivent permettre une séparation simple du produit supporté d'une réaction par rapport aux réactifs non supportés. Dans un cas idéal, le produit supporté doit avoir

les mêmes caractéristiques physicochimiques que le support seul. Le support doit aussi remplir un certain nombre de critères: il ne doit pas réagir dans les conditions de réaction, il ne doit pas empêcher la réaction, il doit présenter une fonction permettant à la fois l'ancrage de l'espèce chimique à modifier et son clivage.^[46] Une telle fonction peut être introduit par la modification d'un support de caractéristiques physicochimiques adéquates avec un bras espaceur.^[47] La simplicité de la purification induite par le support permet l'utilisation des réactifs en large excès lors des différentes étapes itératives de la polymérisation multi-étapes.

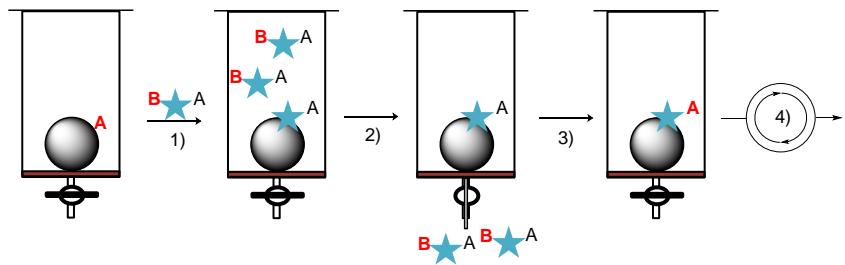


Figure 9: Représentation schématique de la méthode de synthèse sur support solide dans un tube SPE avec une stratégie [AB] + [AB].

Le cercle noir représente le support, les couleurs noires et rouges représentent les fonctions réactives des monomères respectivement désactivées et activées. 1) ajout d'un monomère [AB] en excès ; 2) purification par filtration de l'excès de monomère et des sous-produits de la réaction ; 3) activation de la fonction [A]. 4) répétition itérative des étapes 1) 2) et 3).

Dans le cadre de la synthèse sur support solide, le support est un matériel insoluble dans les solvants qui vont solubiliser les différents réactifs, catalyseurs et sous-produits de réaction. Après chaque réaction, le produit supporté peut être purifié par simple filtration et lavage. Cette technique permet de conduire les étapes successives de réactions et de purifications dans un même contenant conçu à cet effet, un tube d'extraction phase solide (SPE) (Figure 9), constitué d'un réservoir contenant le milieu réactionnel, d'un robinet permettant de vider le réservoir et d'un fritté, maintenant le support solide dans le réservoir. Cela réduit les temps de manipulation ainsi que les pertes de produit dues aux transferts de contenant à contenant, nécessaires dans les

autres méthodes. Typiquement, le support utilisé est un polymère réticulé restant sous forme solide et gonflant dans les solvants de réaction. Plus un support à un taux de gonflement élevé, plus la solution contenant les réactifs peut circuler entre les chaînes de polymère et atteindre l'espèce réactive supportée. Bien sûr, le taux de gonflement d'un même support varie en fonction des solvants utilisés lors des différentes réactions ce qui en fait un paramètre important à prendre en compte lors du choix du support. D'autres types de supports solides existent. Les supports en verre, ne gonflant pas dans les solvants de réaction mais présentant des pores suffisamment volumineux pour accueillir le polymère en croissance, sont notamment utilisés pour la synthèse d'ADN.^[48]

Les désavantages de la polymérisation multi-étapes sur support solide sont liés à l'encombrement stérique et à l'inhomogénéité des différentes phases dans le milieu réactionnel engendrés par le support. De ce fait, les cinétiques des réactions sont modifiées.^[49] De plus, le polymère à séquence définie en cours de synthèse participe lui aussi à l'augmentation de l'encombrement stérique ce qui entraîne, passé un certain DP et/ou en fonction des monomères utilisés, une baisse de l'accessibilité des réactifs aux fonctions réactives supportées et donc à des réactions incomplètes.^[50]

L'utilisation d'un support soluble permet de compenser en partie les effets d'encombrement stérique.^[51] En effet, la solubilité du support permet aux fonctions réactives du polymère en croissance d'être plus accessibles que lors de l'utilisation d'un support solide. Différents supports solubles ont été développés. Dans une première approche, les supports utilisés sont des chaînes de polymère non réticulées. Dans ce cas, la méthode de purification la plus utilisée est la précipitation de la solution réactive dans un liquide non-solvant du support et solvant des réactifs et sous-produits. La récupération du produit se fait généralement par filtration ou centrifugation. L'utilisation d'un support soluble permet la caractérisation du produit par des méthodes classiques après chaque étape de synthèse. Le désavantage majeur est que la solubilité du polymère supporté varie en fonction du DP de ce dernier ce qui peut nuire à l'efficacité de l'étape de précipitation et donc au rendement final du polymère ciblé. Une approche plus récente consiste à utiliser une étiquette fluorée comme support

soluble.^[52] Dans ce cas, le support est habituellement composé d'une chaîne alkyle dont les hydrogènes sont substitués par des fluors. La purification s'effectue par chromatographie d'affinité du milieu réactionnel sur une phase stationnaire composée de chaînes fluorées greffées sur de la silice. Deux phases mobiles sont utilisées séquentiellement, la première permet d'éluer les produits non-fluorés, la seconde, plus affine pour la phase stationnaire, permet d'éluer le produit. Le support fluoré ne donnant pas de signal en résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton, l'analyse des intermédiaires réactionnels est facilitée par rapport à la synthèse sur support soluble polymérique. L'affinité du support soluble pour la phase stationnaire est fonction du nombre d'atomes de fluor le composant, la croissance d'un polymère sur le support peut réduire cette affinité et donc l'efficacité de la chromatographie d'affinité.^[53]

b. Stratégies de synthèse

i. Stratégie [AB] + [AB]

Afin d'éviter la polymérisation des monomères entre eux dans la stratégie [AB] + [AB], la fonction [A] doit être désactivée lors de l'étape d'addition itérative du monomère. Deux moyens de désactiver [A] existent. Le plus souvent, cette désactivation se fait au moyen d'un groupe protecteur qui sera sélectivement clivé avant l'étape d'addition. [A] peut aussi être masquée sous la forme d'une fonction précurseur non-réactive sur le monomère. Un seul type de fonction [A>B], résultant de la réaction de [A] avec [B], lie les unités répétitives des polymères synthétisés via cette stratégie ; les fonctions liant les unités répétitives sont dirigées de manière unidirectionnelle : à une liaison [A>B] succède une liaison [A>B]. La stratégie [AB] + [AB] est donc une stratégie de choix pour la synthèse de polymères dont les monomères ne sont liés que par un type de liaison, comme les peptides ou les acides nucléiques.

Dans la synthèse de peptide par la stratégie [AB] + [AB], [A] est une amine qui réagit lors d'une étape d'addition/élimination avec un acide carboxylique activé [B]. La première synthèse de peptides uniformes par cette méthode est décrite par Vigneau.^[54] Elle est effectuée en solution ; la première étape consiste en l'addition/élimination de [A] sur un monomère anhydride portant une fonction amine protégée par un groupe

carboxybenzyle. La déprotection de ce groupe lors d'une seconde étape permet l'addition d'un nouveau monomère anhydride lors d'une troisième étape. La première synthèse supportée de polymères à séquences définies a été effectuée par Merrifield.^[46] L'amine [A], supportée par la résine est couplée avec un acide [B] en présence d'un réactif de couplage, le N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCC). La déprotection du groupe carboxybenzyle permet la répétition itérative des deux étapes. La synthèse supportée est aujourd'hui la méthode la plus répandue pour la synthèse de polyamides uniformes.

D'autres molécules dont les unités constitutives sont liées entre elles par des fonctions carbonyles peuvent être obtenues grâce à la stratégie [AB] + [AB]. En alternant des réactions de couplage et de déprotection, le groupe de Janda propose une stratégie leur permettant d'obtenir des oligoesters *via* l'utilisation d'un groupe protecteur ester allylique pour l'acide carboxylique.^[55] Fyles et Luong proposent eux aussi une stratégie de synthèse de polyesters avec un monomère dont l'alcool est protégé par le groupe tert-butyldiméthylsilyle.^[56] Ces deux stratégies permettent la synthèse de petits oligomères mais ne permettent pas d'isoler des polymères uniformes. La synthèse supportée de polyesters est difficile car, du fait de la labilité de la liaison ester, les conditions des réactions et du clavage entraînent des réactions d'hydrolyse, de transestérification ou de cyclisation. Les polyurées quant à elles sont facilement synthétisables grâce à l'utilisation d'amines protégées [A] et d'isocyanates^[57] ou de carbamates activés [B].^[58] L'amine [A] peut aussi être masquée par un groupe précurseur azoture.^[59]

La synthèse d'oligocarbamates est aussi décrite. L'équipe de Schultz met en évidence une stratégie [AB] + [AB] dans laquelle le monomère utilisé comporte une fonction amine [A] protégée par le groupe nitroveratryloxycarbonyle et un carbonate activé para-nitrophénylique [B].^[60] Lors d'une première étape, l'amine est déprotégée par irradiation. Une deuxième étape de couplage permet la formation d'une liaison carbamate (Schéma 1). Le masquage sélectif de certaines séquences, lors d'une synthèse en parallèle sur une surface, produit 256 octamères de séquences différentes. Cette méthode de synthèse orientée vers la diversité avait déjà été mise

en œuvre pour la synthèse d'une bibliothèque de peptides.^[61] D'autres études, utilisant des groupes protecteurs plus classiques montrent la synthèse d'oligocarbamates uniformes.^[62] L'équipe de Jung montre notamment la synthèse de pentamères et leur séquençage par spectrométrie de masse en tandem.^[63]

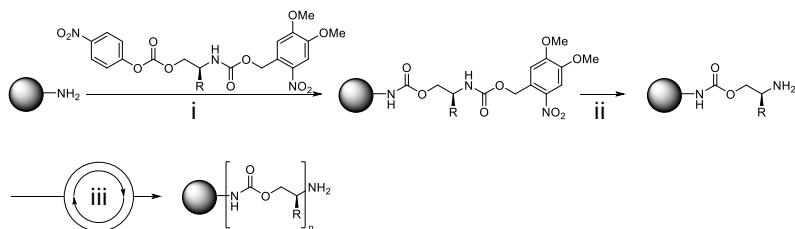


Schéma 1: Synthèse d'oligocarbamates via une stratégie [AB] + [AB].

i: couplage ; ii: déprotection par irradiation UV ; iii: répétition itérative des étapes i et ii. Le disque noir représente le support solide en verre. Dans cette stratégie, les oligomères synthétisées ne sont pas clivés et leurs propriétés biologiques sont testées directement sur le support en verre. Adapté d'après la référence^[60].

La première méthode itérative de synthèse d'oligophosphodiesters est développée dans les années 1950 par Khorana. Elle repose sur la condensation d'un alcool avec une fonction phosphate activée par un réactif de couplage.^[64] Cette approche est supplante par la suite par la méthode phosphoramidite. Cette dernière, développée par Caruthers,^[65] implique la réaction d'addition/élimination d'un alcool [A] sur le groupe phosphoramidite [B] d'un monomère [AB] dont la fonction hydroxyle est protégée. S'en suit un capping des alcools n'ayant pas réagi et l'oxydation de la fonction phosphite en un groupe phosphate plus stable. La déprotection de la fonction alcool et la répétition itérative des différentes étapes permet d'obtenir des polyphosphodiesters à séquences définies. Après la dernière addition de monomère, le groupe protecteur n'est pas clivé ce qui rend le polymère désiré moins polaire que les congénères inférieurs, et donc purifiable par chromatographie. Cette stratégie permet la synthèse de polymères de DP supérieurs à 100. Les différentes étapes sont automatisées et un cycle réactionnel dure environ quinze minutes ce qui en fait toujours une technique de choix pour la synthèse d'ADN. L'utilisation de la méthode phosphoramidite pour la synthèse de polymères non-naturels est démontrée pour la première fois par le groupe de Sleiman pour la synthèse d'un copolymère uniforme à

block *via* la synthèse séquentielle d'ADN et de douze monomères de phosphodiesters abiotiques grâce à l'utilisation de monomères phosphoramidite non-nucléosides.^[66] Elle est par la suite utilisée par le groupe de Lutz pour la synthèse de polymères totalement abiotiques.^[67] Avec un synthétiseur automatisé, le même groupe décrit l'obtention de polyphosphodiesters allant jusqu'à un DP de 104.^[68]

Les oligosaccharides sont eux aussi préparés *via* des stratégies [AB] + [AB], [A] étant un nucléophile protégé et [B] un groupe partant porté par le carbone anomère. La répétition itérative de réactions de déprotection et de substitution nucléophile permet la synthèse de polysaccharides. Chaque ose porte plusieurs fonctions nucléophiles et existe sous différentes formes épimères et anomères, aussi, s'il existe des stratégies générales pour la synthèse de polysaccharides, il est nécessaire d'adapter ces dernières en fonction de la séquence visée.^[69]

En faisant varier les fonctions réactives [A] et [B], il est possible d'obtenir d'autres types de polymères uniformes. En choisissant un alcool protégé pour [A] et un groupe partant pour [B], il est possible de synthétiser des polyéthers uniformes *via* deux étapes itératives: une substitution nucléophile et une déprotection. Cette méthode est utilisée pour la synthèse de PEG uniformes sur support solide^[70] et sur support fluoré.^[71] La synthèse d'oligotriazoles est aussi décrite grâce à l'utilisation d'un monomère alcyne aminé dont la fonction amine est protégée. Après une première réaction de CuAAC, l'amine est déprotégée et transformée en azoture en vue d'une nouvelle addition de monomère.^[72]

Parmi les réactions [AB] + [AB] ne mettant pas en jeu de groupes protecteurs mais un groupe précurseur, une stratégie consiste en une addition radicalaire avec transfert d'atome entre un bromopolyméthylacrylate [A] et un alcool allylique [B]. Le résultat de cette première étape est un polymère dont l'atome de brome n'est plus réactif. Afin de réactiver la source de radical, l'alcool terminal est oxydé en acide carboxylique puis estérifiée.^[73] Une autre méthode décrite par Foarta et Landis permet la synthèse d'oligoesters *via* trois réactions itératives: l'hydroacyloxylation d'un alcyne sur un acide carboxylique, hydroformylation de l'alcène obtenu et l'oxydation de l'aldéhyde en acide.^[74]

ii. Stratégie [AA] + [BB]

La stratégie [AA] + [BB] implique des monomères homobifonctionnels. Il résulte de cette synthèse des polymères uniformes dont les unités sont liées les unes aux autres par un seul type de fonction. Contrairement à la stratégie [AB] + [AB], la direction des liaisons formées est ici alternée, à une liaison [A>B] succède une liaison [B>A], aussi, chaque unité répétitive est symétrique. La stratégie [AA] + [BB] n'implique pas l'utilisation de groupe protecteur, néanmoins c'est une stratégie peu employée. En effet, la réactivité équivalente des deux fonctions de chaque monomère peut engendrer des réactions intermoléculaires entre plusieurs chaînes en formation, de plus, il est impossible de prédire dans quel sens réagit un monomère non-symétrique.^[75]

iii. Stratégie [AB] + [CD]

La stratégie [AB] + [CD] se base sur l'utilisation de deux réactions orthogonales. Théoriquement, tout couple de réactions orthogonales permet de synthétiser des polymères à séquences définies sans utiliser de groupes protecteurs. A chaque étape du cycle de synthèse, un constituant du polymère visé est ajouté à la chaîne principale ce qui permet une « économie d'atomes » par rapport aux stratégies mettant en jeu des groupes protecteurs. Cette stratégie permet de synthétiser des composés dont chaque unité répétitive comporte deux fonctions distinctes [A>C] et [D>B], orientées de façon unidirectionnelles dans l'ordre [A>C] puis [D>B].

La synthèse d'oligo(amide-triazole)s est possible via la répétition itérative d'une CuAAC et d'un couplage, respectivement entre des fonctions alcyne [A] et azoture [C], amine [D] et acide [B]. Cette méthode permet la synthèse de trimères sur support soluble^[76] (Schéma 2) ou solide.^[77] La réaction de couplage entre un acide et une amine peut aussi être combinée avec une réaction de couplage radicalaire entre un bromoalcan [A] et un nitroxide [C] afin de former des poly(alkoxyamine-amide)s.^[78] Une autre stratégie de synthèse orthogonale pour la formation des liaisons amides des poly(alkoxyamine-amide)s repose sur l'addition/élimination d'une amine sur un anhydride symétrique portant deux fonctions bromoalcan.^[79]

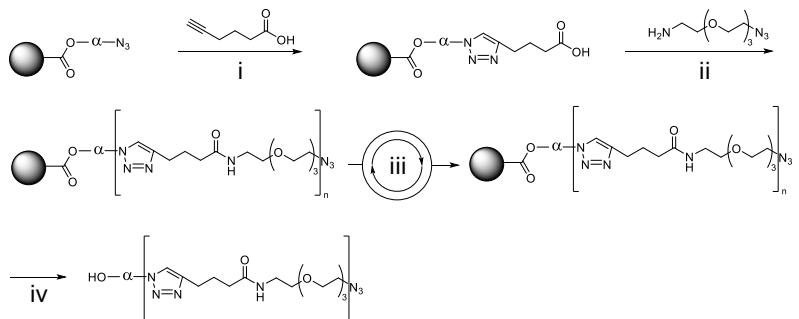


Schéma 2: Synthèse d'oligo(amide-triazole)s via une stratégie [AB] + [CD].

i: CuAAC ; ii: amidification ; iii: répétition itérative des étapes i et ii ; iv: hydrolyse. Le disque noir représente le support soluble en polystyrène. La lettre α représente le bras espacer clivable. Adapté d'après la référence [76].

La combinaison de la méthode phosphoramidite et du couplage radicalaire permet la synthèse de poly(alkoxyamine-phosphate)s. Une stratégie [AB] + [CD] ou [A] est un alcool, [B] un bromoalcane, [C] une phosphoramidite et [D] un nitroxyde peut ainsi être utilisée afin d'obtenir des octamères.^[80] Une stratégie [AB] + [CD] sur support solide mettant en jeu des réactions entre un alcool [A] et un isocyanate [C], et entre une thiolactone [D] et une amine [B] permet la synthèse de déca(amide-carbamate)s. L'ouverture de la thiolactone lors de la seconde étape permet la libération d'une fonction thiol qui réagit par addition de Michael sur un troisième monomère alcène, ce qui permet un contrôle de la chaîne latérale de l'oligomère final.^[81] De nombreuses autres combinaisons sont possibles, par exemple, la combinaison d'une réaction de Heck entre un iodobenzène [A] et un alcène [C] portant un benzaldéhyde [D], et d'une réaction de Horner-Wadsworth-Emmons entre [D] et une phosphine [B] permet la synthèse de tétramères conjugués sur support fluoré.^[82]

iv. Réactions multicomposants

Les réactions multicomposants mettent en jeu plusieurs réactifs qui vont, en une étape, former un produit unique. Deux stratégies permettent d'utiliser ce type de réaction dans la synthèse multi-étapes de polymères uniformes. Si un réactif portant une fonction [A] réagit dans une réaction multicomposants avec d'autres réactifs, dont un porte une

fonction [A] protégée, alors la répétition itérative d'étapes de réaction multicomposants et de déprotection permet la croissance unidirectionnelle de la chaîne de polymère. Cette stratégie s'apparente à la stratégie [AB] + [AB]. [A] peut aussi réagir dans une réaction multicomposants avec d'autres réactifs, dont un porte une fonction [C] non-réactive lors de cette première étape. La répétition itérative de cette réaction multicomposants et d'une réaction orthogonale d'une fonction [B] d'un monomère [AB] sur la fonction [C] permet la synthèse d'un polymère uniforme.

La réaction de Passerini à trois composants entre un acide carboxylique [A], un aldéhyde et un isocyanide entraîne la formation d'un carboxamide α -alkylé. Les structures des groupements carboxyle, alkyle et amide sont déterminées respectivement par les structures de l'acide, de l'aldéhyde et de l'isocyanide utilisés. En utilisant un aldéhyde portant une fonction alcène [C], il est possible d'utiliser la réaction de Passerini à trois composants dans une première étape et une addition d'un thiol [B] portant un acide carboxylique [A] dans une deuxième étape, afin de former un poly(ester-thioéter) uniforme. L'équipe de Meier décrit cette synthèse pour la formation d'un tétramère sur un support soluble de PEG.^[83] En utilisant un isocyanide portant une fonction éster benzylique [A], la même équipe rapporte la synthèse de décamères de polycarboxamides. Deux étapes itératives sont nécessaires, la première étant une P-3CR et la seconde la déprotection de l'ester benzylique [A] par hydrogénéation catalytique (Schéma 3).^[84]

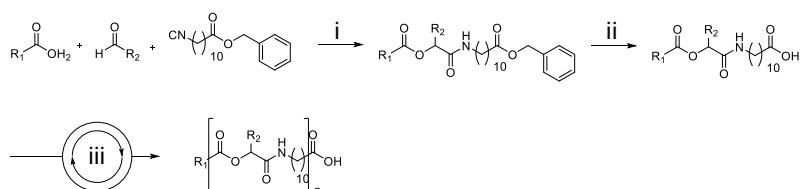


Schéma 3: Synthèse de polycarboxamides via l'utilisation d'une réaction multicomposants.

i: réaction de Passerini à trois composants ; ii: réduction ; iii: répétition itérative des étapes i et ii. Cette stratégie de synthèse est appliquée en solution. Adapté d'après la référence^[84].

La réaction de Ugi à quatre composants permet la synthèse d'un diamide α -alkylé. La structure de ce diamide est déterminée par la structure des quatre réactifs utilisés, à savoir un acide carboxylique [A], un aldéhyde, un isocyanide et une amine. En utilisant un aldéhyde portant une fonction alcène [C], il est possible d'utiliser séquentiellement la réaction de Ugi à quatre composants et une réaction d'addition d'un thiol [B] portant une fonction acide carboxylique [A] sur l'alcène afin de synthétiser des pentamères à séquences définies.^[85] Cette stratégie peut aussi être utilisée avec un acide carboxylique protégé [A] pour l'obtention de peptoides.^[86]

v. Approches sous-monomère

Commenté [BP1]:

Les approches sous-monomères $[AB] + [CC]$ ou $[AA] + [CC]$ reposent sur la réactivité séquentielle d'un sous-monomère [CC]. Dans une première étape, la fonction [A] réagit avec un sous-monomère [CC], produisant une nouvelle fonction $[A>CC]$ réactive qui ne pourra pas réagir avec [A] dans les conditions réactionnelles de la première étape. Une seconde étape consiste soit en l'ajout d'un monomère [AB], où [B] réagit avec $[A>CC]$, soit en l'ajout d'un monomère [AA] où [A] peut, dans les nouvelles conditions réactionnelles, réagir avec $[A>CC]$. Ces stratégies sont respectivement nommées $[AB] + [CC]$ et $[AA] + [CC]$. Dans le cadre de la stratégie $[AA] + [CC]$, la direction du monomère [AA] dans la chaîne principale n'est pas contrôlée.

Zuckermann^[87] propose l'utilisation de sous-monomères pour la synthèse d'oligoamides. Dans une stratégie $[AB] + [CC]$, une amine primaire [CC] réagit lors d'une première étape par substitution nucléophile sur un bromoalcane [A], produisant une amine secondaire. La réaction, lors d'une deuxième étape, de cette amine sur un acide carboxylique [B] halogéné en présence d'un réactif de couplage produit sélectivement une liaison amide. La répétition de ces deux étapes permet de produire des pentapeptides. Une autre approche, visant à synthétiser des polyamides primaires, met en jeu une stratégie où un anhydride cyclique [CC] est ouvert par une amine [A], puis une diamine symétrique [AA] est couplée à l'acide carboxylique résultant. Cette stratégie permet la synthèse de décamères.^[88]

Dans une autre approche $[AA] + [CC]$, Porel et Alabi^[89] produisent des oligothioethers. La réaction d'un thiol [A] avec un sous-monomère acrylamide allylique *via* une addition

de Michael catalysée par une phosphine permet l'addition sélective de [A] sur la fonction acrylamide. Une addition de Michael d'un dithiol [AA] sur la fonction alcène résultante de la première réaction permet, après répétition itérative de ces deux réactions, d'obtenir des octamères.

Grate et al proposent une synthèse d'hexamères de polytriazines ou une amine [A], greffée sur un support solide, réagit à température ambiante (t.a.) lors d'une première étape avec un sous-monomère, à savoir un chlorure cyanurique monosubstitué. Le chlorure cyanurique disubstitué résultant de cette addition/élimination n'est pas assez réactif pour réagir à nouveau avec une amine. Une seconde réaction, effectuée à température élevée entre un monomère [AA] et le produit de la première étape, permet l'obtention d'un cycle triazine portant une amine pouvant réagir lors de l'étape suivante.^[90]

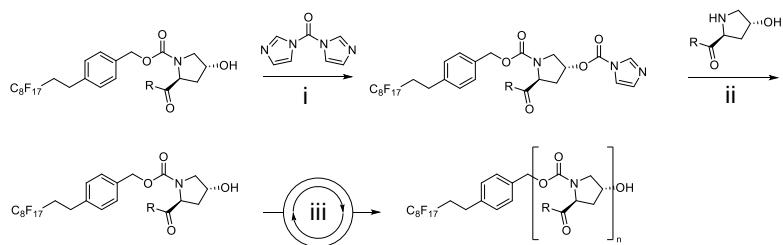


Schéma 4: Synthèse d'oligocarbamates *via* une approche sous-monomère.

i: addition/élimination ; ii: couplage ; iii: répétition itérative des étapes i et ii. Cette stratégie de synthèse utilise un support fluoré. Adapté d'après la référence^[93].

La synthèse d'oligocarbamates est aussi possible *via* la stratégie [AB] + [CC]. Afin de produire des XNA, Mungall et Kaiser^[91] optent pour une synthèse itérative en solution dans laquelle un premier monomère portant une fonction alcool primaire est activé par le chloroformiate de para-nitrophényle (PNPCOCl). Le carbonate activé produit réagit lors d'une seconde étape avec l'amine d'un monomère alcool aminé afin de donner un carbamate portant une fonction alcool primaire. Ces deux étapes sont répétées une fois. Cette stratégie est aussi utilisée, avec le remplacement de l'agent activateur par le carbonyldiimidazole (CDI), rendant les produits intermédiaires plus stables, pour la synthèse d'hexamères.^[92] Plus récemment, le groupe d'Anderson décrit la synthèse

de différents oligocarbamates sur support soluble fluoré en utilisant la même stratégie (Schéma 4).^[93]

Les stratégies de synthèse décrites dans ce chapitre sont les plus employées, néanmoins, il existe d'autres techniques élégantes, utilisant par exemple des rotaxanes^[94], des initiateurs/monomères,^[95] ou encore des mono-additions radicalaires avec transfert d'atomes sur des réactifs encombrés^[96] permettant le contrôle de la séquence dans des oligomères de structures chimique particulières.

IV. Auto-assemblage et propriétés des polymères à séquences définies

Les propriétés des polymères à séquences définies naturels sont directement liées à leur structure primaire. La complémentarité en séquence de deux ADN permet leur association en double hélice.^[97] La reconnaissance de séquences complémentaires par des ARN interférents permet de bloquer l'expression d'un gène^[98] ; elle permet aussi d'obtenir des structures tertiaires spécifiques donnant la faculté de catalyser des réactions à d'autres ARN non-codants.^[99] Les séquences des protéines sont des traductions des séquences d'ADN des gènes qui leur correspondent ; chaque protéine s'auto-assemble selon une structure tertiaire, voire quaternaire, en fonction de sa séquence. Cela va lui permettre d'effectuer une tâche biologique précise. Contrairement aux exemples biologiques, l'influence de la définition en séquence dans les polymères abiotiques sur leurs propriétés est une discipline peu explorée.^[100] Cela peut s'expliquer de plusieurs façons. Tout d'abord, l'étude de la relation séquence-propriété des polymères à séquences définies naturels est une discipline ayant un impact scientifique majeur, aussi, beaucoup d'efforts se sont concentrés sur ces exemples jusqu'à récemment. De plus, contrairement aux polymères à séquences contrôlées, la diversité de polymères à séquences définies abiotiques synthétisés à ce jour reste faible et les études se limitent souvent à la synthèse d'oligomères.^[101] Enfin, pour nombre d'applications, même non-biologiques, des molécules comme l'ADN ou les protéines sont des candidats de choix car leur synthèse est optimisée et leurs

propriétés étudiées. Cette sous-partie traite de l'influence de la définition en séquence sur les propriétés des polymères uniformes et des diverses applications envisagées pour ces derniers.

1) Influence de la séquence sur la structure secondaire

Le contrôle de la séquence d'une macromolécule permet théoriquement de contrôler sa structure tertiaire ou quaternaire. La complexité des systèmes rend malheureusement difficile l'étude de cette dépendance dans les matériaux pour des systèmes à haut DP. Des systèmes basés sur la complémentarité entre des donneurs (D_H) et des accepteurs (A_H) de protons sont étudiés depuis la fin des années 90. Un agencement précis des donneurs par rapport aux accepteurs est nécessaire à la formation d'un complexe, et donc d'une structure. Nowick et al décrivent la formation de feuillets béta intermoléculaires et en duplexe avec une molécule conçue pour former quatre liaisons hydrogène intramoléculaires et quatre liaisons hydrogène intermoléculaires.^[102] Zeng et al présentent une étude calorimétrique montrant qu'un duplexe formé entre deux oligoamides de séquences parfaitement complémentaires $A_HD_HA_HA_HD_HA_H$ et $D_HA_HD_HD_HA_HD_H$ est quarante fois plus stable qu'un couple $A_HD_HA_HA_HD_HA_H$ et $D_HA_HD_HD_HD_HD_H$, pour lequel une des liaisons hydrogène ne peut pas se former (Figure 10).^[103] Sur ce même principe, ils montrent que la formation de duplexes entre oligomères de séquences complémentaires permet de catalyser une réaction de métathèse entre deux fonctions alcènes portées à l'extrémité de ces mêmes oligoamides.^[104] Enfin, en mélangeant deux couples d'oligoamides de séquences complémentaires différentes, toutes modifiées en alpha et en oméga par des thiols, ils obtiennent uniquement deux produits macrocycliques correspondant aux réactions des oligomères de séquences complémentaires entre eux.^[105] Ces études prouvent que le contrôle de la séquence permet le contrôle de la structure secondaire.

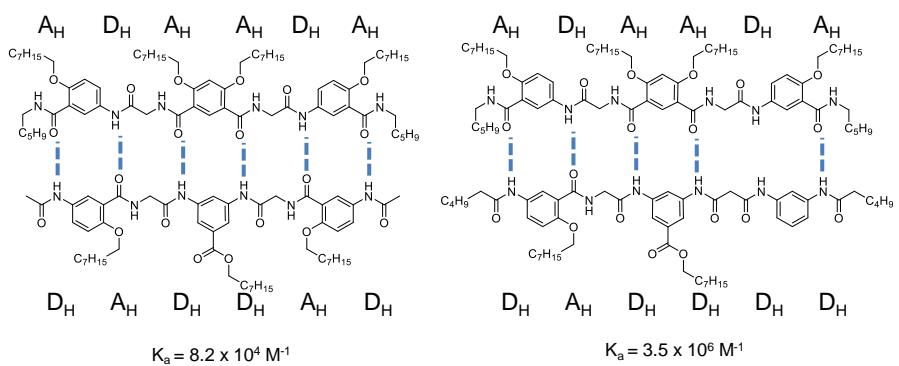


Figure 10: Structures de complexes de séquences complémentaires (gauche) et non-complémentaires (droite) de donneurs et accepteurs de protons.

Les pointillés bleus soulignent les liaisons hydrogène. La constante d'affinité de chaque complexe a été déterminée par titrage calorimétrique isotherme. Adapté d'après la référence [103].

2) Foldamères

Les foldamères sont des polymères dont la structure est induite par la séquence.^[106] Théoriquement, un foldamère est une molécule dont la séquence est répartie en domaines. Chaque domaine est conçu pour se replier selon une structure secondaire.^[107] L'association ordonnée des différentes structures secondaires donne une structure tertiaire. En se basant sur les interactions entre donneurs et accepteurs de protons, sur les interactions π , les liaisons ioniques et les forces de van der Waals, de nombreux types d'oligomères sont conçus afin de s'auto-assembler selon une structure secondaire précise. Des oligomères formés de monomères de type amide aromatique peuvent par exemple s'auto-assembler en hélices de pas différents. Le groupe de Huc montre récemment l'optimisation de la séquence d'un foldamère composé d'amides aromatiques, pour que sa structure en hélice asymétrique forme un complexe sélectif avec le β -D-fructopyranose.^[108] La modification, la suppression ou l'ajout d'un monomère à la séquence optimisée entraîne une baisse de la sélectivité ou de l'affinité du foldamère pour ce sucre.

3) Influence de la séquence sur les propriétés biologiques

a. Analogues fonctionnels de peptides

La plupart des foldamères sont conçus afin de mimer l'action de peptides. Les peptides sont des exemples de foldamères biologiques: les peptides s'assemblent selon des structures secondaires différentes en fonction de l'ordre relatif des acides aminés qui les composent. L'assemblage de différentes structures secondaires en une structure tertiaire au sein d'une protéine permet à cette dernière d'effectuer une fonction spécifique. Les analogues fonctionnels de peptides, ou peptidomimétiques, miment l'action de peptides naturels. Les modifications structurelles apportées à un peptidomimétique par rapport au peptide analogue ont pour but de modifier ses propriétés physico-chimiques, afin d'améliorer ses propriétés biologiques, souvent pharmacocinétiques.^[109]

Plusieurs stratégies de conception de peptidomimétiques coexistent. Si la structure secondaire ou tertiaire du peptide d'intérêt est connue, alors il est possible de concevoir un foldamère ayant une structure tertiaire similaire à celle du peptide. Différents types de polymères à séquences définies sont utilisés dans cette approche. Par exemple, l'action de peptides antibactériens composés de séquences d'acides aminés cationiques s'assemblant en hélices alpha peut être sélectivement mimée par des β -peptides.^[110] Ces molécules, composées d'acides β -aminés liés par des amides, forment aussi des hélices. Elles ont pour avantage sur les peptides naturels de ne pas être reconnues par les protéases et donc d'être plus stables dans le milieu biologique.

Si la séquence du peptide est connue, il est possible de mimer son action via l'utilisation d'un analogue de squelette ayant la même séquence de chaînes latérales. En remplaçant les acides aminés de série L d'une enzyme par des acides aminés de série D le groupe de Kent montre que l'enzyme non-naturelle est sélective du substrat isomère optique de celui de l'enzyme naturelle.^[111] Les peptidomimétiques ne se limitent pas à des polymères constitués d'acides aminés. Par exemple, l'oligourée (Figure 11) et l'oligocarbamate analogues de squelette du peptide naturel Tat inhibent

tous trois compétitivement l'interaction de ce dernier avec les ARN du virus de l'immunodéficience humaine.^[112]

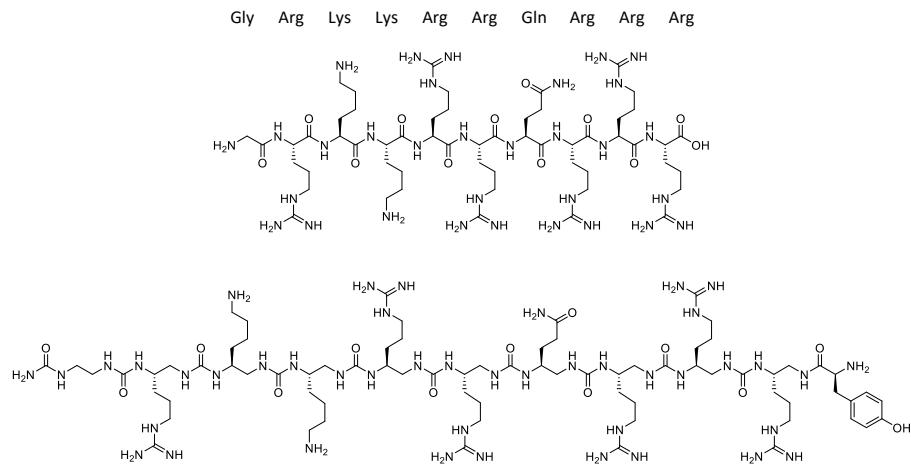


Figure 11: Peptide naturel Tat (haut) et oligourée analogue de squelette (bas).

Adapté d'après la référence ^[112].

b. Analogues d'acides nucléiques

Les XNA sont des analogues d'acides nucléiques qui miment l'action ces derniers. Il en existe de deux types: les analogues de squelette dans lesquels le sucre ou le groupe phosphate de la chaîne principale sont modifiés, et les analogues de bases dans lesquels des bases non-naturelles sont ajoutées aux quatre bases naturelles.^[113] L'application recherchée dans le cas d'un analogue de squelette est de mimer l'action d'un ADN ou d'un ARN tout en modifiant ses propriétés. L'intérêt est souvent d'obtenir une molécule non chargée qui va pourvoir pénétrer les membranes biologiques. La chaîne principale peut par exemple être modifiée en polyamide afin de donner des PNA, qui forment des dimères PNA-ADN plus stables que les dimères naturels ADN-ADN.^[114] En fonction de la séquence du PNA, celui-ci peut ainsi être utilisé comme analogue d'un ARN interférant ou d'un ADN.^[115] Dans le cas des analogies de bases, des nouveaux couples de bases formant des bp entre elles sont insérées dans un ADN. Il en résulte des codes génétiques étendus comportant plus de quatre bases.^[116]

4) Stockage de données

Outre le fait de coder pour des structures secondaires et tertiaires précises, la séquence d'un polymère uniforme permet aussi de contenir de l'information. En effet, si un signe est attribué à chaque type d'unité répétitive constituant la séquence d'une telle macromolécule, alors la structure primaire d'un polymère défini en séquence peut être considérée comme une suite ordonnée de signes. Un message peut être inscrit dans ce polymère si cette suite de signes correspond à un code. Par exemple, l'ADN stocke, avec seulement quatre monomères différents, l'information génétique. Le décodage de sa séquence par la machinerie cellulaire permet la synthèse des multiples protéines qui assurent les diverses fonctions nécessaires à la vie. Outre le cas spécifique de l'ADN et du code génétique, un polymère à séquence définie peut théoriquement être le support de tout code imaginable, la limite étant la possibilité de synthétiser le polymère désiré. Par exemple, un copolymère à séquence définie composé de deux monomères distincts, arbitrairement définis comme « bit 0 » et « bit 1 », peut, si sa séquence est conçue pour cela, contenir de l'information binaire. Les molécules répondant à cette définition sont appelées polymères numériques (Figure 12).^[117]

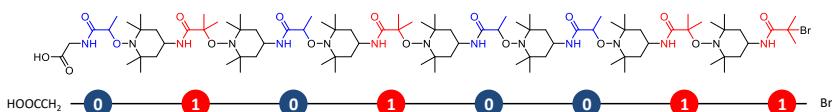


Figure 12: Structure d'un oligo(alkoxyamine-amide) numérique encodant un octet d'information.

Adapté d'après la référence^[78].

Le processus d'écriture d'un message dans un polymère numérique se décline en plusieurs étapes: 1) traduction du message en langage binaire, 2) traduction du langage binaire en séquence de polymère, 3) synthèse du polymère désiré. Une des conditions pour pouvoir appliquer concrètement les polymères pour le stockage de données est de pouvoir récupérer le message. Pour ce faire, il est nécessaire de posséder une technique d'analyse permettant de remonter à la séquence du polymère,

aussi appelé technique de séquençage. Les différentes techniques de séquençage de polymères à séquences définies sont développées dans le sous-chapitre dédié page 42.

a. Stockage sur ADN

En 1988, Joe Davis réalise la première démonstration d'écriture d'un message dans une macromolécule, plus précisément dans de l'ADN plasmidique voué à être transformé dans une bactérie.^[2] Le message, à savoir une image, est tout d'abord traduit en une bitmap de 35 bits. La séquence obtenue est à son tour traduite dans un code utilisant les quatre bases de l'ADN. La séquence finale, contenant 28 bp est synthétisée (Figure 13) et insérée dans un plasmide ; ce dernier est finalement transformé dans différentes souches d'*E. coli*. Dans cet exemple, l'auteur utilise la réPLICATION de l'ADN d'une génération de bactérie à une autre comme garant de la conservation du message dans le temps. Comme preuve de ce concept, le message est retrouvé par séquençage de l'ADN après deux ans de culture des bactéries transformées. L'équipe de Wong reprend cette méthode dans une étude où le message est encodé dans sept séquences d'ADN double brin contenant entre 57 et 99 bp.^[118] Ces polymères sont incorporés concomitamment dans l'ADN génomique d'une colonie de *D. radiodurans*. Chaque individu de la colonie devient ainsi porteur d'une partie du message qu'il transmet à sa descendance. L'intégralité du message est retrouvée après environ 100 cycles de réPLICATION de la colonie en séquençant l'ADN de différents individus.

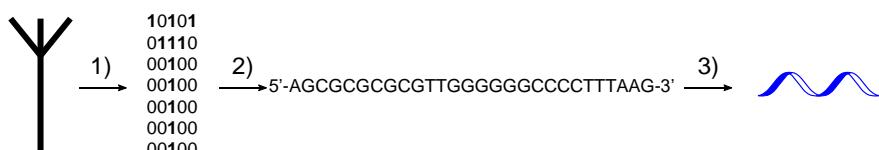


Figure 13: Principe d'encodage d'un message dans un polymère.

1) traduction de l'image en bitmap 2) traduction de la bitmap en séquence d'ADN codé 3) synthèse de l'ADN désiré. Adapté d'après la référence^[2].

Le désavantage majeur à l'utilisation de l'ADN d'un hôte vivant et de sa descendance comme support d'un message est le risque de mutation. Une mutation apparaît lors du processus de réPLICATION lorsque l'ADN polymérase n'insère pas le bon acide nucléique sur le brin en formation et que cette erreur n'est pas corrigée par la machinerie cellulaire. Si la mutation n'est pas délétère pour l'organisme, elle se transmet de génération en génération. La chance de voir le message encodé corrompu par une mutation dépend directement de la longueur de ce dernier et du nombre de cycles de réPLICATION de l'organisme. Risca et al encodent pour la première fois en 1999 une phrase dans un ADN simple brin de 110 nt^[119] ; c'est cependant l'équipe de Church qui démontre en premier le potentiel des polymères à séquences définies pour le stockage d'information en rapportant l'encodage de 5 mégabits de données dans 54 898 brins d'ADN constitués de 159 nt chacun.^[13] Pour retrouver l'information encodée, chaque brin d'ADN se compose de quatre domaines distincts : un domaine de 96 nt destiné à stocker l'information, le code utilisé étant le langage ASCII binaire, avec A et C codant pour « bit 0 » et G et C codant pour « bit 1 », deux domaines de 22 nt servant à amplifier la séquence pour la lecture et un domaine de 19 nt donnant la localisation de la séquence parmi tous les ADN utilisés. L'information est retrouvée par séquençage de nouvelle génération (NGS). Théoriquement, l'ADN étant composé de 4 monomères différents, il est possible d'encoder 2 bits d'information par monomère. Or, la composition de certaines séquences peut entraîner des erreurs dans la synthèse ou dans le séquençage ; c'est le cas des séquences riches en C et en G ou des séquences homopolymériques de plus de 4 nt. Pour utiliser l'ADN comme moyen de stockage de données, il est donc nécessaire de traduire le message binaire en séquence ADN ne comportant pas ce type de séquences. Le groupe de Erlich utilise un algorithme qui permet de construire des séquences d'ADN dans lesquelles sont insérées de façon aléatoire des A ou des T et de rejeter systématiquement l'utilisation de séquences homopolymériques et de séquences riches en G et C. Il obtient ainsi des brins d'ADN encodant pour 1.98 bits par monomère.^[120]

b. Stockage sur polymères abiotiques

La synthèse et le séquençage sont actuellement plus aisés pour l'ADN que pour toute autre classe de polymère uniforme. L'ADN est de ce fait un excellent candidat en vue de créer des nouveaux systèmes de support d'information. Néanmoins, comme toute classe de molécules, il comporte des désavantages qui sont intrinsèques à sa structure chimique. L'hydrolyse des bases puriques,^[121] peut détériorer sa structure primaire et donc compromettre l'information contenue. Une des solutions pour résoudre ce problème est d'enrober l'ADN dans une matrice de silice, augmentant sa demi-vie d'un facteur cent.^[122] Une autre possibilité est de trouver, parmi tous les types de polymères à séquences définies théoriquement synthétisables, une classe qui soit un meilleur candidat pour le stockage d'information que l'ADN.^[123] C'est ce que propose le groupe de Lutz à partir de 2013^[124] en concevant et en synthétisant diverses classes d'oligomères ou de polymères numériques, notamment des poly(phosphodiester)s^[67] ne portant pas de bases de l'ADN, et de ce fait pas de sites de dépurination. D'autres polymères numériques abiotiques, comme des oligo(triazole-amide)s^[125] ou des poly(alkoxyamine-amide)s^[79] ont pu être synthétisés et séquencés.

Dans ces exemples, les polymères synthétisés se composent de deux monomères se distinguant l'un de l'autre par la présence ou l'absence de groupe méthyle sur leur chaîne latérale. Le monomère de masse moléculaire la plus élevée est défini comme « bit 1 » et l'autre comme « bit 0 ». La structure chimique de chaque classe de polymères capables de stocker de l'information binaire lui confère des avantages et des désavantages. En reprenant la méthode phosphoramidite, il est possible de synthétiser des poly(phosphodiester)s ayant un DP supérieur à 100^[68] (Figure 14), ce qui est suffisant, comme démontré par Church, pour encoder des mégabits d'information. En revanche, il est difficile de séquencer ces molécules. Les poly(alkoxyamine-amide)s^[79] quant à elles présentent des liaisons labiles facilement fragmentables en spectrométrie de masse en tandem ce qui permet leur séquençage. Il est possible de combiner les avantages de ces deux classes de molécules en synthétisant des poly(alkoxyamine-phosphodiester)s.^[80] La synthèse de poly(phosphodiester)s contenant des liaisons alkoxyamine après chaque octet d'information permet ainsi d'obtenir des longs polymères aisément séquençables.^[5]

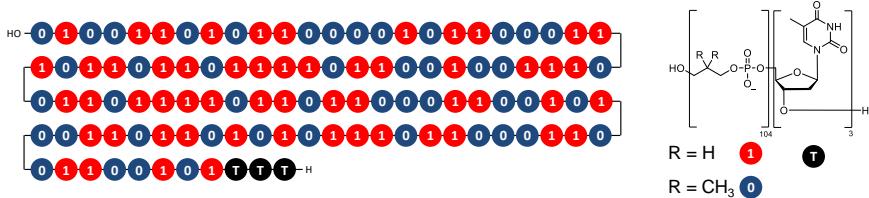


Figure 14: Structure d'un poly(phosphodiester) encodant le mot « Macromolecule » en langage ASCII.

Adapté d'après la référence [68].

Le nombre de monomères pouvant rentrer dans la composition de polymères abiotiques n'est pas limité. L'obtention de systèmes à 2 bits d'information par unité répétitive est possible via l'utilisation de deux monomères codants avec une stratégie de synthèse $[AB] + [CD]$.^[126] En utilisant quinze monomères différents, l'équipe de Du Prez obtient un système à 3.9 bits par unité répétitive.^[127] L'équipe de Meier met en évidence l'exemple illustré par la Figure 15, où 13122 monomères différents sont utilisés. Chaque unité répétitive code dans ce cas pour 13.7 bits.^[6]

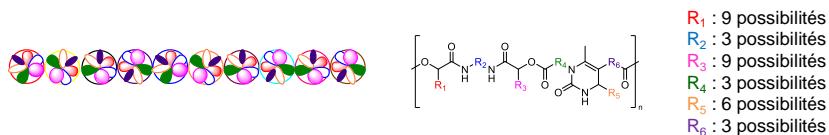


Figure 15: Système abiotique codant pour 13.7 bits par unité répétitive.

Adapté d'après la référence [6].

c. Densité d'information

L'avantage majeur d'encoder de l'information dans des macromolécules réside dans la grande densité d'information incorporable. En effet, la densité des systèmes informatiques les plus compacts de stockage de données utilisés en 2015 était de $4.2 \times 10^7 \text{ bit.mm}^{-3}$,^[7] et la densité théorique maximale d'information stockable dans ces mêmes systèmes est de l'ordre de $10^{13} \text{ bits.mm}^{-3}$.^[128] Dans les polymères, les différents monomères sont séparés par des distances à l'échelle moléculaire ; la longueur de liaison entre deux carbones sp^3 dans une chaîne aliphatique étant de 1.54

Å, la distance entre deux unités répétitives d'un polymère est de l'ordre du nanomètre. La densité d'information maximale théoriquement stockable dans de l'ADN est de ce fait de 3.6×10^{18} bits.mm⁻³, soit 10^{11} fois supérieure à celle contenue dans les systèmes de stockage actuels. L'utilisation de polymères comporte deux autres avantages par rapport aux systèmes de stockage actuels: ils ne nécessitent pas d'énergie de maintenance et leur durée de vie est considérablement plus longue que celle d'un disque dur.^[129] Néanmoins, les méthodes actuelles de synthèse et de séquençage de polymères à séquences définies sont coûteuses à la fois en temps et en argent ce qui pose deux problèmes majeurs: le temps d'écriture de l'information et l'aisance d'accès à ces informations. Dans l'état actuel des connaissances scientifiques, la recherche s'oriente vers l'utilisation des polymères numériques comme des systèmes de stockage des données à long terme.^[130]

d. Etiquettes moléculaires

Une autre application intéressante ne nécessitant ni l'écriture ni la lecture rapide de l'information encodée est l'utilisation de polymères à séquences définies comme étiquettes moléculaires. D'après un rapport de l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques, la valeur des biens contrefaits importés en 2013 était estimée à 2.5 % de la valeur totale des biens exportés dans le monde.^[131] Outre la perte financière pour les états et les entreprises, la contrefaçon de produits pharmaceutique pèse à elle seule entre 150 et 200 milliards de dollars US, soit entre 30 et 40 % du commerce de contrefaçon. Les conséquences de contrefaçons dans ce domaine peuvent être graves. D'après une étude de 2014, la consommation de pilules antipaludiques contrefaites entraîne la mort de 450 000 personnes par an.^[132] L'intérêt de développer des méthodes difficilement contrefaisables pour tracer des produits est donc grandissant, notamment dans le secteur de l'industrie pharmaceutique. Une des solutions proposées pour les technologies anti-contrefaçon de prochaine génération est d'intégrer à l'emballage du produit à protéger, voire au produit lui-même, un marqueur chimique invisible à l'œil nu et donc difficile à contrefaire.^[133] Différentes approches sont envisagées par la communauté scientifique afin d'obtenir de tels marqueurs.^[134] Des peptides^[135] et des séquences d'ADN^[3] sont déjà commercialisés

afin de servir d'étiquettes moléculaires. Des polymères à séquences définies abiotiques peuvent théoriquement en faire autant^[9] ; la diversité de structures chimiques imaginables pour de tels applications est une nouvelle fois un avantage des polymères abiotiques car il est possible d'obtenir des molécules chimiquement stables et rentrant aisément la formulation de matériaux hybrides.

V. Séquençage de polymères à séquences définies

Le séquençage d'une macromolécule est le recouvrement de sa structure primaire à l'aide d'une méthode d'analyse dédiée. La plupart des techniques de séquençage proviennent des recherches menées sur les biomolécules. Elles sont donc optimisées pour ce type de structures. Néanmoins, la majorité de ces techniques sont adaptables à toutes classes de polymères uniformes. Ce sous-chapitre est dédié aux différentes techniques universelles de séquençage. Les méthodes enzymatiques de séquençage spécifiques aux acides nucléiques, comme la méthode de Sanger ou les méthodes NGS,^[136] ne sont pas décrites.

1) Méthodes chimiques

Le clivage séquentiel de monomères par réactions itératives sur un polymère uniforme est utilisé afin de déterminer la séquence des protéines. L'intérêt de déterminer la séquence de ces macromolécules a permis le développement de plusieurs techniques de dépolymérisation contrôlée, par l'extrémité C-terminale et par l'extrémité N-terminale.

a. Méthode de Bergmann

La méthode de Bergmann est la première technique d'analyse par dégradation chimique permettant de remonter à la séquence intégrale d'un peptide.^[137] C'est une méthode qui permet, grâce à une série de réactions itératives, de cliver consécutivement les acides aminés de l'extrémité C-terminale du peptide. Elle nécessite la protection préalable de l'extrémité N-terminale. L'acide carboxylique en bout de chaîne C-terminal est tour à tour converti en amide, en hydrazide et en azoture

d'acyle *via* trois réactions successives. Le réarrangement de cet azoture d'acyle en présence d'alcool benzylique forme un carbamate. Ce dernier peut être réduit par hydrogénéation catalytique afin d'obtenir deux produits, un aldéhyde portant la chaîne latérale du monomère C-terminal clivé et le dérivé amide du peptide résiduel. Cet amide peut subir itérativement les différentes étapes du cycle de dégradation afin de cliver les acides aminés un à un et de retrouver la séquence du peptide (Schéma 5).

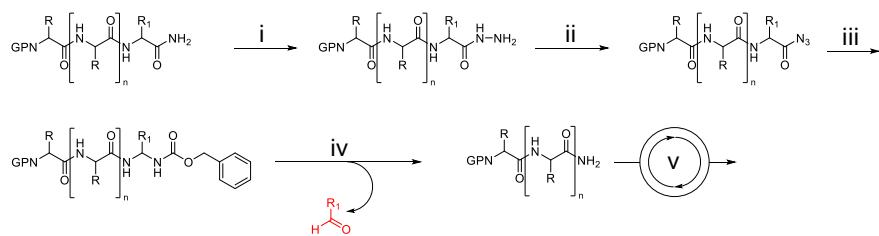


Schéma 5: Dégradation de Bergmann.

i: hydrazine ; ii: nitrite de sodium puis HCl ; iii: alcool benzylique ; iv: hydrogénéation catalytique ; v: répétition itérative des étapes i, ii, iii et iv. Adapté d'après la référence [137].

b. Dégradation d'Edman

La dégradation d'Edman permet le clivage sélectif de l'acide aminé N-terminal de la chaîne peptidique, sans provoquer la dégradation de cette dernière.^[138] Contrairement à la méthode préalablement développée par Sanger qui ne permet que de déterminer la nature de l'acide aminé N-terminal,^[139] la dégradation d'Edman peut être répétée itérativement sur le même peptide afin de le séquencer. Cette procédure repose sur deux étapes successives. La première est l'addition de l'amine N-terminale sur l'isothiocyanate de phényle. Elle conduit à la formation d'une thiourée qui réagit lors d'une seconde étape par addition/élimination en milieu acide sur la fonction amide la plus proche, qui lie l'acide aminé N-terminal avec le reste du peptide. Les deux produits de la réaction sont séparés. L'hétérocycle formé, portant la chaîne latérale du monomère clivé lors de la seconde étape est analysé ; le peptide résiduel quant à lui

est soumis itérativement au cycle réactionnel, afin de retrouver sa séquence, monomère par monomère (Schéma 6).

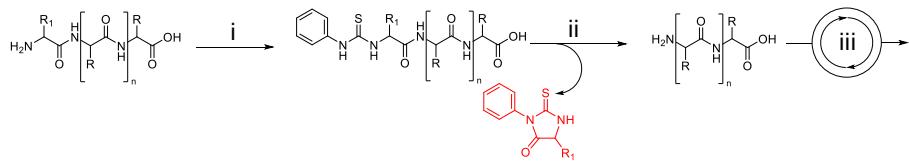


Schéma 6: Dégradation d'Edman.

i: isothiocyanate de phényle ; ii: HCl ; iii : répétition itérative des étapes i et ii. Adapté d'après la référence [138].

2) Nanopores

Un nanopore est un trou nanoscopique situé sur une membrane séparant deux chambres contenant des solutions d'électrolytes (Figure 16). Ces pores peuvent être des protéines transmembranaires, des trous physiques, ou des systèmes hybrides.^[140] Lors de l'application d'un courant électrique de part et d'autre de la membrane, un nanopore permet aux ions de migrer d'une chambre à l'autre. L'interaction d'une macromolécule avec le pore perturbe le flux ionique pendant une certaine durée, entraînant une baisse d'intensité du courant de part et d'autre de la membrane. Un polymère uniforme perturbe le courant avec une durée d'évènement et une différence d'intensité qui lui sont propres. En faisant interagir différentes macromolécules d'une même classe et de séquences connues avec un nanopore, il est possible, de déterminer empiriquement une relation séquence/perturbation du signal. Reiner et al déterminent par exemple le DP de polyéthylène glycol (PEG) interagissant avec un nanopore.^[141] Plus le DP du PEG est élevé, plus le pore est physiquement bloqué et plus la perturbation du flux ionique est importante. Outre les PEG, les acides nucléiques sont séquençables par nanopore.^[142] Le séquençage d'autre molécules comme les protéines est pour l'instant impossible par cette méthode, chaque protéine perturbant le signal d'une façon qui lui est propre.

Le séquençage de macromolécules par nanopores propose des avantages non négligeables sur les autres techniques actuellement disponibles. C'est une technique très sensible, non destructive et qui permet le séquençage rapide de polymères de haut poids moléculaire. Néanmoins, elle demande une optimisation de multiples paramètres pour chaque classe d'analyte. Une méthode de post-modification de polyphosphates à séquences définies récemment décrite peut permettre le criblage de molécules non-naturelles candidates au séquençage par nanopore.^[143]

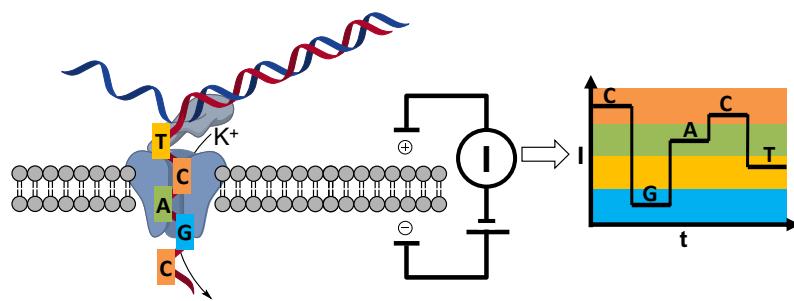


Figure 16: Représentation schématique du séquençage de l'ADN par nanopore.

3) RMN bidimensionnelle

L'étude de la structure primaire des protéines est possible par RMN pour des peptides allant jusqu'à 100 de DP. La méthode la plus répandue est de combiner les résultats d'expériences de spectroscopie à corrélation totale (TOCSY) et de spectroscopie basée sur l'effet Overhauser nucléaire (NOESY). La TOCSY renseigne sur les couplages entre les spins des protons via les liaisons covalentes dans chaque système de spin. Dans le cadre des protéines, les différents monomères appartiennent chacun à un système de spin ; des interactions sont donc observées entre le proton de chaque amide (H^N) et le proton du carbone en alpha (H^α) et les protons de la chaîne latérale. L'expérience TOCSY permet ainsi d'attribuer une chaîne latérale à chaque H^N et d'identifier le type de chaque monomère en fonction du déplacement chimique et du nombre de protons de chaque système de spin. La NOESY permet d'observer les couplages des spins dans l'espace, l'intensité de ces couplages étant dépendant de la distance entre deux protons. Une corrélation entre le spin du H^N de l'acide aminé en

position n avec le spin du H^α de l'acide aminé en position n-1 est observée. En observant les différentes corrélations dans l'espace, la position relative des monomères est déterminable. En combinant les résultats obtenus par TOCSY et NOESY, il est possible de déterminer la position et la nature de chaque acide aminé de la chaîne, comme représenté sur la Figure 17.^[144]

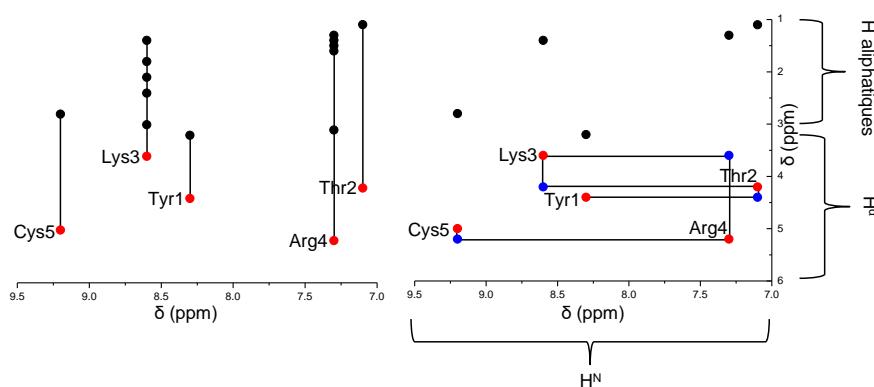


Figure 17: Spectres théoriquement obtenus par TOCSY (gauche) et NOESY (droite) pour la détermination de la séquence du peptide Tyr-Thr-Lys-Arg-Cys.

Les points rouges représentent les corrélations entre les protons H^α et NH d'un même acide aminé, les points noirs représentent les corrélations entre les NH et les protons des chaînes latérales et les points bleus représentent les corrélations entre les NH et les H^α de monomères adjacents.

4) Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse (MS) est une technique d'analyse discriminant des ions en fonction de leur rapport masse sur charge (m/z). Elle est fréquemment employée en chimie analytique car elle permet, en plus de séparer les différents produits contenus dans un échantillon, d'obtenir pour chacun le m/z caractéristique de leur structure chimique. Dans un premier temps, les différents constituants de l'échantillon sont ionisés. Deux techniques permettant l'ionisation des molécules dans des conditions relativement douces sont utilisées à large échelle, la désorption-ionisation laser assistée par matrice (MALDI) et l'ionisation par électronébulisation (ESI). Dans le cas de la MALDI, l'irradiation d'un mélange composé d'une matrice et de l'échantillon à

analyser par un laser provoque son ionisation et son passage en phase gazeuse. L'ESI consiste à appliquer un potentiel électrique à la sortie d'un capillaire dans lequel une solution contenant l'échantillon s'écoule, nébulisant cette solution en fines gouttelettes qui sont portées à haute température afin d'évaporer le solvant. Il existe différents types d'analyseurs qui séparent dans un second temps les ions en fonction de leur m/z de manières différentes. Les ions arrivant dans un analyseur temps de vol (TOF) se voient appliquer une tension qui les accélère de façon inversement proportionnelle à leur m/z . S'en suit leur parcours dans un tube de vol et leur arrivée sur un détecteur, les ions arrivant en premier ayant eu l'accélération initiale la plus importante ont donc le m/z le plus faible. L'analyseur quadripolaire est aussi fréquemment utilisé en chimie. Il est composé de quatre électrodes disposées de façon parallèle entre lesquelles vont circuler les ions à analyser et d'un détecteur. Deux électrodes opposées sont soumises à un même potentiel, résultant de l'addition d'un courant continu (cU) et d'un courant alternatif (cV), les deux électrodes qui leur sont adjacentes sont soumises au potentiel inverse, ce qui crée un champ électrique quadripolaire. La trajectoire de chaque ion va alors osciller avec une amplitude dépendant de son m/z . Ainsi, pour un certain ratio cU/cV , seuls certains ions pourront parcourir le chemin jusqu'au détecteur, les autres entrant en collision avec les électrodes. En faisant varier cU/cV , il est possible d'analyser le m/z de tous les ions entrant dans l'analyseur. L'analyseur quadripolaire peut aussi servir à sélectionner un ion de l'échantillon, appelé ion précurseur, afin de le fragmenter et d'analyser les ions résultant de cette fragmentation. Pour ce faire, le détecteur est remplacé par une chambre de fragmentation, connectée à sa sortie avec un second analyseur, c'est la spectrométrie de masse en tandem. La méthode de fragmentation la plus courante en chimie est la dissociation induite par collision où l'ion précurseur sélectionné est accéléré par une tension afin d'augmenter son énergie cinétique avant de rentrer en collision avec des molécules de gaz inerte. Ces collisions entraînent des ruptures de liaisons covalentes dans l'ion précurseur et génèrent une nouvelle série d'ions qui va pouvoir être analysée par MS (Figure 18).

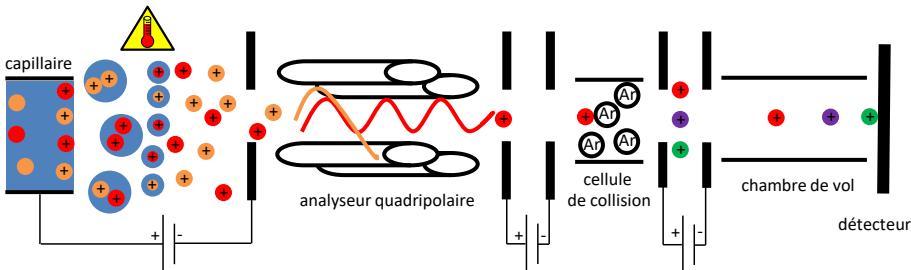


Figure 18: Représentation schématique d'une expérience ESI-quadrupole/TOF.

Plus l'énergie d'une liaison est élevée, plus l'ion précurseur devra être accéléré pour entraîner sa rupture. Pour un ion composé d'unités répétitives comme un polymère il est possible de réduire cette accélération au minimum afin d'obtenir la fragmentation des liaisons les plus faibles de la structure. Le spectre de fragmentation d'un polymère de structure primaire connue est de ce fait prévisible. De même, la séquence d'un polymère peut être retrouvée à partir de son spectre de fragmentation, comme illustré pour un peptide dans la Figure 19. La technique de séquençage par MS/MS permet de déterminer la structure primaire de polymères naturels^[145] et abiotiques.^[10]

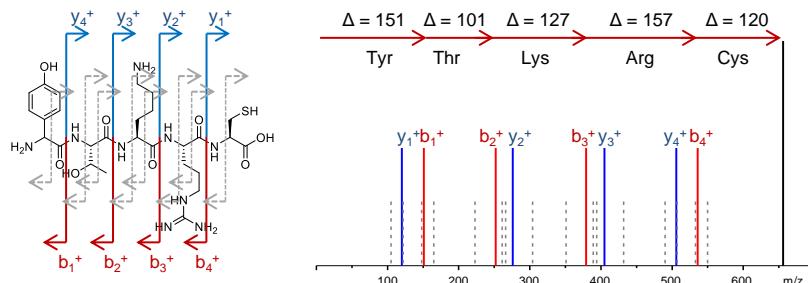


Figure 19: Représentation schématique de la fragmentation par MS/MS d'un peptide de séquence Tyr-Thr-Lys-Arg-Cys (gauche) permettant la reconstitution d'un spectre MS/MS du même peptide (droite).

L'abondance ionique des ions des séries b_n^+ (rouge) et y_n^+ (bleu) sont représentées par des traits pleins. Les flèches rouges représentent la différence de m/z entre les deux fragments consécutifs de la série b_n^+ ($\Delta m/z$). Les pointillés représentent des ions issus de fragmentations d'occurrences mineures.

En plus de permettre la détermination de la séquence des polymères, la spectrométrie MS/MS permet aussi d'explorer la configuration des unités constitutantes. En effet, deux diastéréoisomères sont différenciables par MS/MS ; l'isomère le plus stable dans les conditions de fragmentation utilisées produit moins de fragments que l'isomère le moins stable.^[146] En d'autres termes, à une énergie de fragmentation donnée, le nombre de molécules fragmentées est d'autant plus grand pour un isomère que sa stabilité dans les conditions de l'expérience est basse. Dans le cas des peptides, dont tous les carbones asymétriques sont naturellement de série L, l'étude empirique de spectres MS/MS permet l'identification d'acides aminés non-naturels de série D dans la séquence. L'introduction d'un tel monomère dans un peptide induit un changement de la structure de la molécule et donc de la stabilité relative des différentes liaisons peptidiques. Ainsi, l'introduction d'un glutamate de série D en position 4 dans le peptide 406-423 de la lactoferrine entraîne une augmentation du rapport d'intensité entre les fragments c_{14}^+ et z_{14}^+ (Figure 20).^[147]

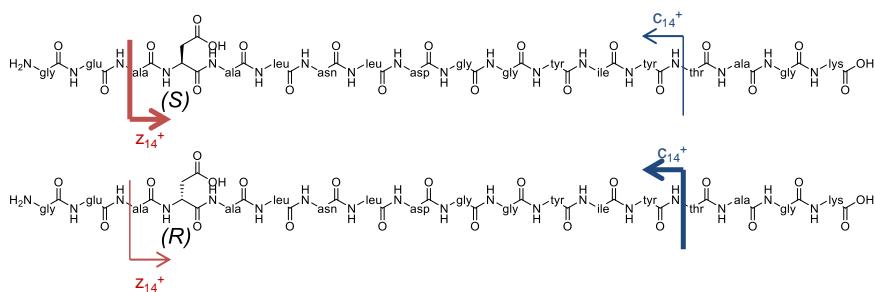


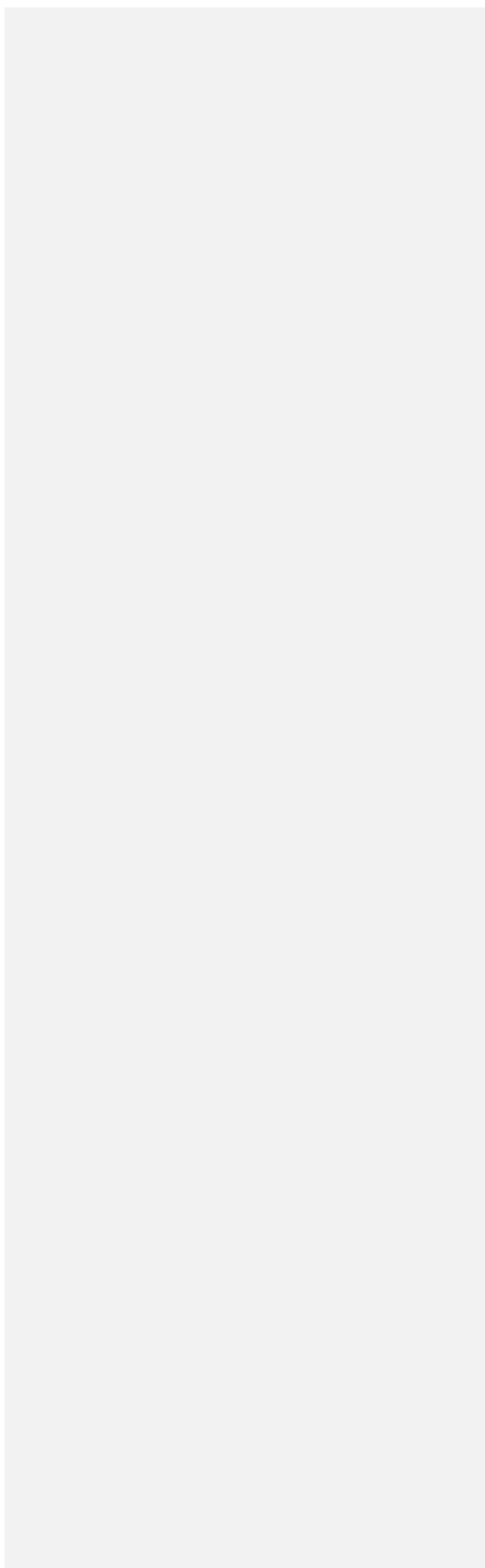
Figure 20: Fragmentation du peptide naturel 406-423 de la lactoferrine (haut) et de son isomère non-naturel (bas).

L'épaisseur des flèches est corrélée aux nombres fragments. Adapté d'après la référence [147].

Dans le cas des peptides, le repliement tridimensionnel des molécules est guidé par les liaisons hydrogène entre les fonctions amides mais aussi par les interactions entre les différentes chaînes latérales. Le changement de configuration d'un monomère modifie la structure tertiaire de la molécule et peut ainsi impacter la stabilité des liaisons peptidiques à la fragmentation pour des unités constituantes éloignées sur la séquence. L'identification de la position de l'acide aminé modifié est donc difficile.

Chapitre II:

Synthèse de polycarbamates à séquences définies



I. Introduction

Ce chapitre est consacré au développement d'une stratégie de synthèse efficace permettant l'obtention de polycarbamates uniformes contenant de l'information, en vue de leur utilisation comme étiquettes moléculaires. Les polyuréthanes, ou polycarbamates, rentrent dans la composition de nombreux objets, ils sont donc de bons candidats pour une telle application. Ces polymères sont principalement utilisés dans l'industrie en tant que mousse d'isolation ou de remplissage mais aussi en tant que peintures ou vernis.^[148] Les polyuréthanes sont un type de matière plastique couvrant un large spectre de propriétés physiques et peuvent ainsi rentrer dans la composition de matériaux hybrides. Les polycarbamates sont en général synthétisés par polycondensation d'un diol et d'un diisocyanate. Cette stratégie de synthèse ne peut être utilisée pour synthétiser des polymères à séquences définies car elle produit des polymères non uniformes et ne permet pas de contrôler la position relative des différents monomères. Comme indiqué dans le Chapitre I, pour qu'un polymère puisse contenir de l'information, il doit vérifier certaines caractéristiques: il doit être uniforme, contenir au moins deux monomères différents, et la position relative de ces derniers doit pouvoir être choisie par l'expérimentateur.

Des polycarbamates à séquences définies peuvent être synthétisés *via* différentes stratégies. Chacune comporte des avantages et des désavantages. Pour cette étude, une stratégie basée sur un sous-monomère a été choisie. Elle permet à la fois d'éviter les étapes de déprotection successives ainsi que d'ajouter des atomes au polymère à chaque étape de la réaction. Plusieurs réactifs sont envisageables en tant que sous-monomères pour la synthèse d'oligocarbamates à séquences définies. Différents carbonates bifonctionnels tels que le PNPCOCl, le CDI, le carbonate de 1,1-bis(6-trifluorométhyl-benzotriazoly) (BTBC), le carbonate de di-2-pyridyle (DPC) ou le carbonate de N,N'-disuccinimidyle (DSC) permettent la synthèse de carbamates *via* deux réactions d'addition/élimination séquentielles de nucléophiles sur leur fonction carbonyle (Figure 21).

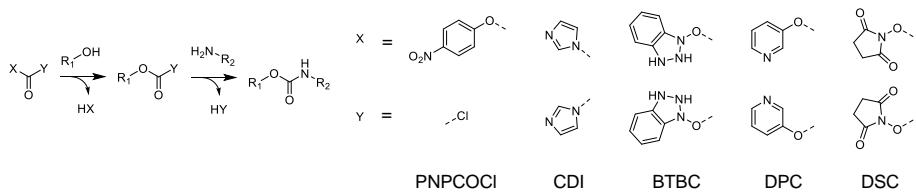


Figure 21: Stratégie de formation de carbamates (gauche) et sous-monomères envisagés (droite).

Le DSC est un carbonate organique, symétrique et bifonctionnel.^[149] Son carbonate est fonctionnalisée par deux groupes partants N-hydroxysuccinimide (NHS). Il est donc plus électrophile que le carbonyle du produit d'une première réaction d'addition/élimination sur le DSC. L'utilisation d'un nucléophile faible sur un excès de DSC permet d'obtenir sélectivement un carbonyle non-symétrique monofonctionnalisé par un groupe partant NHS. Une seconde réaction d'addition/élimination d'un meilleur nucléophile sur le produit monofonctionnalisé par NHS peut alors être effectuée. Le produit de cette seconde réaction est un carbonyle bifonctionnel non-symétrique. Pour la synthèse de carbamates, le DSC a pour avantage sur les autres candidats potentiels de réagir lors de la première réaction avec une grande variété d'alcools, notamment des alcools secondaires avec des bons rendements. De plus, le produit de cette réaction peut à son tour réagir avec une grande variété d'amines primaires et secondaires avec des bons rendements.^[150]

L'utilisation du DSC en excès dans une première étape sur un alcool, puis la réaction du carbonate asymétrique obtenu avec un excès d'alcool aminé dans une deuxième étape, suivit de la répétition itérative de ces deux étapes permet théoriquement la synthèse d'un polymère à séquence définie, comme le montre le Schéma 7. Ces deux réactions d'addition/élimination, nécessitant l'ajout d'une base, peuvent être effectuées dans divers solvants.

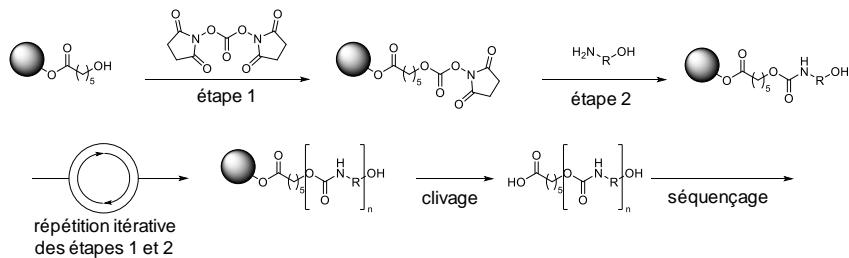


Schéma 7: Stratégie itérative sur support solide envisagée pour la synthèse de polycarbamates à séquences définies.

La stratégie de synthèse est envisageable avec ou sans support. Afin de maximiser les rendements des différentes étapes et de minimiser les temps de manipulation, un support solide a été choisi. Pour libérer l'oligomère désiré à la fin de la synthèse, une fonction clivable doit être insérée entre l'oligomère et la résine. Une fonction éster est facilement clivable par hydrolyse en milieu acide ou basique, dans des conditions n'entrant pas de réactions des groupes carbamates. De plus, la résine doit contenir une fonction hydroxyle terminale afin de réagir avec le DSC. Aussi, le couplage d'un bras espacer clivable hydroxylé sur une résine fonctionnalisée par un alcool est adapté pour la synthèse envisagée.

Afin d'introduire un code dans les oligomères synthétisés, différents alcools aminés doivent être utilisés lors de l'étape 2. Les structures chimiques et les abréviations des différents monomères utilisés sont résumées dans la Figure 22. Afin de simplifier la nomenclature des différents polycarbamates synthétisés, le nom de chacun d'entre eux est abrégé par la lettre **P** suivie d'un chiffre qui lui est propre. De plus, ils sont tous définis par un alphabet, correspondant aux monomères utilisés lors de leur synthèse. Aussi, un oligocarbamate synthétisé avec les monomères C₄₀ et C₄₁ appartiendra à l'alphabet C₄₀/C₄₁. Dans un alphabet, l'unité constitutive obtenue avec le monomère ayant la masse moléculaire la plus élevée est arbitrairement défini comme « bit 1 », celui obtenu avec le monomère de masse moléculaire la plus faible comme « bit 0 ». Tous les polycarbamates synthétisés contiendront dans leur structure le bout de chaîne correspondant au bras espacer clivable α et le « sens de lecture » de la molécule, de l'extrémité α à l'extrémité ω , sera le même que la direction de croissance

de la chaîne de polymère lors de la synthèse. Aussi, l'oligomère **P1** conçu avec l'alphabet C4₀/C4₁, et synthétisé séquentiellement avec les monomères C4₀, C4₀, C4₀, et C4₁ sera nommé « α-0-0-0-1 » et contiendra l'information binaire 0001.

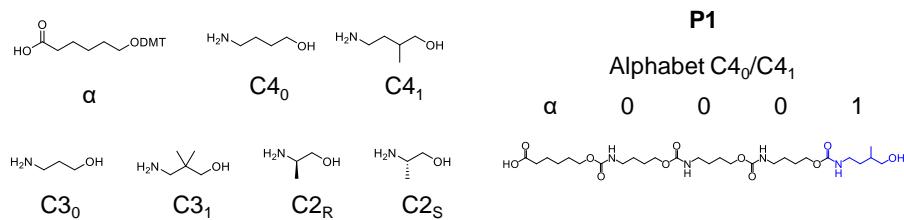


Figure 22: Différents monomères envisagés (gauche) et structure de l'oligocarbamate P1 encodant l'information binaire 0001 dans l'alphabet C4₀/C4₁ (droite).

La détermination de la séquence est possible par MS/MS pour les oligomères d'alphabets C4₀/C4₁ et C3₀/C3₁. En effet, le séquençage d'oligocarbamates à séquences définies est possible *via* la fragmentation des liaisons R₁CH₂O-CONHR₂ et R₁CH₂OOC-NHR₂ des fonctions carbamates en MS/MS.^[63]

Une autre approche de codage a été étudiée dans ce chapitre. En effet, en plus de permettre de contrôler la tacticité de chaque monomère, l'utilisation des monomères C2_R et C2_S devrait permettre la synthèse de polycarbamates séquençables par MS/MS. Après comparaison des intensités relatives des fragments obtenus pour différentes molécules, il devrait être possible de détecter un changement dans le spectre MS/MS de deux oligomères de séquences différentes. Les chaînes latérales étant relativement petites et toutes identiques, leur influence sur la structure tertiaire des molécules devrait être plus faible que dans le cas des protéines, ce qui devrait simplifier l'identification de la position de l'unité constituante modifiée. Dans un cas idéal, l'intensité relative d'un fragment a_n⁻ ne devrait dépendre que de la configuration *syn* ou *anti* des chaînes latérales de part et d'autre de la liaison carbamate fragmentée (Figure 23). L'information théoriquement décodable par MS/MS dans les molécules d'alphabet C2_R/C2_S sera donc liée à la configuration relative des monomères.

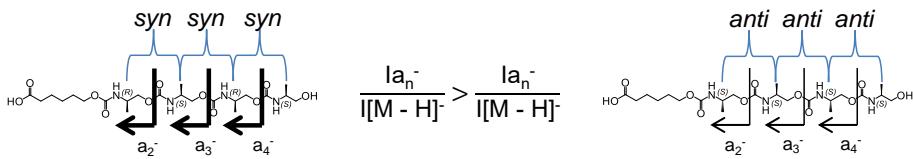


Figure 23: Hypothèse pour la fragmentation par MS/MS des oligomères à tacticité contrôlée isotactiques α -R-S-R-S et syndiotactiques α -S-S-S-S.

L'épaisseur des flèches est corrélée aux nombres de fragments.

II. Résultats et discussion

1) Modification de la résine

Parmi les nombreuses résines commerciales qui pouvaient être choisies pour la synthèse de polycarbamates, la résine de Wang a été sélectionnée. C'est une résine commerciale en polystyrène réticulé fonctionnalisée par un groupe alcool para-alkoxybenzylique terminal. Ses taux de gonflement dans le diméthylformamide (DMF) et le dichlorométhane (DCM) sont bons et son taux de gonflement dans l'acetonitrile (ACN) est moyen.^[151] Afin d'éviter la polymérisation du bras espaceur clivable lors de l'estérification de la résine de Wang, la fonction alcool du bras espaceur clivable doit être protégée. Plusieurs groupes protecteurs, pouvant sélectivement être clivés en présence d'un ester ont été envisagés. Le groupe 4,4'-diméthoxytrityle (DMT), en plus de protéger les fonctions alcools, permet de doser le nombre de fonctions réactives par masse de résine, appelé chargement. En effet, le coefficient d'extinction molaire à 498 nm du cation DMT⁺ dans le DCM étant de 68700 L.mol⁻¹.cm⁻¹,^[152] l'absorbance mesurée sur le spectre d'absorption UV de la solution résultant du clivage du DMT de la résine permet de doser cet ion en solution grâce à la loi de Beer-Lambert, et donc de déterminer le chargement de la résine selon l'équation :

$$c = \frac{A_{498}}{\varepsilon \times l}$$

Avec : c : la concentration de la solution en cation DMT⁺; A_{498} : l'absorbance mesurée de la solution à 498 nm; ε : le coefficient d'extinction molaire du cation DMT⁺ à 498 nm dans le DCM; l : la longueur traversée par le faisceau de lumière UV.

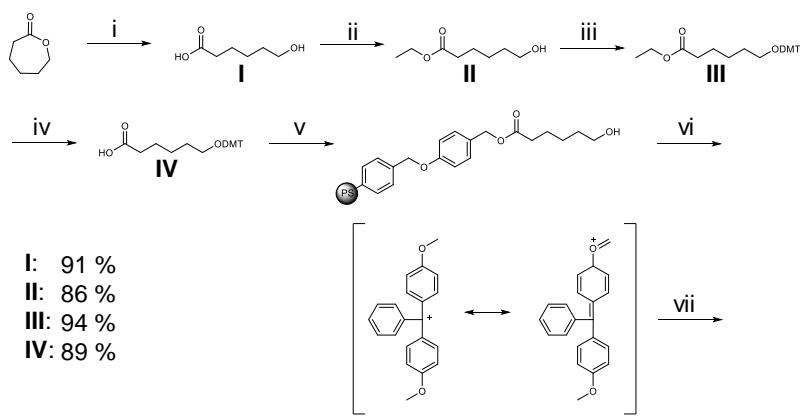


Schéma 8: Synthèse du bras espaceur clivable et modification de la résine pour la synthèse d'oligocarbamates à séquences définies.

i: NaOH, H₂O, t.a., 16 h ; ii: APTS, EtOH, 65°C, 16 h ; iii: chlorure de DMT, DMAP, pyridine, t.a., 16 h ; iv: NaOH, EtOH, H₂O, t.a. 16 h puis acide citrique aqueux ; v: résine de Wang, DCC, DMAP, DCM, t.a., 16 h puis anhydride acétique, pyridine, t.a., 2 h puis TCA/DMC, t.a., 1.5 h ; vi : synthèse des polycarbamates ; vii : détermination du chargement.

Un bras espaceur clivable acide hydroxylé a été synthétisé afin de procéder à une modification de la résine, préalable à la synthèse des oligocarbamates digitaux. Le Schéma 8 représente la synthèse du bras espaceur clivable **IV** mise en œuvre. La première étape de synthèse de **IV** est l'hydrolyse de l' ϵ -caprolactone par une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (NaOH). L'acide 6-hydroxycaproïque **I** obtenu est ensuite condensé avec l'éthanol (EtOH) afin d'obtenir l'hydroxyhexanoate d'éthyle **II**. Cette protection, catalysée par l'acide para-toluenesulfonique (APTS) est nécessaire afin d'éviter l'interaction de l'acide avec le chlorure de DMT lors de la troisième étape. Cette dernière est une substitution nucléophile du chlore du chlorure de DMT par la fonction hydroxyle de **II** et produit **III**. L'hydrolyse l'ester de **III** par NaOH, suivie de l'acidification de l'acide carboxylique en conditions douces permet l'obtention du bras espaceur clivable **IV**. Ces quatre étapes sont conduites avec un rendement global de 65%. **IV** est couplé à la résine de Wang par estérification de Steglich. Les groupes hydroxyles de la résine n'ayant pas réagi sont cappés par action d'une solution d'anhydride acétique dans la pyridine. Enfin le groupe protecteur DMT est déprotégé

en présence d'une solution diluée d'acide trichloroacétique (TCA) dans le DCM. L'utilisation d'une résine de Wang de chargement de 0.94 mmol.g^{-1} conduit à une résine modifiée ayant un chargement de 0.60 mmol.g^{-1} .

2) Synthèse des monomères chiraux

Les deux énantiomères optiques $C2_R$ et $C2_S$ ont été synthétisés. Ces synthèses, réalisées en une étape, consistent à réduire soit lalanine de série D, soit celle de série L par laluminohydride de lithium (LAH). Afin de vérifier le maintien de la stéréochimie des alcools aminés synthétisés, $C2_R$ et $C2_S$ ont été couplés séparément avec un agent chiral de dérivation, à savoir l'acide de Mosher de configuration R ((+)-MTPA), produisant respectivement les molécules V et VI. Ces deux diastéréoisomères ont été analysés par RMN du proton et du fluor 19 (Figure 37, page 78). Les excès énantiomériques des produits $C2_R$ et $C2_S$ ont été déterminé à partir du spectre ^{19}F RMN des diastéréoisomères synthétisés et sont supérieurs à 95 %.

3) Synthèse des polycarbamates

La synthèse itérative des polycarbamates à séquences définies s'effectue en deux étapes d'addition/élimination itératives suivies d'un clivage, comme décrit dans le Schéma 7 (page 55). L'étape 1 est lactivation de lalcool terminal par le DSC, l'étape 2 est la réaction dun alcool aminé sur le produit de la première réaction. Les monomères sont ajoutés les uns après les autres lors de l'étape 2. Une fois la séquence désirée obtenue, le polycarbonate est clivé de la résine dans une solution de d'acide trifluoroacétique (TFA) dans du DCM.

L'étape 2 est une réaction quasi-quantitative dun excès d'alcool aminé dans du DMF en présence de pyridine ou de triéthylamine (TEA) sur le carbonate produit lors de l'étape 1. L'utilisation arbitraire des monomères $C4_0$, $C4_1$, $C3_0$ ou $C3_1$ n'entraîne aucune différence notable de la pureté des oligomères synthétisés.

Lactivation de lalcool primaire par le DSC lors de l'étape 1 est une réaction incomplète dans certaines conditions. Les conditions réactionnelles ont dû être optimisées afin de permettre la synthèse d'oligomères assez longs pour contenir de l'information pour

pouvoir servir d'étiquettes moléculaires. L'utilisation d'un support solide ne permet pas d'analyser les produits après chaque étape de réaction ; la comparaison de chromatogrammes d'exclusion stérique (CES) de produits finaux synthétisés dans différentes conditions est nécessaire afin d'adapter les conditions réactionnelles jusqu'à obtenir des molécules uniformes. Les conditions réactionnelles discutées pour l'optimisation ainsi que les CES et la \bar{D} des tétramères **P1-5** sont résumées dans le Tableau 1.

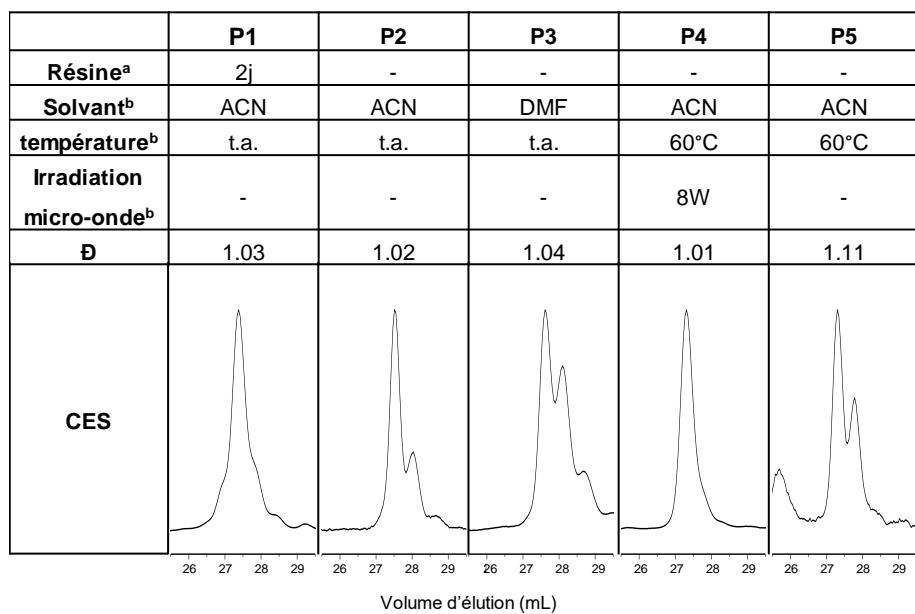


Tableau 1: Conditions étudiées pour l'étape 1 et CES des tétramères P1-5.

^acorrespond au temps de stockage du compose 4 avant l'estérification de la résine.
^bmodifications apportées à l'étape 1

Les conditions reportées pour les étapes 1 et 2 (Procédures expérimentales, page 79) sont les conditions minimales testées en termes d'équivalents (eq.) de monomère et de temps de réaction permettant l'obtention de molécules uniformes.

La résine utilisée pour la synthèse de P2 a été modifiée avec un bras espaceur fraîchement préparé, contrairement à la résine utilisée pour P1 qui a été estérifiée deux jours après la synthèse du bras espaceur. Le CES de P1 laisse apparaître des épaulements vers les composés de haut et de bas poids moléculaires par rapport au pic de l'espèce majoritaire. Le CES de P2 ne comporte pas d'épaulements vers les composés de haut poids moléculaires. Les composés de haut poids moléculaire proviennent de l'estérification du bras espaceur sur lui-même lors de son couplage sur la résine. L'observation en RMN du proton du bras espaceur clivable fraîchement synthétisé et après une semaine de stockage à température ambiante sous argon (

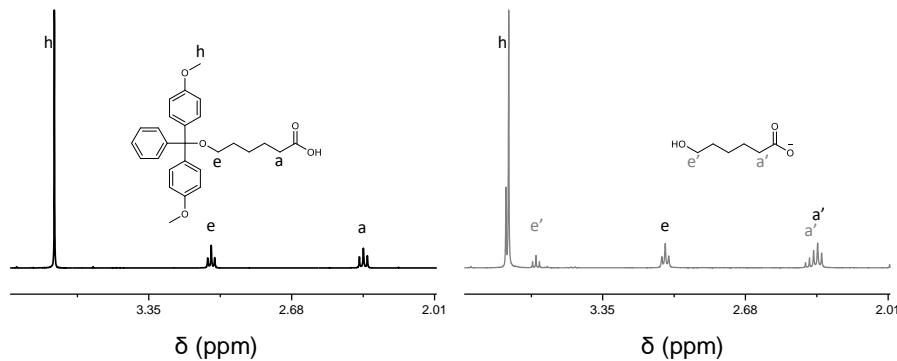


Figure 36, page 76) permet de confirmer cette hypothèse. Cette expérience confirme la déprotection de la fonction hydroxyle du bras espaceur. L'estérification de la résine par un bras espaceur clivable synthétisé fraîchement permet d'éviter la formation de polyesters lors de cette réaction.

Le DMF et l'ACN sont deux solvants polaires efficaces pour les réactions d'addition/élimination. La résine de Wang a un meilleur taux de gonflement dans le DMF que dans l'ACN, de plus, les produits finaux et le DSC sont eux aussi plus solubles dans le DMF que dans l'ACN. Malgré un meilleur accès théorique aux fonctions réactives supportées par la résine permis par l'utilisation de DMF, le chromatogramme de **P3** montre une proportion plus importante de congénères inférieurs que le chromatogramme de **P2** ce qui se traduit par une augmentation de \bar{D} . Aussi, l'ACN a été conservé pour effectuer l'étape 1.

L'irradiation par micro-ondes du mélange réactionnel à 60°C permet l'obtention de l'oligomère **P4** caractérisé par une D de 1.01. Le pic de l'espèce majoritaire observé en chromatographie d'exclusion stérique ne comporte pas d'épaulements correspondant aux congénères inférieurs. La simple activation thermique utilisée sans irradiation pour la synthèse de **P5** induit quant à elle des réactions secondaires. L'irradiation par micro-ondes a donc été choisie pour l'étape 1.

Différentes bases peuvent être utilisées lors des étapes 1 et 2. L'utilisation de TEA permet la synthèse de l'oligomère **P6** dont le spectre de masse est montré dans la Figure 24. Ce spectre montre une espèce majoritaire correspondant au produit attendu sans traces notables de congénères inférieurs. La structure de l'impureté ayant l'abondance ionique la plus intense a pu être déterminée par l'équipe de Laurence Charles de l'Université d'Aix-Marseille. Elle provient probablement de l'addition d'une unité carbamate déprotonée sur le groupe partant NHS, suivit d'un réarrangement, résultant en une molécule plus massive de 56 Da par rapport à l'oligomère désiré. L'utilisation d'une base plus faible, à savoir la pyridine a permis la synthèse de l'oligomère **P7**. Son spectre de masse ne montre aucune impureté (Figure 24).

Commenté [BP2]:

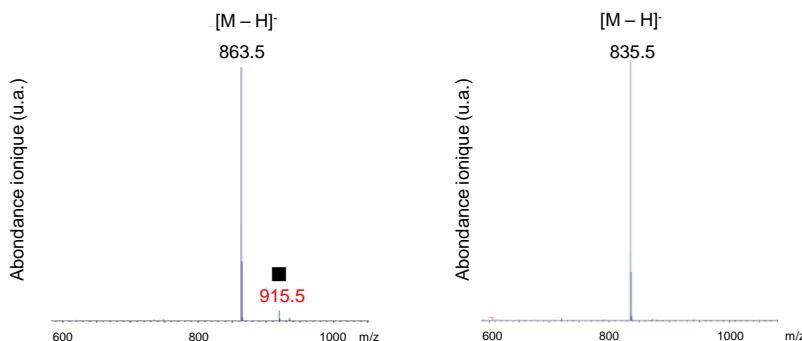


Figure 24: Spectres MS en mode négatif des octamères **P6** (gauche) et **P7** (droite).

Le carré indique une impureté $[M + 56 \text{ Da}]$.

4) Analyses

Des oligocarbamates de séquences diverses ont été synthétisés. Ils ont été analysés par chromatographie d'exclusion stérique, MS, spectrométrie de masse haute résolution (HRMS) et RMN afin de contrôler leurs structures et leur pureté. Le Tableau 2 récapitule les rendements de synthèse obtenus et les résultats des expériences HRMS des polymères étudiés dans ce chapitre.

	Alphabet	Séquence	m/z_{th}	m/z_{exp}	R^a
P6	C4 ₀ /C4 ₁	α-0-1-0-1-0-1	882.5394	882.5392 ^c	≈1.0
P7	C4 ₀ /C4 ₁	α-0-0-1-0-0-0	837.4815	837.4822 ^d	0.93
P8	C4 ₀ /C4 ₁	α-0-0-1-0	605.3403	605.3405 ^b	≈1.0
P9	C4 ₀ /C4 ₁	α-1-0-0-0-1	734.4193	734.4191 ^b	0.87
P10	C4 ₀ /C4 ₁	α-1-0-1-0-1-0	863.4983	863.4976 ^b	≈1.0
P11	C4 ₀ /C4 ₁	α-0-0-1-1-1-1-0	1121.6562	1121.6549 ^b	0.78
P12	C3 ₀ /C3 ₁	α-1-1-1-0-0-0-0	1023.5467	1023.5449 ^b	0.97
P13	C4 ₀ /C4 ₁	α-0-1-0-0-0-0	854.5081	854.5084 ^c	0.77
P14	C4 ₀ /C4 ₁	α-1-1-0-1-0-0-1-0-1-1-0-0-0	2084.2098	2084.2108 ^e	0.81
P15	C2 _R /C2 _S	α-S-R-S-S	537.2766	537.2765 ^d	≈1.0
P16	C2 _R /C2 _S	α-S-S-S-R	537.2766	/	≈1.0
P17	C2 _R /C2 _S	α-R-R-R-S	537.2766	/	≈1.0
P18	C2 _R /C2 _S	α-R-S-S-S	537.2766	/	≈1.0
P19	C2 _R /C2 _S	α-S-R-R-R	537.2766	/	≈1.0
P20	C2 _R /C2 _S	α-R-R-S-R	537.2766	/	≈1.0
P21	C2 _R /C2 _S	α-S-S-R-S	537.2766	/	≈1.0
P22	C2 _R /C2 _S	α-S-S-S-S	537.2766	/	≈1.0
P23	C2 _R /C2 _S	α-R-R-R-R	537.2766	/	≈1.0

Tableau 2: Caractéristiques des oligomères P6-23.

^aRendements bruts sans purification après le clivage. Les expériences HRMS ont été effectuée sur les ions ^b[M-H]⁺, ^c[M+NH4]⁺, ^d[M+H]⁺ et ^edéterminés à partir de l'ion [M-H]⁺ en MS/MS.

La masse de produit obtenu, déterminée par gravimétrie, dépasse parfois la masse théoriquement récupérable. Il est en effet difficile d'isoler le produit du TFA après la réaction de clivage. Différentes techniques de purification ont été testées sans toutefois permettre de retirer toutes traces de TFA, ce dernier permettant, en brisant

les liaisons hydrogène intermoléculaires, de solubiliser le produit dans des solvants usuels. Les différents polycarbamates présentés dans cette thèse ont été résolubilisés dans du DCM puis concentrés à pression réduite après le clivage. La même opération a été effectuée avec du méthanol (MeOH) et répétée jusqu'à l'obtention d'un produit sous forme solide ayant une masse stable.

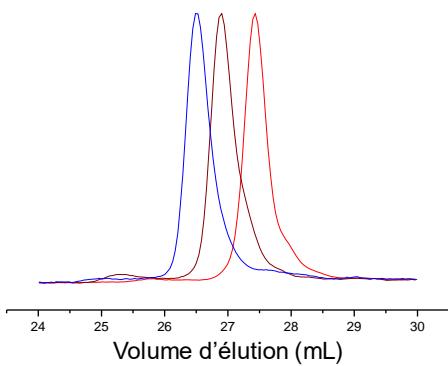


Figure 25: CES du tétramère P8 (rouge), du pentamère P9 (brun) et de l'hexamère P10 (bleu).

Des CES ont été obtenus pour les oligomères **P8**, **P9** et **P10** (Figure 25). Les D déterminés pour ces échantillons sont tous trois de 1.01 ce qui valide l'uniformité de ces oligomères. Les oligocarbamates ont tendance à former des liaisons hydrogène en solution, leur solubilité dans le tétrahydrofurane (THF) diminue avec leur degré de polymérisation, aussi, il n'est pas possible d'analyser des oligomères de DP supérieur à 6 par chromatographie d'exclusion stérique dans le THF. Pour des oligomères de DP supérieurs, l'analyse qualitative en spectrométrie de masse en mode négatif a été utilisée (Figure 26).

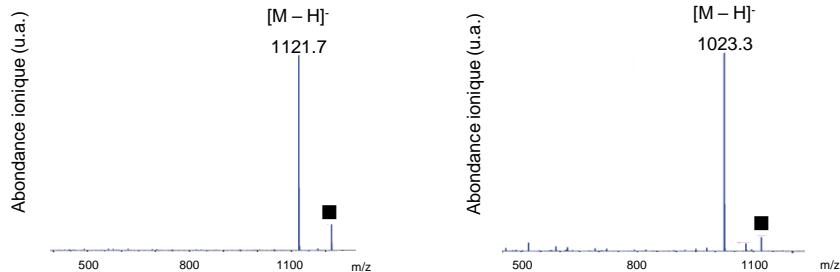


Figure 26: Spectres MS en mode négatif des octamères P11 (gauche) et P12 (droite).

Le carré indique une impureté $[M + 56\text{Da}]^-$

Les spectres MS des octamères **P11** et **P12** ne montrent aucun signe de congénères inférieurs. Ayant été synthétisés avec la TEA, ils montrent tous deux une impureté à $M + 56$ Da. Les oligomères ont été analysés par RMN du proton et du carbone dans le DMSO-d₆. La Figure 27 et la Figure 28 montrent les spectres obtenus pour l'oligomère **P13**.

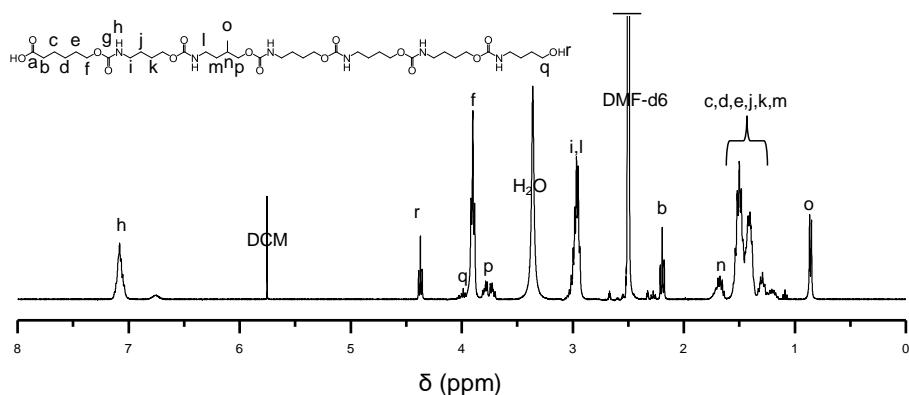


Figure 27: Spectre RMN ¹H de l'hexamère P13.

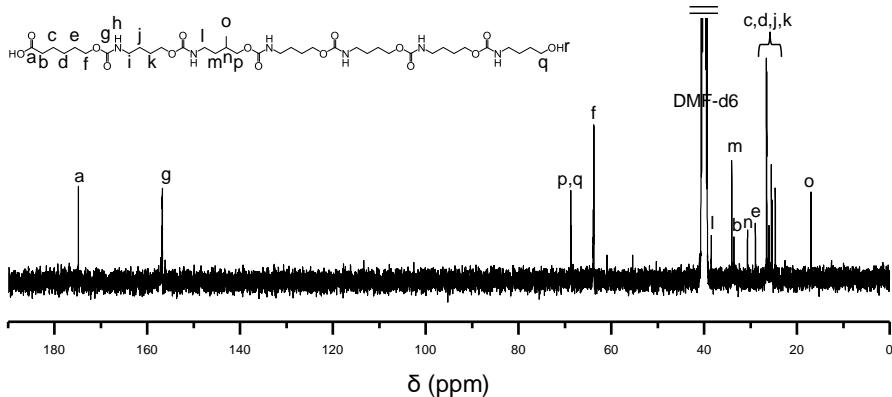


Figure 28: Spectre RMN ^{13}C de l'hexamère P13.

Les résultats de ces analyses montrent la présence du produit désiré avec les pics caractéristiques des fonctions carbamates à 2.96, 3.88 et 7.08 ppm, respectivement caractéristiques des protons $\text{R}_1\text{CH}_2\text{OOCNHCH}_2\text{R}_2$ (i-H, I-H), $\text{R}_1\text{CH}_2\text{OOCNHCH}_2\text{R}_2$ (f-H, p-H) et $\text{R}_1\text{CH}_2\text{OOCNHCH}_2\text{R}_2$ (h-H). Le pic correspondant aux protons HCOOCH_2R (b-H) du groupe acide carboxylique, à 2.19 ppm, est caractéristique du bras espaceur clivable. Le pic à 0.86 est caractéristique des protons RCH_3 (o-H) de la chaîne latérale méthylée. Les pics caractéristiques des carbones $\text{R}_1\text{CH}_2\text{OOCNHCH}_2\text{R}_2$ (i-C) sont en majorité masqués par le pic résiduel du solvant.

5) Résistance thermique

L'analyse de la résistance thermique des molécules synthétisées permet de déterminer dans quels types de procédés ces molécules peuvent servir d'étiquettes moléculaires afin de marquer un produit. La dégradation thermique de l'oligomère **P8** a été évaluée par analyse thermogravimétrique (ATG) (Figure 29).

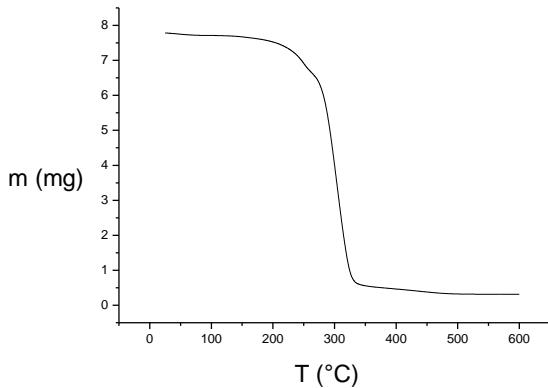


Figure 29: Courbe ATG obtenue pour le tétramère P8.

La courbe obtenue montre que les oligomères composés de l'alphabet C₄₀/C₄₁ résistent à des températures supérieures à 150°C. Ils peuvent donc être manipulés à des températures relativement élevées et servir d'étiquettes moléculaires pour des matériaux nécessitant une utilisation à des températures élevées.

6) Séquençage par MS/MS

Afin de retrouver l'information encodée dans les polycarbamates synthétisés, le séquençage par MS/MS a été utilisé.

a. Alphabets C₄₀/C₄₁ et C₃₀/C₃₁

Les spectres MS/MS en mode négatif des différents oligomères synthétisés montrent tous une seule série d'ions, la série a_n^- qui correspond à la fragmentation de toutes les liaisons R₁H₂C-OOCNHR₂ des carbamates. La seule fonction ionisable dans les conditions d'analyse étant l'acide carboxylique du bras espaceur clivable α , les ions analysés comprennent tous ce motif. La série d'ions a_n^- est donc très simple à analyser afin de remonter à la séquence de l'oligomère. La Figure 30 montre le spectre résultant du séquençage de l'oligomère P13 d'alphabet C₄₀/C₄₁ et de séquence α -0-1-0-0-0-0.

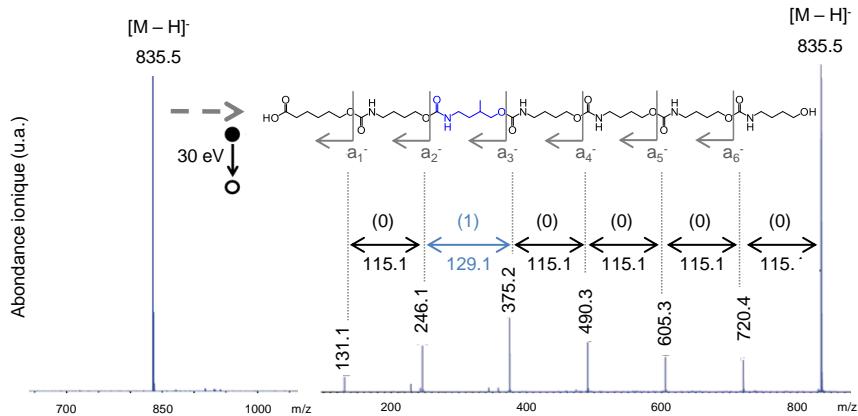


Figure 30: Spectres MS (gauche) et MS/MS (droite) en mode négatif de l'hexamère P13.

La séquence de cet oligomère est aisément déduite à partir du spectre de fragmentation, en effet, la $\Delta_{m/z}$ permet de déterminer la masse de l'unité constitutive en ω de l'ion de m/z le plus élevé. Dans l'alphabet C4₀/C4₁, un monomère codant pour « bit 0 » a une masse moléculaire de 115.1 g.mol⁻¹ et un monomère codant pour « bit 1 » a une masse moléculaire de 129.1. La $\Delta_{m/z}$ entre les fragments a_1^- et a_2^- de l'oligomère P13 est de 115.1, le premier monomère suivant le bras espaceur α code donc pour « bit 0 ». En observant la $\Delta_{m/z}$ entre chaque fragment, il est possible de remonter à l'information encodée dans P13, à savoir 010000.

Afin de démontrer que chaque oligomère encode une information précise, l'oligomère P7, de masse moléculaire identique à P13 à été séquencé par MS/MS (Figure 31).

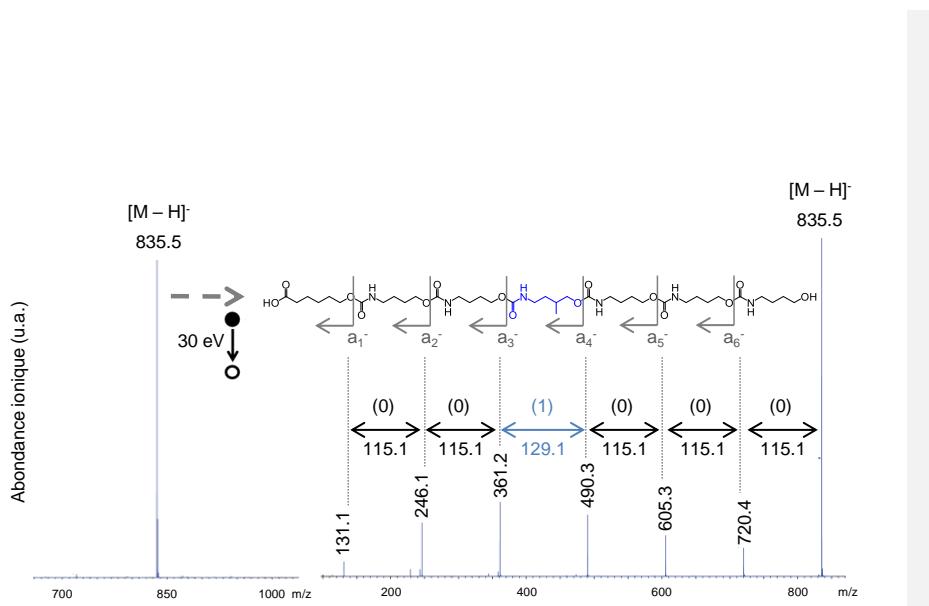


Figure 31: Spectres MS (gauche) et MS/MS (droite) en mode négatif de l'oligomère P7.

En calculant les $\Delta_{m/z}$ entre chaque fragment obtenu par fragmentation de l'ion $[M-H]^-$, l'oligomère **P7** après séquençage, révèle l'information binaire 001000.

Le schéma de fragmentation est le même pour des polymères allant jusqu'à un DP de 16 (Figure 32). La synthèse optimisée pour les oligomères n'est pas efficace pour des molécules de ce DP. Le spectre de masse du polymère **P14** montre une impureté de forte abondance ionique correspondant au produit estérifié par le TFA (Figure 38, page 80). L'analyse MS/MS de l'adduit $[M + CF_3COO]$ permet néanmoins d'obtenir l'information stockée dans le polymère.

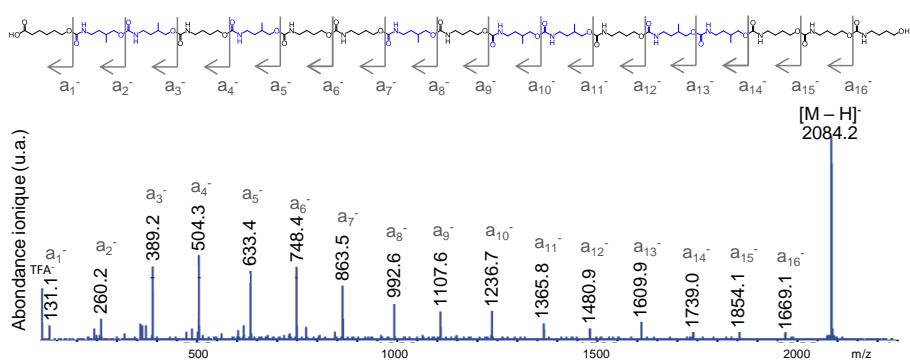


Figure 32: Spectre MS/MS en mode négatif du polymère P14.

Les molécules composées de l'alphabet C₃₀/C₃₁ suivent le même schéma de fragmentation que les molécules de l'alphabet C₄₀/C₄₁. Seule la série d'ions a_n⁻ est détectée en mode négatif. La Figure 33 montre le spectre MS/MS de l'oligomère P12. Dans le cas de cet alphabet, la Δ_{m/z} indiquant la présence d'un codant pour « bit 0 » est de 101.0, la Δ_{m/z} correspondant à un monomère encodant « bit 1 » est de 129.1.

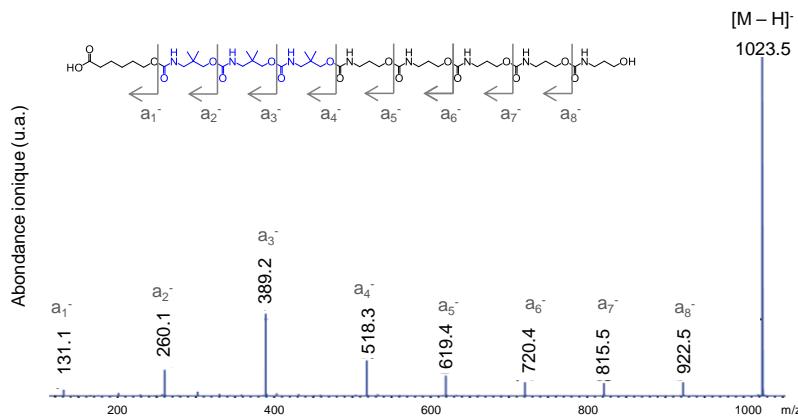


Figure 33: Spectre MS/MS en mode négatif de l'oligomère P12.

b. Alphabets C2_R/C2_S

Le comportement des oligomères composés de l'alphabet C2_R/C2_S vis-à-vis de la fragmentation par MS/MS en mode négatif est identique à celui des oligomères composés des alphabets C4₀/C4₁ et C3₀/C3₁. La Figure 34 montre les spectres MS et MS/MS en mode négatif du tétramère **P15** encodant l'information SSSR.

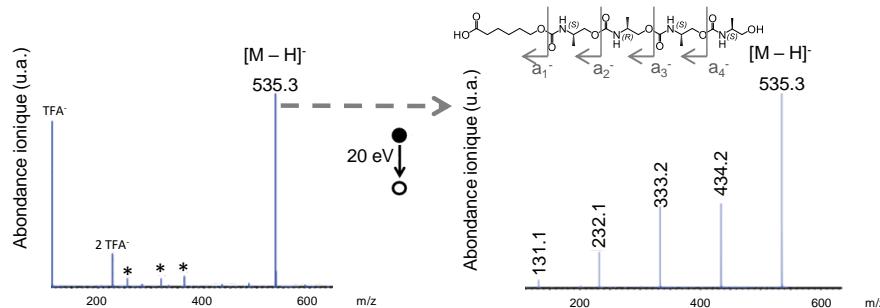


Figure 34: Spectres MS (gauche) et MS/MS (droite) en mode négatif de l'oligomère P15.

Les astérisques indiquent des impuretés non-constitutives de l'échantillon.

Toutes les liaisons R₁H₂C-OOCNHR₂ sont fragmentées et les ions de série a_n⁻ sont identifiable. La Δ_{m/z} entre les différents fragments est de 101.1.

Pour déterminer une règle quant à l'influence de la chiralité des unités constitutives sur la fragmentation carbamates des oligomères d'alphabet C2_R/C2_S, la série de tétramères **P16-23** a été synthétisée puis analysée par MS/MS (Figure 39, page 81). Ils présentent tous des spectres de fragmentation comparables à l'oligomère **P15**. L'abondance ionique de chaque espèce de la série a_n⁻ a été mesurée pour tous les oligomères. La Figure 35 montre les intensités relatives des fragments des composés **P16-23**.

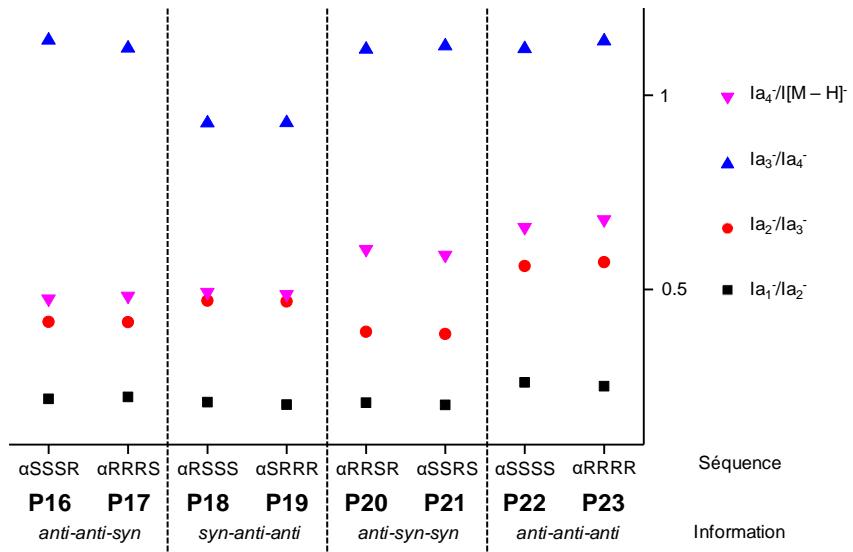


Figure 35: Intensités relatives des fragments obtenus pour les oligomères P16-23 d'alphabet C_{2R}/C_{2S}.

Les intensités relatives des fragments varient selon la séquence de l'oligomère observé. Le ratio Ia_3^-/Ia_4^- est par exemple inférieur à 1 pour des oligomères de séquence RSSS et SRRR, et supérieur à 1 pour les autres oligomères observés. De plus, ces ratios sont similaires pour les couples d'isomères optiques ce qui démontre que la stabilité à la fragmentation des différentes liaisons carbamate est dépendante de la chiralité des monomères de la séquence. Les intensités relatives d'oligomères non-isomères optiques ont été comparées dans le but de déterminer empiriquement l'influence d'un changement de configuration sur le spectre MS/MS de ces molécules, afin de pouvoir, à terme, déterminer l'information encodée dans un oligomère d'alphabet C_{2R}/C_{2S} et de séquence inconnue d'après son spectre MS/MS. Ces comparaisons se sont avérées infructueuses.

c. Etude du mécanisme de fragmentation

Une étude du séquençage des oligocarbamates, menée par le groupe de Laurence Charles,^[153] sur des oligomères d'alphabet C₄₀/C₄₁ a permis de mettre en évidence deux mécanismes simultanés entraînant l'apparition des fragments de la série a_n^-

(Schéma 9). Le premier est dû à un réarrangement des fonctions carbamates en alcool et en isocyanate. Le deuxième est l'addition/élimination intramoléculaire de la fonction hydroxyle de l'extrémité ω sur une unité carbamate. Un troisième mécanisme, impliquant l'acide carboxylique de α et entraîne la formation de l'ion a_1^- .

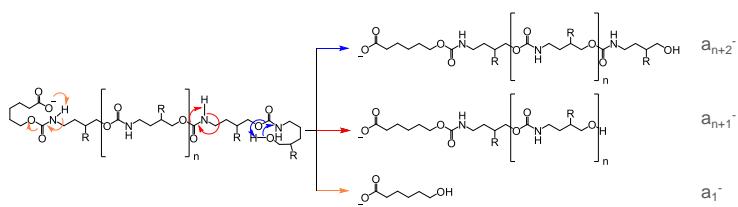


Schéma 9: Mécanismes simultanés menant aux fragments de la série a_n^- en MS/MS en mode négatif.

Adapté d'après la référence [153].

Un fragment a_n^- , avec $n \neq 1$, peut donc être produit par tout ion a_m^- , avec $m > n$, via deux réactions indépendantes. En d'autres termes, l'intensité de chaque fragment dépend des cinétiques de plusieurs réactions. Par exemple, le fragment a_2^- d'un tétramère sera produit par le réarrangement des ions $[M - H]^-$, a_4^- et a_3^- et par l'addition/élimination intramoléculaire de ces mêmes ions. Il est de ce fait difficile de déterminer empiriquement l'influence de la configuration *syn* ou *anti* des chaînes latérales de part et d'autre d'une liaison carbamate sur la stabilité de cette dernière. L'information contenue dans des oligocarbamates d'alphabet C_{2R}/C_{2S} par MS/MS en mode négatif n'a donc pas pu être retrouvée. Pour retrouver la séquence d'oligomères à tacticité contrôlée, la structure chimique des monomères utilisés doit être adaptée. L'utilisation d'amines secondaires à l'étape 2, par exemple, devrait produire des polycarbamates ne pouvant être fragmentés par le mécanisme de réarrangement.

Dépolymériser séquentiellement ces oligomères par méthode chimique permettrait aussi de séquencer ces molécules en analysant le pouvoir rotatoire de chaque monomère clivé.

III. Conclusion

L'optimisation d'une stratégie de synthèse visant à synthétiser des polymères à séquences définies pouvant contenir de l'information a permis la synthèse d'oligocarbamates uniformes. L'utilisation d'un sous-monomère, le DSC, permet en deux étapes itératives et chimiosélectives, de produire des oligomères uniformes sans utiliser de groupes protecteurs ; l'utilisation d'un support solide permet de diminuer le temps de manipulations et de purifications entre les différentes étapes, ainsi que d'augmenter la proportion de monomères pour que chaque étape réactionnelle soit quantitative. Enfin, la présence d'une fonction ester entre la résine et l'oligomère permet la libération de ce dernier. La spectrométrie de masse en tandem permet de fragmenter les liaisons carbamates de ces molécules au niveau de la liaison R₁H₂C-OOCNHR₂ de chaque unité répétitive et la présence d'un acide carboxylique à l'extrémité des oligomères permet d'observer une série unique d'ions en MS/MS. Deux monomères de masses moléculaires différentes peuvent être définis arbitrairement comme « bit 0 » et comme « bit 1 ». En observant la différence de m/z entre deux ions consécutifs produits en MS/MS, il est alors possible de retrouver l'information binaire encodée. L'utilisation de monomères énantiomères optiques permet de contrôler la tacticité des oligomères synthétisés, néanmoins, vu le mécanisme de fragmentation des polycarbamates primaires, l'information contenue dans ces molécules ne peut être lue par MS/MS en mode négatif.

L'utilisation de ces molécules comme étiquettes moléculaires afin de marquer efficacement des sculptures obtenues par impression 3D,^[154] des implants intraoculaires^[155] ou encore des implants *in-vivo* dans un modèle de rat^[156] a par la suite été démontrée.

IV. Procédures expérimentales

1) Synthèse du bras espaceur clivable

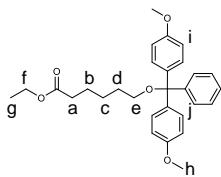
a. Synthèse de la molécule I

A un mélange d'eau (150 mL) et d'ε-caprolactone (6.1 mL, 55 mmol, 1 eq.) a été ajouté du NaOH (4.4 g, 110 mmol, 2 eq.). Le mélange réactionnel a été agité à température ambiante pendant 16 heures. La solution résultante a ensuite été acidifiée par l'ajout d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique (HCl) (12 M) jusqu'à un pH de 3 puis extraite avec de l'acétate d'éthyle (AcOEt). La phase organique a été séchée sur du sulfate de sodium anhydre, puis filtrée et concentrée à pression réduite afin d'obtenir **I** sous forme de cristaux blancs (5.9 g, 45 mmol, 82 %). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 3.65 (t, J = 6.5 Hz, 2H, e-H), 2.37 (t, J = 7.4 Hz, 2H, a-H), 1.68 (m, 2H, b-H), 1.60 (m, 2H, d-H), 1.43 (m, 2H, c-H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 179.1, 62.8, 34.0, 32.4, 25.3, 24.5. HRMS (ES $^-$) m/z: [M - H] $^-$ théorique: 131.0714, expérimental: 131.0708.

b. Synthèse de la molécule II

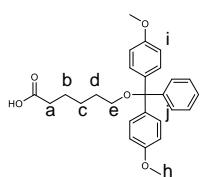
A une solution de **I** (5.9 g, 45 mmol, 1 eq.) dans de l'EtOH (50 mL) a été ajouté de l'APTS (107 mg, 0.56 mmol, 0.013 eq.). Le mélange réactionnel a été agité à 65°C pendant 16 heures. Le solvant a ensuite été évaporé à pression réduite et l'huile résultante a été dissoute dans de l'AcOEt puis lavée séquentiellement avec une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium et de saumure. La phase organique a été séchée sur du sulfate de sodium anhydre, puis filtrée et concentrée à pression réduite afin d'obtenir **II** sous forme d'une huile jaune (6.2 g, 39 mmol, 87 %) ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 4.12 (q, J = 7.2 Hz, 2H, f-H), 3.65 (t, J = 6.3 Hz, 2H, e-H), 2.31 (t, J = 7.4 Hz, 2H, a-H), 1.55-1.69 (m, 4.5H, b-H, d-H), 1.40 (m, 2.5H, c-H), 1.25 (t, J = 7.2Hz, 3H, g-H). ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 173.9, 62.8, 60.4, 34.4, 32.4, 25.4, 24.8, 14.4. HRMS (ES $^+$) m/z: [M + H] $^+$ théorique: 161.1172, expérimental: 161.11690.

c. Synthèse de la molécule III



Une solution dégazée de 4-diméthylaminopyridine (DMAP) (0.8 g, 6.55 mmol, 0.5 eq.), de chlorure de DMT (5 g, 14 mmol, 1.1 eq.) et de **II** dans de la pyridine anhydre (25 mL) a été agitée à température ambiante pendant 16 heures. Le solvant a ensuite été évaporé à pression réduite et le mélange résultant a été dissout dans l'AcOEt et lavé avec de l'eau. La phase aqueuse a été extraite avec de l'AcOEt puis les phases organiques ont été concentrées à pression réduite et l'huile résultante a été purifiée par chromatographie sur colonne de silice (AcOEt/cyclohexane/TEA : 7/93/3) afin d'obtenir **III** sous forme d'une huile incolore (6.0 g, 13 mmol, 95 %). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7.18-7.45 (m, 9H, j-H), 6.83 (m, 4H, i-H), 4.12 (q, J = 7.2 Hz, 2H, f-H), 3.80 (s, 6H, h-H), 3.05 (t, J = 6.5 Hz, 2H, c-H), 2.29 (t, J = 7.5 Hz, 2H, a-H), 1.61 (m, 4H, b-H, d-H), 1.40 (m, 2H, c-H), 1.25 (t, J = 7.2 Hz, 3H, g-H). ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 173.9, 158.5, 145.5, 136.8, 130.2, 128.3, 127.8, 126.7, 113.1, 85.8, 63.3, 60.3, 55.3, 34.5, 29.9, 26.1, 25.1, 14.4. HRMS (ES⁺) m/z: [M + Na]⁺ théorique: 485.2298, expérimental: 485.2297.

d. Synthèse de la molécule IV



A une solution de **III** (2.36 g, 5.1 mmol, 1 eq.) dans l'EtOH (3 mL) a été ajoutée une solution aqueuse de NaOH (6 M, 10 mL). Le mélange réactionnel a été agité à température ambiante pendant 16 heures. Une solution aqueuse saturée de chlorure d'ammonium a ensuite été ajoutée jusqu'à la formation d'un précipité blanc. La suspension a été filtrée et le résidu a été acidifié par l'ajout d'une solution aqueuse d'acide citrique (1/100, m/m). La phase aqueuse a été extraite avec du dichlorométhane. La phase organique a été séchée sur du sulfate de sodium anhydre, puis filtrée et concentrée à pression réduite afin d'obtenir **IV** sous forme d'une mousse blanche (1.97 g, 4.5 mmol, 88%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7.18-7.46 (m, 9H, j-H), 6.8 (m, 4H, i-H), 3.79 (s, 6H, h-H), 3.06 (t, J = 6.6 Hz, 2H, e-H), 2.34 (t, J = 7.6 Hz, 2H, a-H), 1.62 (m, 4H, b-H, d-H), 1.43 (m, 2H, c-H). ^{13}C NMR (100 MHz, acétone-d6) δ (ppm) = 174.6, 159.5, 146.7, 137.5, 130.9, 129.0,

128.5, 127.4, 113.8, 86.5, 63.8, 55.5, 34.2, 30.5, 26.7, 25.6. HRMS (ES⁺) m/z: [M + Na]⁺ théorique: 457.1985, expérimental: 457.1987.

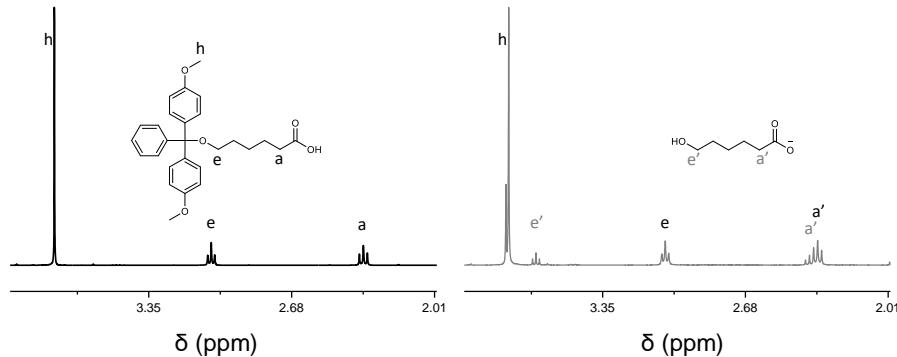


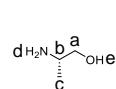
Figure 36: Spectre ^1H RMN du bras espaceur clivable fraîchement synthétisé (gauche) et après une semaine sous argon (droite).

2) Synthèse et analyse des monomères chiraux

a. Synthèse des molécules C_{2R} et C_{2S}

De la D-alanine (3 g, 34 mmol, 1 eq.) a été ajoutée sous flux d'argon et en petites portions à 0°C à une suspension de LAH dans du THF anhydre (1M, 58 mL, 58 mmol, 1.7 eq.). Le milieu réactionnel a été agité à reflux pendant 16h puis refroidi à température ambiante avant que la réaction ne soit arrêtée par l'ajout séquentiel d'eau (2 mL), d'une solution aqueuse de NaOH (15 %, m/m, 2 mL), et d'eau (6 mL). Le mélange résultant a été filtré sur célite et le résidu rincé avec du THF. Le filtrat a été séché sur du sulfate de sodium anhydre, puis filtré et concentré à pression réduite afin d'obtenir C_{2R} sous forme d'une huile jaune (2.5 g, 34 mmol, 100 %) qui a été utilisé sans purification supplémentaire. ^1H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 3.54 (dd, $^2\text{J} = 10.5$ Hz, $^3\text{J} = 3.8$ Hz, 1H, a-H), 3.24 (dd, $^2\text{J} = 10.5$ Hz, $^3\text{J} = 7.7$ Hz, 1H, a-H), 3.02 (m, 1H, b-H), 1.72 (bs, 4H, e-H, d-H) 1.06 (d, J = 6,4 Hz,

3H, c-H). ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 68.6, 48.4, 20.4. HRMS (ES $^+$) m/z: [M + H] $^+$ théorique: 76.0757, expérimental: 76.0758.



La même procédure a été appliquée pour la synthèse de C2s (820 mg, 10.9 mmol, 97 %) ; L-alanine (1 g, 11.2 mmol, 1 eq.) ; LAH (1M, 19 mL, 19 mmol, 1.7 eq.). HRMS (ES $^+$) m/z: [M + H] $^+$ théorique: 76.0757, expérimental: 76.0756.

b. Synthèse des molécules V et VI

A une solution de C2R (6.2 mg, 0.082 mmol, 1 eq.) dans du DCM (1 mL) a été ajouté du DCC (22 mg, 0.11 mmol, 1.3 eq.) puis du (+)MTPA (20 mg, 0.085 mmol, 1 eq.). Le mélange réactionnel a été agité à température ambiante pendant 90 minutes. Le solvant a ensuite été évaporé à pression réduite et le mélange résultant a été purifié sur colonne de silice (DCM/MeOH : 99/1 à 98/2) afin d'obtenir **V** contenant des impuretés qui a été analysé par ^1H RMN (Figure 37) et ^{19}F NMR (375 MHz, CDCl_3): 68.92.

La même procédure a été appliquée pour la synthèse de **VI**. C2s (6.4 mg, 0.085 mmol, 1 eq.) ; DCC (22 mg, 0.11 mmol, 1.3 eq.) ; (+)MTPA (24 mg, 0.10 mmol, 1.2 eq.). ^1H RMN (Figure 37). ^{19}F NMR (375 MHz, CDCl_3): 68.84.

c. Analyse RMN des diastéréoisomères

La Figure 37 montre les projections axiales préférentielles des molécules **V** et de **VI**, respectivement de configuration R,R et R,S, ainsi que les protons théoriquement blindés et déblindés des fonctions de l'amide **VI**. Elle montre aussi les spectrogrammes ^1H et ^{19}F des deux diastéréoisomères. La RMN du proton est contaminée par des impuretés. Les RMN ^{19}F montrent pour les deux composés que l'excès énantiomérique est supérieur à 95%.

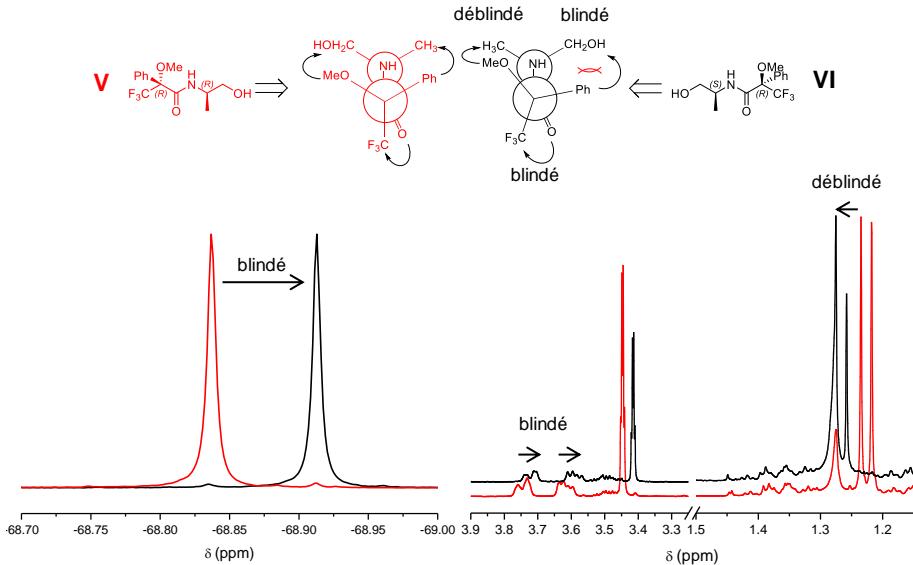


Figure 37: Structures chimiques et projections axiales préférentielles des molécules V (rouge) et VI (noir) (haut), ¹⁹F RMN (gauche) et ¹H RMN (droite).

Les arcs de cercles rouges indiquent un conflit stérique.

3) Procédure générale de modification de la résine

a. Estérification

Dans un tube SPE est placée de la résine de Wang (0.94 mmol.g⁻¹). Cette résine est gonflée avec du dichlorométhane pendant une minute. Une solution de DMAP (0.13 M, 1.5 eq.), de DCC (0.25 M, 3 eq.) et de IV (0.9 M, 3 eq.) dans du dichlorométhane est ajoutée au tube contenant la résine. Le mélange réactionnel a été agité à température ambiante pendant 16 heures. La résine a été lavée plusieurs fois avec du DMF puis avec du DCM avant de procéder à l'étape suivante.

b. Capping

Une solution d'anhydride acétique dans de la pyridine (1/5 : V/V, 10 mL) est ajoutée à la résine préalablement modifiée. Le mélange réactionnel est agité à température

ambiante pendant 2 heures. La résine est lavée plusieurs fois avec du dichlorométhane avant de procéder à l'étape suivante.

c. Investigation de la capacité de la résine

Une solution de TCA dans du DCM (3/100, w/w, 10 mL) a été ajoutée à une masse (3.2 mg) de résine préalablement modifiée. Un volume de la solution résultante (1 mL) est dilué dans du dichlorométhane (9 mL). L'absorbance à 498 nm de la solution finale est mesurée afin de calculer la capacité de la résine. $A_{498} = 1.31$; chargement de la résine = 0.60 mmol.g⁻¹.

d. Clivage

Une solution de TCA dans du DCM (3/100, w/w, 10 mL) est ajoutée à la résine modifiée. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 15 minutes. La résine est lavée plusieurs fois avec du dichlorométhane. L'étape de clivage est répétée 2 fois avant de procéder à l'étape suivante.

4) Procédure générale de la synthèse optimisée des oligocarbamates

a. Etape 1

Du DSC est solubilisé dans de l'ACN anhydre par chauffage. La solution résultante (0.26 M, 6 eq.) est ajoutée à un réacteur adapté à l'irradiation micro-ondes contenant de la résine de Wang fonctionnalisée par un alcool terminal préalablement synthétisée (1 eq.) et gonflée avec du DMF. De la pyridine (8 eq.) est ensuite ajoutée et le réacteur est refermé sous flux d'argon. Le mélange réactionnel est agité sous irradiation micro-ondes (8W ; Monowave 300, Anton Paar) à 60°C pendant 1h. La résine est ensuite transférée dans un tube SPE et lavée plusieurs fois avec du DMF avant de procéder à l'étape suivante.

b. Etape 2

Une solution de monomère alcool aminé dans du DMF anhydre (10 eq., 0.43 M) est ajoutée à un tube SPE contenant une résine de Wang présentant un carbonate fonctionnalisé par un groupe NHS préalablement synthétisé. (1 eq.). De la pyridine (12

eq) est ensuite ajoutée et le mélange réactionnel est agité (shaker KS 130 basic) à t. a. pendant 15 minutes. La résine est ensuite transférée dans un tube SPE et lavée plusieurs fois séquentiellement avec du DMF, avec du DCM et de l'éther diéthylique. Elle est ensuite clivée afin de récupérer l'oligomère ou transférée dans un réacteur adapté à l'irradiation micro-ondes pour réagir lors d'une nouvelle étape 1.

c. Clivage

La résine de Wang modifiée avec l'oligomère désiré est transférée dans un pilulier. Une solution de TFA dans du DCM (1/1 : V/V) est ajoutée et le mélange réactionnel est agité (shaker KS 130 basic) à température ambiante pendant 90 minutes avant d'être filtré. La résine est lavée avec du dichlorométhane puis le filtrat est concentré à pression réduite. L'huile résultante est solubilisée dans du DCM, concentrée à pression réduite, puis dans du MeOH et à nouveau concentrée. Cette étape est répétée jusqu'à l'obtention de l'oligocarbamate désiré sous forme de solide blanc.

¹H RMN (**P13**) (400 MHz, DMSO-d6) δ (ppm) = 7.08 (m, 6.5 H, h-H), 6.75 (s, 0.5 H, h-H), 4.37 (t, J = 6.6 Hz, 1H, r-H), 3.99-3.88 (m, 11H, f-H, q-H), 3.73 (m, 2H, p-H), 2.96 (m, 12H, i-H, l-H), 2.19 (t, J = 7.2 Hz, 2H, b-H), 1.69-1.21 (m, 30H, c-H, d-H, e-H, j-H, k-H, m-H, n-H), 0.86 (d, J = 6.7 Hz, 3H, o-H). ¹³C RMN (**P13**) (100 MHz, DMSO-d6) δ (ppm) = 174.8, 158.8, 68.7, 63.9, 63.8, 38.5, 34.0, 33.6, 30.7, 29.0, 26.6, 26.5, 26.0, 25.5, 25.4, 24.7, 17.0.

5) MS et MS/MS de composés décrits dans le Chapitre II

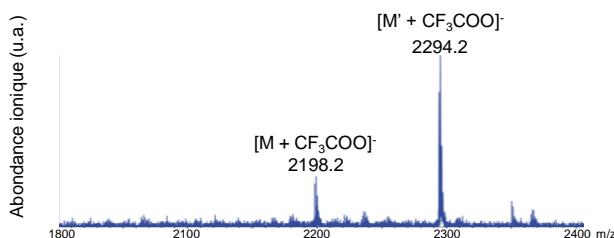


Figure 38: Spectre MS en mode négatif de l'oligomère P14.

M' correspond au produit estérifié par le TFA

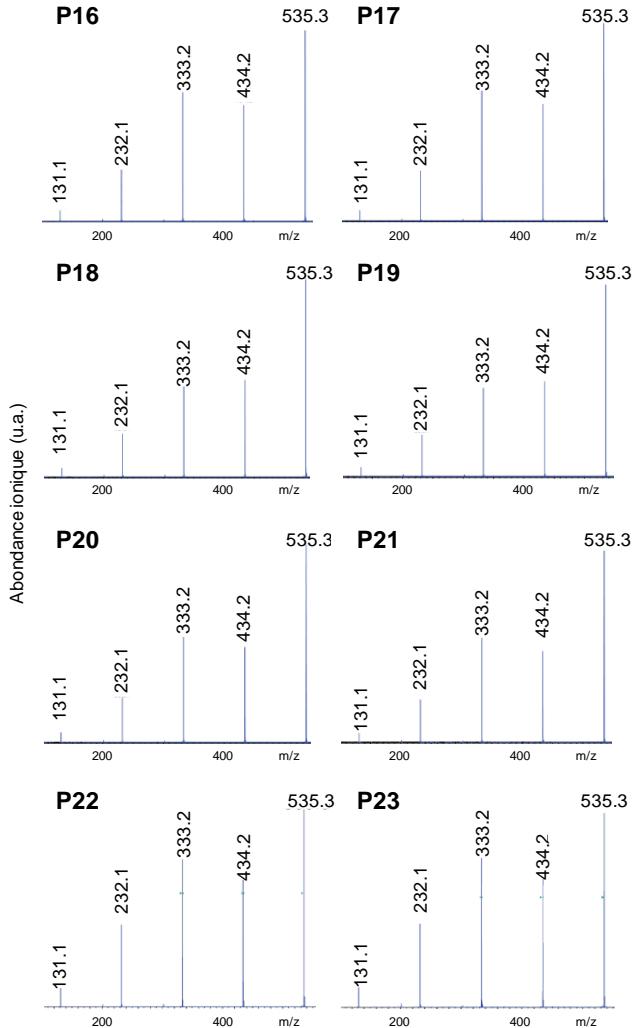
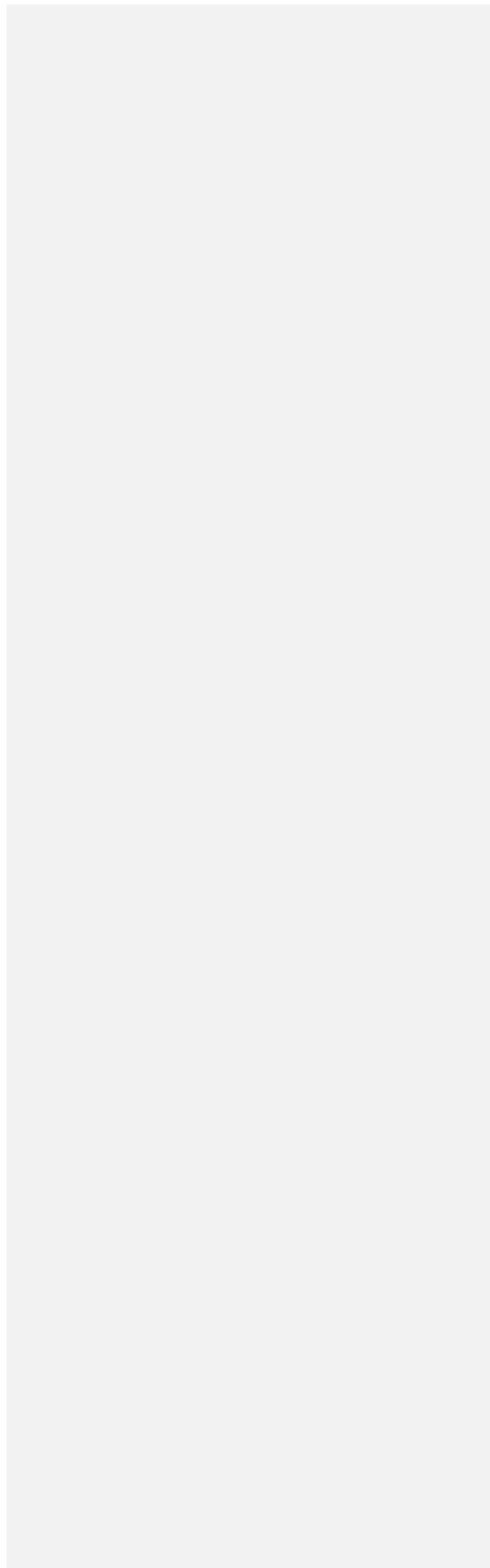


Figure 39: Spectres MS/MS en mode négatif des tétramères d'alphabet C_{2R}/C_{2S}.

Chapitre III:

Dépolymérisation séquentielle de polycarbamates



I. Introduction

Dépolymériser de façon séquentielle des polymères, monomère par monomère, n'est à l'heure actuelle possible que pour les peptides.^{[137]-[138]} Trouver une méthode de dépolymérisation séquentielle de polymères numériques permettrait à la fois le séquençage de ces molécules par une nouvelle technique, et d'imaginer des systèmes d'effaçage/réécriture sélectifs des données contenues dans ces polymères. L'objectif de ce chapitre est de trouver une méthode de dépolymérisation séquentielle des polyuréthanes à séquences définies.

Ces molécules étant composés de monomères liés entre eux par des liaisons carbamates, la réactivité de ces fonctions doit être mise à profit. Les carbamates sont en effet à la fois électrophiles du fait de la présence d'un carbonyle, et nucléophiles, s'ils sont déprotonés par une base forte. La dernière unité constitutive des oligomères synthétisés via la méthode décrite dans le Chapitre II diffère des autres monomères par la présence d'une fonction hydroxyle terminale. Des réactions itératives peuvent donc être mises en place: une première série d'étapes aura pour but de modifier l'unité terminale du polymère, grâce à la présence de la fonction hydroxyle, afin de la différencier des autres unités ; une seconde série d'étapes aura pour but de cliver sélectivement l'unité modifiée. La Figure 40 présente les deux stratégies de dépolymérisation envisagées dans ce travail. La première stratégie repose sur le caractère électrophile des carbamates, la seconde sur leur caractère nucléophile.

La première stratégie consiste à modifier la fonction hydroxyle de l'unité terminale en un groupe nucléophile. Pour ce faire, au moins deux étapes sont nécessaires: la conversion de cet alcool en groupe partant (a_1) et la substitution de ce dernier par un nucléophile (a_2). L'addition/élimination de ce nucléophile sur le carbamate^[157] de la dernière unité devrait produire un hétérocycle constitué des atomes de la dernière unité, ainsi que le polymère clivé (b) présentant une nouvelle fonction hydroxyle. L'alcool résultant pourra à nouveau être converti en groupe nucléophile et intervenir dans une nouvelle étape de clivage par répétition itérative des étapes a_1 , a_2 et b. L'efficacité et la sélectivité de l'addition du nucléophile sur le carbamate le plus proche provoquant l'élimination de l'alcool terminal du polymère tronqué lors de l'étape de

clavage sont les facteurs clefs pour la mise en œuvre de cette stratégie de dépolymérisation.

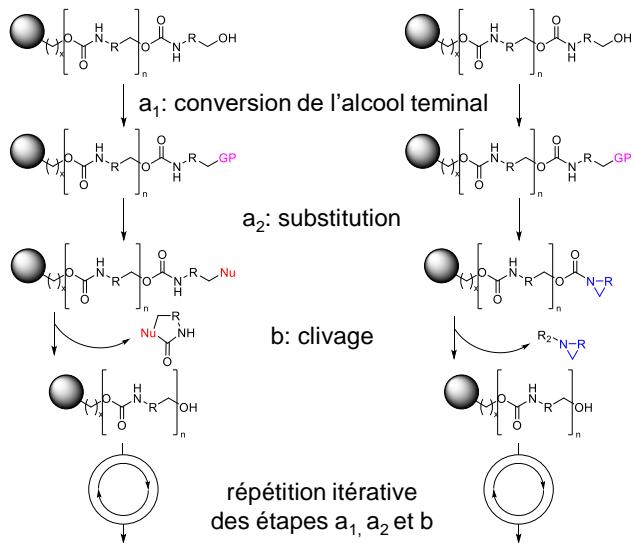


Figure 40: Première (gauche) et seconde (droite) stratégies de dépolymérisation séquentielle d'oligocarbamates.

GP représente un groupe partant. *Nu* représente un groupe nucléophile. R_2 dépendra de la réaction utilisée pour le clavage.

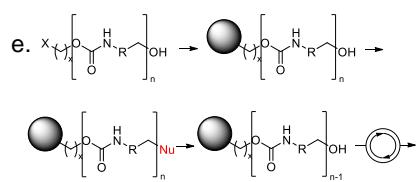
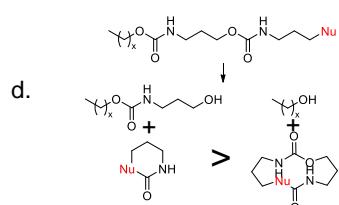
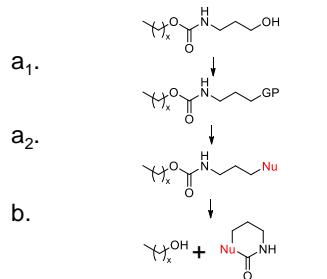
La seconde stratégie de dépolymérisation consiste à modifier le carbamate de l'unité terminale en carbamate secondaire. Afin d'obtenir un carbamate secondaire sur l'unité terminale du polymère, l'alcool terminal doit être converti en groupe partant (a₁). La substitution de ce dernier par la fonction carbamate la plus proche devrait être permise par l'ajout d'une base forte et résulter en un carbamate secondaire cyclique (a₂). Les carbamates secondaires ont une réactivité différente des carbamates primaires vis-à-vis de nucléophiles ou d'hydrures. Aussi, le polymère tronqué, devrait être produit par une réaction de clavage par addition/élimination ou par réduction de la dernière unité (b). L'alcool résultant pourra à nouveau être converti en carbamate secondaire et être clivé par répétition itérative des étapes a₁, a₂ et b. L'efficacité et la sélectivité de la

substitution et du clivage sont les facteurs clefs pour la mise en œuvre de cette stratégie de dépolymérisation.

Afin de pouvoir dépolymériser entièrement un polymère, toutes les réactions envisagées doivent être quasi quantitatives, aussi, les conditions opératoires doivent être optimisées pour chaque étape. La faible solubilité des oligomères synthétisés dans le Chapitre II ne permet pas d'envisager de les utiliser pour cibler les conditions opératoires. De plus, l'acide carboxylique en bout de chaîne α de ces oligomères, résultant de la synthèse supportée, peut interagir avec les réactifs lors des différentes réactions envisagées. Le problème de solubilité peut être surmonté en dépolymérisant ces oligomères sur support, ce qui permettrait, en plus, d'augmenter les rendements et de faciliter les étapes de purification. Cette technique ne permet cependant pas d'analyser facilement les produits des différentes réactions. Le choix du support et du bras espaceur sera aussi dépendant des différentes conditions réactionnelles envisagées. Aussi l'étude des conditions réactionnelles a été dans un premier temps réalisé en solution sur des molécules modèles, dans le but d'être adapté par la suite sur support. La Figure 41 récapitule l'approche visant à mettre en place le séquençage chimique de polyuréthanes à séquences définies.

Dans les deux stratégies envisagées, les étapes a. b. c. et d. peuvent être étudiées en parallèle à l'aide de molécules modèles. Chacune doit être suffisamment efficace pour être adaptées à la dépolymérisation d'un oligomère, après optimisation des conditions sur support.

Première stratégie



Seconde stratégie

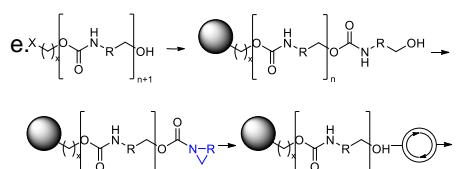
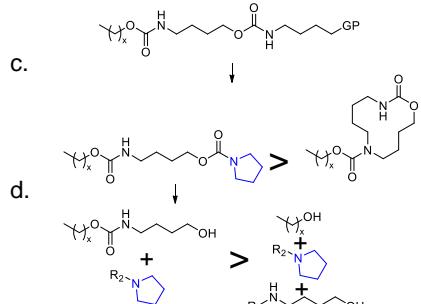
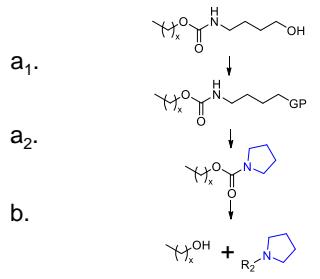


Figure 41: Approche utilisée pour concevoir une stratégie de dépolymérisation séquentielle de polyuréthanes.

GP et Nu représentent respectivement un groupe partant et un groupe nucléophile. R₂ dépendra de la réaction utilisée pour le clivage. a1. conversion du groupe terminal en groupe partant a2. substitution b. clivage c. sélectivité de la substitution d. sélectivité du clivage e. adaptation et optimisation des conditions sur support.

II. Résultats et discussions

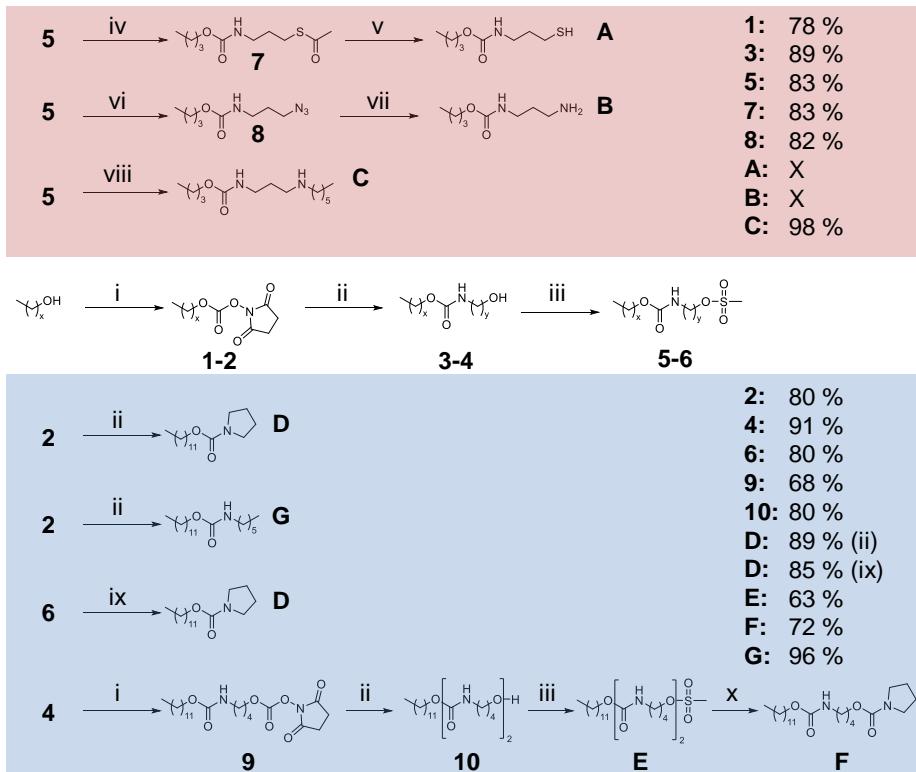


Schéma 10: Synthèse des différentes molécules décrites dans le Chapitre III.

i: DSC, TEA, ACN, 60°C, 8 W, 1 h ; ii: aminopropanol/aminobutanol/hexylamine/pyrrolidine, TEA, DCM, t.a., 1h ; iii: MsCl, TEA, 0°C, 1 h puis t.a., 0.5 h ; iv: thioacétate de potassium, DMF, t.a. 16 h ; v: hydrazine, DCM, t.a., 16 h ; vi: azoture de sodium, THF, H₂O, reflux, 2 h ; vii: PPh₃, THF, 0°C à t.a., 16h ; viii: hexylamine, t.a., 16 h ; ix: NaH, DMF, 0°C, 10 min puis r.t., 16 h ; x: NaH, DMF, t.a., 1.5 h. Pour 1,3 et 5, x = 3 et y = 3. Pour 2,4 et 6, x = 11 et y = 4. Les parties rouges et bleues soulignent respectivement les étapes relatives aux premières et secondes stratégies

Le Schéma 10 montre la voie de synthèse des différentes molécules modèles. Pour plus de clarté, des numéros ont été attribués aux intermédiaires de synthèse et des lettres capitales ont été attribuées aux molécules sur lesquelles des tests de substitution et de clavage ont été réalisés.

1) Première stratégie de dépolymérisation.

La molécule **3** a été synthétisée en deux étapes par addition/élimination de butanol sur le DSC en présence de TEA, puis par l'addition/élimination de 3-amino-1-propanol sur le carbonate de **1**. Le 3-amino-1-propanol a été choisi pour effectuer la deuxième étape afin de permettre la formation d'un hétérocycle à 6 atomes lors de l'étape de clivage. Le but est de favoriser l'addition du nucléophile sur le carbamate le plus proche, ainsi que l'élimination de l'alcool grâce à la formation d'un produit hétérocyclique stable lors du clivage.

a. Conversion du groupe terminal en nucléophile

La première condition nécessaire à la dépolymérisation séquentielle des oligocarbamates par la première stratégie est que l'alcool terminal soit substituable par un groupe nucléophile.

Pour ce faire, la fonction hydroxyle de **3** a été convertie en fonction mésylate par réaction avec le chlorure de mésylate (MsCl). Trois nucléophiles différents ont été envisagés. Afin d'obtenir un thiol, la fonction mésylate de la molécule **5** a été substituée par le thioacétate de potassium et le thioester de **7** ainsi obtenu a été réduit par l'action d'hydrazine. Malgré les conditions réductrices utilisées pour cette dernière étape de synthèse, le produit de cette réaction est un mélange de **A** et du disulfure correspondant. Afin d'obtenir une amine primaire, la fonction mésylate de la molécule **5** a été substituée par un azoture et la molécule **8** ainsi obtenue a été réduite par réaction de Staudinger. Cette réaction n'a pas permis d'isoler l'amine **B** de l'oxyde triphénylphosphine, sous-produit de la réaction. Enfin une amine secondaire a été obtenue par substitution de la fonction mésylate de la molécule **5** par l'hexylamine, produisant la molécule **C**. Même si les molécules **A** et **B** n'ont pas été isolées des sous-produits des réactions, elles ont été conservées, avec la molécule **C** pour les tests de clivage, car l'étape de clivage est l'étape clef de la première stratégie de dépolymérisation. Si des conditions sont trouvées pour le clivage de la molécule **A** ou de la molécule **B**, les conditions de substitution de l'alcool terminal par un thiol ou par une amine pourront être par la suite optimisées sur support.

b. Clivage de l'unité terminale.

La réaction de clivage a été testée en présence de bases et d'acides de Lewis, le but étant de trouver des conditions permettant à la fois l'addition du groupe nucléophile sur le carbamate ainsi que l'élimination du groupement alcool. Le Tableau 3 (page 106) compile certaines conditions testées pour le clivage des molécules **A**, **B** et **C**.

Aucune condition testée n'a permis d'effectuer l'addition/élimination du groupe nucléophile sur le carbamate, aussi, la première stratégie de dépolymérisation a été abandonnée au profit de la seconde.

2) Seconde stratégie de dépolymérisation

La molécule **4** a été synthétisée en deux étapes par l'addition/élimination du 1-dodécanol sur le DSC en présence de TEA, puis par l'addition/élimination de 4-amino-1-butanol sur le carbonate de **2**. Le 4-amino-1-butanol a été choisi afin de favoriser l'attaque nucléophile du carbamate le plus proche sur le groupe partant, produisant un hétérocycle à 5 atomes stable lors de la substitution. Le dodécanol a été choisi pour sa bonne solubilité dans les solvants organiques, permettant l'analyse de spectres ¹H RMN lors de l'étape de clivage (points b. et d. pages 92 et 94).

a. Conversion du carbamate primaire terminal en carbamate secondaire

La première condition nécessaire à la dépolymérisation séquentielle des oligocarbamates par la seconde stratégie nécessite la conversion du carbamate primaire terminal en carbamate secondaire. Pour ce faire, la fonction alcool de **4** est tout d'abord modifiée en fonction mésylate, puis, la substitution nucléophile intramoléculaire de ce groupe partant par le carbamate primaire de la molécule **5** en présence d'hydrure de sodium produit **D**. Ces deux réactions ont de bons rendements, la conversion en carbamate secondaire est donc possible. La sélectivité de la réaction de substitution du groupe partant mésylate par le carbamate de l'unité terminale est étudiée dans le point c. (page 93).

b. Clivage de la dernière unité

Différentes conditions ont été testées en vue de cliver le carbamate secondaire de la molécule **D**. Le Tableau 4 (page 107) récapitule certaines conditions étudiées pour ce clivage. Une quantité importante de **D** a été utilisée pour ces tests, aussi une autre stratégie de synthèse, plus efficace, de cette molécule a été utilisée. Elle consiste en l'addition/élimination de la pyrrolidine sur le carbonate de **2**, ce qui économise deux étapes de synthèse.

Parmi les conditions testées, l'hydrolyse en milieu basique ainsi que les réductions par BH_3 et par NaBH_4 montrent des traces du produit attendu par ces réactions sur la molécule **D**, à savoir le dodécanol. La réduction par LAH permet une réduction totale de **D** (Figure 42).

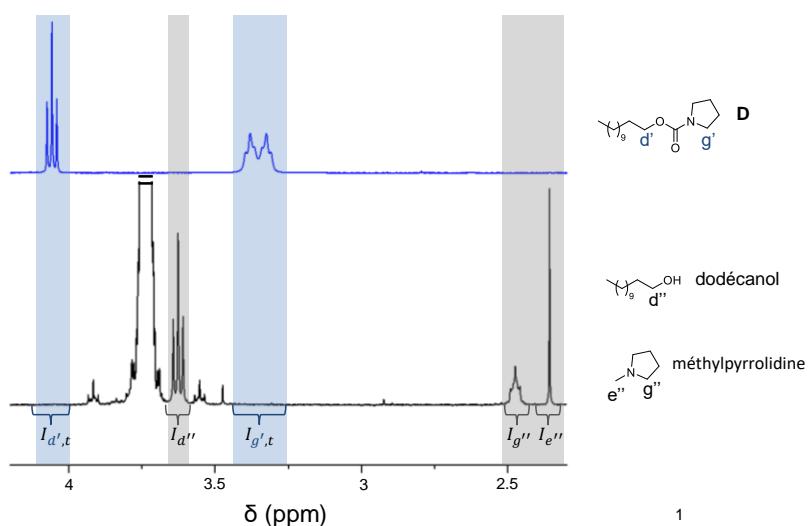


Figure 42: Spectre ^1H RMN de **D** avant (haut) et après réduction par LAH (bas).

Les bandes bleues soulignent les pics caractéristiques des protons du carbamate secondaire cyclique. Les bandes grises soulignent les pics caractéristiques des protons des produits.

Le spectre ^1H RMN du produit de la réduction de **D** par LAH montre l'apparition du pic des protons RCH_2OH du dodécanol (d'') à 3.63 ppm et la disparition des pics correspondant aux protons $\text{R}_1\text{CH}_2\text{OOCN}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2$ (d') à 4.06 ppm et

$R_1CH_2OOCN(CH_2CH_2)_2$ (g') à 3.35 ppm, caractéristiques du carbamate secondaire cyclique de **D**. L'autre produit attendu, la N-méthylpyrrolidine est en partie complexée par les sels d'aluminium. Les intégrales $I_{g''}$ (0.9H) et $I_{e''}$ (0.7H) des pics correspondants respectivement aux protons $(CH_2CH_2)_2NCH_3$ (g'') et $(CH_2CH_2)_2NCH_3$ (e''), caractéristiques de ce produit sont de ce fait moins importantes que $I_{d''}$ (2H). La sélectivité de ce clivage est discutée dans le point d.

c. Sélectivité de la substitution

Afin de déterminer la sélectivité de la substitution du mésylate par le carbamate de l'unité terminale d'un oligomère, la molécule modèle **E** a été synthétisée en trois étapes à partir de **4**. Pour ce faire, **4** a été transformé en **9** par réaction de son alcool avec le DSC, puis en **10** par réaction de **9** avec le 4-amino-1-butanol. Enfin, la fonction hydroxyle de **10** a été transformée en groupe partant mésylate. Afin de déterminer la sélectivité de la substitution de ce mésylate par le groupe carbamate de l'unité terminale, par rapport au carbamate d'une autre unité, la molécule **E** a été mise en présence d'un excès d'hydrure de sodium dans du DMF. L'analyse 1H RMN du mélange réactionnel, après extraction, permet de déterminer l'avancement et la sélectivité de cette réaction (Figure 43).

La consommation totale du réactif de départ au bout d'une heure et demie de réaction est établie grâce à la disparition du pic à 3.01 ppm, correspondant aux protons $RCH_2OSO_2CH_3$ (l), caractéristique du mésylate. L'apparition des pics à 3.39 et 1.88 ppm, respectivement caractéristiques des protons $R_1CH_2OOCN(CH_2CH_2)_2$ (g') et $R_1CH_2OOCN(CH_2CH_2)_2$ (h') du carbamate secondaire cyclique indique la présence du produit. Aucun signe du produit de substitution par le carbamate de la première unité du dimère n'est visible. De plus, la comparaison des intégrales $I_{h',t}$ (4H) et $I_{g,t}$ (2H) indique une concentration identique de carbamates primaires et secondaires en solution. La réaction de conversion du mésylate en carbamate secondaire s'effectue donc uniquement avec le carbamate de la dernière unité comme nucléophile. Sa sélectivité et son efficacité sont donc excellentes.

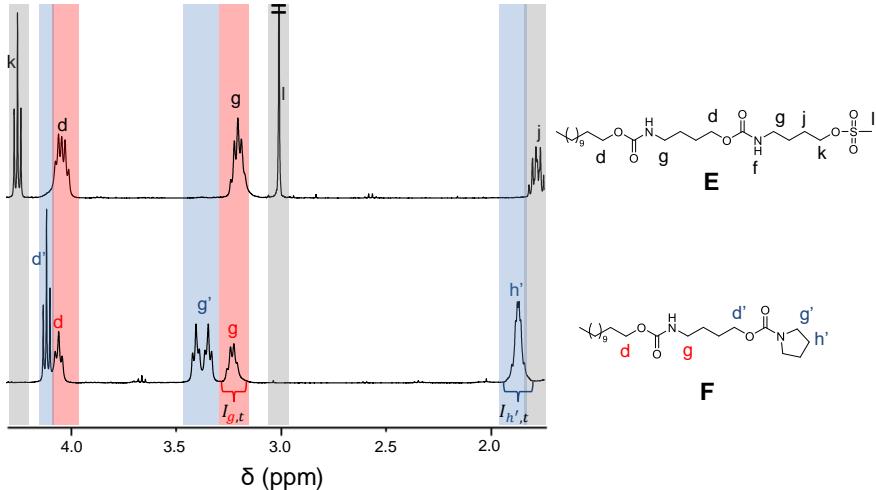


Figure 43: Spectre ^1H RMN de la molécule **E** avant (haut) et après traitement par l'hydrure de sodium (bas).

Les bandes bleues soulignent les pics caractéristiques des protons du carbamate secondaire cyclique. Les bandes rouges soulignent les pics caractéristiques des protons du carbamate primaire. Les bandes grises soulignent les pics caractéristiques des protons de la fonction mésylate.

d. Sélectivité du clivage

Afin d'explorer la sélectivité du clivage, la molécule **G**, a été synthétisée par addition/élimination de l'hexylamine sur **2**. Cette molécule sert de modèle de carbamate primaire. Le clivage quantitatif du carbamate secondaire de **D** n'ayant été obtenu que par réduction avec LAH, différentes expériences visant à trouver des conditions permettant de réduire sélectivement le carbamate secondaire de **D**, mais pas le carbamate primaire de **G**, ont été menées, tout d'abord sur les molécules séparées. Dans l'idéal, un excès de LAH est utilisé afin d'obtenir un avancement maximal pour la réduction de **D**. Les différentes conditions utilisées en utilisant un excès de LAH, permettant de réduire quantitativement **D** n'ont jamais permis de déterminer un protocole où le carbamate primaire de **G** n'est pas en partie réduit (Tableau 5, page 108). Les différentes réactions ont néanmoins permis de déterminer que la réaction est toujours efficace à -78°C et à une concentration de LAH de 0.2 M. Dans un second temps, des expériences de réduction de la molécule **D** par un

équivalent de LAH en présence de **G** ont été mises en œuvre afin de déterminer la sélectivité de cette réaction pour le carbamate secondaire. La sélectivité d'un réactif pour deux substrats différents n'est pas un concept qui a été défini en termes quantitatifs,^[158] aussi, la sélectivité de ces réactions sera exprimée par le ratio *R* de produit désiré de la réduction du carbamate secondaire de **D** par rapport au produit des réductions de **G** et de **D** :

$$R = \frac{n_{produit,D}}{n_{produitD+G}}$$

Avec : $n_{produit,D}$: la quantité de dodécanol produite par la réduction de **D** ; $n_{produitD+G}$: la quantité de dodécanol produite par la réduction de **D** et de **G**.

Afin de calculer l'avancement de la réaction par rapport au réactif **D** (ξ) ainsi que *R*, Les spectres ¹H RMN des produits de ces réactions ont été exploités (Figure 44).

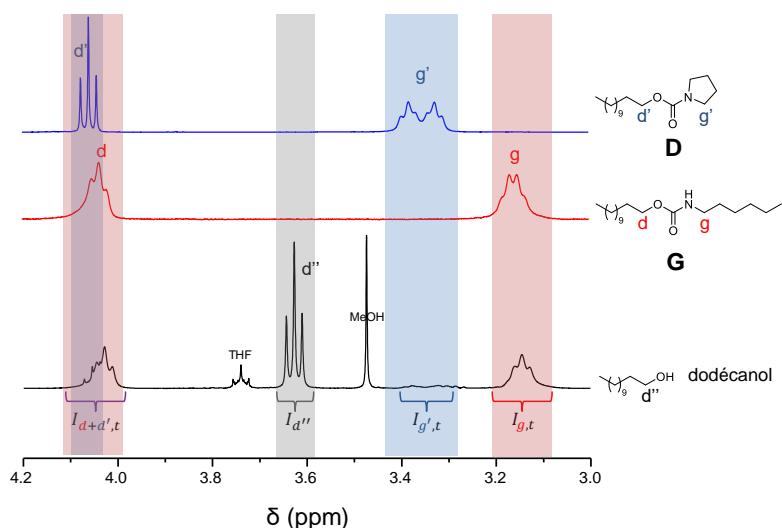


Figure 44: Spectres ¹H RMN de **D** (bleu), de **G** (rouge) et du produit de la réduction de ces deux composés par LAH.

Les bandes bleues soulignent les pics caractéristiques des protons du carbamate secondaire cyclique. Les bandes rouges soulignent les pics caractéristiques des protons du carbamate primaire. Les bandes grises soulignent les pics caractéristiques des protons du produit.

Après réaction, le pic des protons RCH_2OH du dodécanol (d'') est clairement identifiable à 3.63 ppm. L'intégrale de ce pic ($I_{d''}$) renseigne sur la concentration relative de dodécanol à la fin de la réaction. Le pic à 4.03 ppm correspond à la fois aux protons $\text{R}_1\text{CH}_2\text{OOCNHCH}_2\text{R}_2$ du carbamate primaire de **G** (d) et aux protons $\text{R}_1\text{CH}_2\text{OOCN}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2$ du carbamate secondaire de **D** (d'). L'intégrale de ce pic ($I_{d+d',t}$) renseigne sur les concentrations des composés **G** et **D** à la fin de la réaction. En connaissant la quantité de matière des composés **G** et **D** introduits au temps 0 ($n_{D+G,0}$), la quantité de dodécanol produite à la fin de la réaction peut être déduite. En effet, le dodécanol est produit par la réduction de **D** et de **G**, il en résulte :

$$I_{d''} + I_{d+d',t} = I_{d+d',0} = k \times n_{D+G,0}$$

avec : $I_{d+d',0}$: intégrale théorique du pic à 4.03 ppm au temps 0 ; k : constante

La constante k relie ainsi pour chaque expérience la quantité de matière à l'intégrale mesurée en ^1H RMN. L'intégrale du pic à 3.15 ppm, correspondant aux protons $\text{R}_1\text{CH}_2\text{OOCNHCH}_2\text{R}_2$ (g) du carbamate primaire de **G** ($I_{g,t}$), renseigne ainsi sur la quantité de **G** à la fin de la réaction ($n_{G,t}$) et celle du pic à 3.35 ppm, correspondant aux protons $\text{R}_1\text{CH}_2\text{OOCN}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2$ (g') du carbamate secondaire de **D** ($I_{g',t}$), renseigne sur la quantité de **D** à la fin de la réaction ($n_{D,t}$) par les relations :

$$n_{G,t} = \frac{I_{g,t}}{k} \quad \text{et} \quad n_{D,t} = \frac{I_{g',t}}{2k} = \frac{I_{d+d',t} - I_{g,t}}{k}$$

La détermination des quantités de dodécanol produites respectivement par les réductions de **D** et des deux réactifs **D** et **G** devient possible via les relations :

$$n_{produit,D} = n_{D,0} - n_{D,t} = n_{D,0} - \frac{I_{g',t}}{2k} \quad \text{et} \quad n_{produit,D+G} = \frac{I_{d''}}{k}$$

Le Tableau 6 (page 109) résume les conditions utilisées pour les réactions visant à déterminer des conditions permettant d'obtenir un ratio R et un ξ proches de 1. Toutes les conditions utilisées montrent que la réaction de LAH avec le carbamate secondaire est favorisée par rapport à la réduction du carbamate primaire. Dans les meilleures conditions testées, la réaction de clavage de la dernière unité montre un avancement de 0.94 par rapport au carbamate secondaire et un R de 0.97. Ces conditions ont été utilisées sur la molécule **F**, qui contient à la fois un carbamate primaire et un

carbamate secondaire. L'avancement déterminé pour la réduction du carbamate primaire de cette molécule est de 0.90, son *R* de 0.93.

L'avancement et la sélectivité de la réduction de **F** sont bons, mais ne permettraient néanmoins pas de dépolymériser un oligomère. En effet, comme pour la polymérisation multi-étapes, chaque étape itérative incomplète de dépolymérisation séquentielle impacte la qualité de l'étape suivante. Néanmoins, ces résultats sont encourageants et permettent de penser que cette méthode peut être adaptée sur résine afin de trouver des conditions idéales, à la fois pour la conversion de l'alcool terminal en mésylate mais aussi pour la substitution et le clivage, permettant la dépolymérisation contrôlée d'oligocarbamates à séquences définies.

e. Adaptation et optimisation des conditions sur support.

L'adaptation et l'optimisation des conditions sur support n'ont pas été explorées expérimentalement. Néanmoins, vu les conditions de clivage retenues, l'oligomère ne devra pas être lié à la résine par une fonction ester, sensible à la réduction.

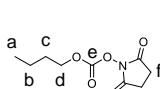
III. Conclusion

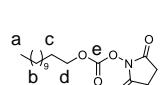
Des approches visant à déterminer une méthode de dépolymérisation séquentielle de polycarbamates à séquences définies *via* deux stratégies ont été mises en œuvre. Elles consistent à tester des conditions réactionnelles permettant le clivage sélectif de l'unité terminale des oligomères sur des molécules modèles. Pour ce faire, diverses molécules modèles ont été synthétisées. La première stratégie se base sur l'addition/élimination d'un nucléophile sur le carbonyle d'un carbamate. Aucun clivage n'a été observé dans les conditions étudiées. La seconde stratégie consiste à modifier un carbamate primaire en carbamate secondaire, et à cliver ce dernier. Afin de modifier un carbamate primaire en carbamate secondaire, la fonction hydroxyle d'une molécule portant une fonction carbamate a été transformée en mésylate, puis, le carbamate primaire agit comme nucléophile en présence d'hydrure de sodium dans une réaction de substitution intramoléculaire. Des conditions de clivage ont ensuite été étudiées. La réduction par LAH du carbamate secondaire produit les produits désirés. Pour tester la sélectivité de ces deux réactions, la fonction hydroxyle d'une molécule comprenant deux carbamates a été convertie en mésylate. Un des carbamates a été converti en carbamate secondaire par ajout d'hydrure de sodium. Seul le carbamate le plus proche réagit sur le groupe partant mésylate, produisant une molécule comprenant un carbamate primaire et un carbamate secondaire. Son carbamate secondaire a été réduit par LAH dans des conditions préalablement déterminées avec un avancement de 0.90 et une sélectivité de 0.93. Les oligocarbamates tels que ceux synthétisés dans le Chapitre II sont trop peu solubles pour pouvoir adapter cette méthode en solution, elle doit encore être adaptée sur support avant d'être utilisée sur les oligomères.

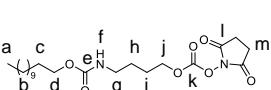
IV. Procédures expérimentales

1) Obtention des molécules modèles

a. Synthèse des molécules 1, 2 et 9

 A une solution de DSC (1.3g, 5.1 mmol, 1.1 eq.) solubilisé par chauffage dans de l'ACN (6 mL) est ajouté de la TEA (700 µL, 5.2 mmol, 1.2 eq.). La solution résultante est ajoutée à du butan-1-ol (300 mg, 4.5 mmol, 1 eq.) et le milieu réactionnel est agité à 60°C sous irradiation micro-ondes (8 W) pendant 1 heure. Le solvant est évaporé à pression réduite et l'huile résultante a été purifiée par chromatographie sur colonne de silice (acétate d'éthyle/cyclohexane : 5/5) afin d'obtenir **1** sous forme d'une huile incolore (750 mg, 3.5 mmol, 78 %). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 4.33 (t, J = 6.6 Hz, 2H, d-H), 2.83 (s, 4H, f-H), 1.74 (m, 2H, c-H), 1.44 (m, 2H, b-H), 0.96 (t, J = 7.4 Hz, 3H, a-H). ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 168.8, 151.8, 71.5, 30.51, 25.61, 18.9, 13.69.

 La même procédure a été utilisée pour la synthèse de **2**. DSC (960 mg, 3.75 mmol, 2.3 eq.) ; TEA (800 µL, 5.9 mmol, 1.6 eq.) ; ACN (6 mL) ; dodécanol (305 mg, 1.6 mmol, 1 eq.) ; éluant: acétate d'éthyle/cyclohexane : 2/8 ; **2** (420 mg, 1.3 mmol, 80 %). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 4.32 (t, J = 6.7 Hz, 2H, d-H), 2.84 (s, 4H, f-H), 2.35 (m, 2H, c-H), 1.39-1.26 (m, 18H, b-H), 0.88 (t, J = 6.9 Hz, 3H, a-H).

 La même procédure a été utilisée pour la synthèse de **9**. DSC (350 mg, 1.37 mmol, 2.4 eq.) ; TEA (350 µL, 2.6 mmol, 4.5 eq.) ; ACN (6 mL) ; **4** (175 mg, 0.58 mmol, 1 eq.) ; éluant: acétate d'éthyle/cyclohexane : 5/5 ; **9** (170 mg, 0.40 mmol, 68 %). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 4.23(t, J = 6.5 Hz, 2H, j-H), 4.02 (t, J = 5.7 Hz, 2H, d-H), 3.20 (m, 2H, g-H), 2.82 (s, 4H, m-H), 1.77 (m, 2H, i-H), 1.60 (m, 4H, c-H, h-H), 1.24 (m, 18H, b-H), 0.86 (t, J = 6.8 Hz, 3H, a-H). ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 168.7, 156.9, 131.5, 71.0, 65.0, 40.2, 40.1, 31.9, 29.6, 29.5, 29.3, 29.0, 26.2, 25.9, 25.6, 25.5, 22.7, 14.1

b. Synthèse des molécules 3, 4, D, G et 10

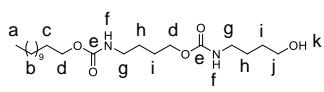
A une solution de **1** (236 mg, 1.1 mmol, 1eq.) dans du DCM (4 mL) a été ajouté de la TEA (200 µL, 1.5 mmol, 1.3 eq.) et du 3-amino-1-propanol (120 mg, 1.6 mmol, 1.5 eq.). Le milieu réactionnel a été agité pendant 1 heure à température ambiante. La phase organique a ensuite été ensuite lavée avec de l'HCl aqueux (1 M, 10 mL) puis avec de l'eau (2 x 10 mL). La phase organique a été séchée sur du sulfate de sodium anhydre, puis filtrée et concentrée par évaporation à pression réduite afin d'obtenir **3** sous forme d'une huile incolore (170 mg, 0.97 mmol, 89 %).¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 4.85 (s, 1H, f-H), 4.07 (t, J = 6.6 Hz, 2H, d-H), 3.68 (m, 2H, i-H), 3.34 (m, 2H, g-H), 2.65 (s, 1H, j-H), 1.56-1.74 (m, 4.5H, c-H, h-H), 1.37 (m, 2H, b-H), 0.93 (t, J = 7.4 Hz, 3H, a-H).¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 158.0, 65.2, 59.6, 37.6, 32.9, 31.2, 19.2, 13.9.

La même procédure a été utilisée pour la synthèse de **4**. **2** (140 mg, 0.44 mmol, 1 eq.) ; DCM (3 mL) ; TEA (50 µL, 0.37 mmol, 1.4 eq.) ; 4-amino-1-butanol (50 mg, 0.57 mmol, 2.1 eq.) ; **4** (117 mg, 0.40 mmol, 91 %).¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 4.72 (s, 1H, f-H), 4.04 (t, J = 6.4 Hz, 2H, d-H), 3.68 (m, 2H, j-H), 3.34 (m, 2H, g-H), 1.60 (m, 6H, c-H, h-H, i-H) 1.41-1.26 (m, 18H, b-H), 0.88 (t, J = 6.9 Hz, 3H, a-H).

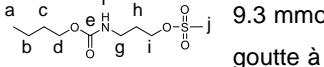
La même procédure a été utilisée pour la synthèse de **D**. **2** (180 mg, 0.57 mmol, 1 eq.) ; DCM (16 mL) ; TEA (150 µL, 1.1 mmol, 2 eq.) ; pyrrolidine (80 mg, 1.1 mmol, 1.9 eq.) ; **D** (144 mg, 0.51 mmol, 89 %).¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 4.06 (t, J = 6.7 Hz, 2H, d'-H), 3.36 (m, 4H, g'-H), 1.85 (m, 4H, h'-H), 1.61 (m, 2H, c-H), 1.32-1.26 (m, 18 H, b-H), 0.88 (t, J = 6.9 Hz, 3H, a-H).¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 155.5, 65.2, 46.2, 45.8, 29.8, 29.7, 29.5, 22.8, 14.3.

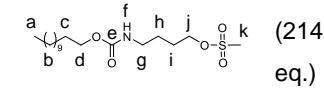
La même procédure a été utilisée pour la synthèse de **G**. **2** (180 mg, 0.57 mmol) ; DCM (16 mL) ; TEA (150 µL, 1.1 mmol, 2 eq.) ; hexylamine (115 mg, 1.1 mmol, 1.9 eq.) ; **G** (165 mg, 0.55 mmol, 96 %).¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 4.59 (s, 1H, f-H), 4.03 (t, J = 6.3 Hz, 2H, d-H), 3.16 (m, 2H, g-H), 1.59 (m, 2H, c-H), 1.47 (m, 2H, h-H), 1.29-1.26 (m,

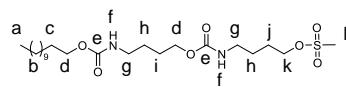
24 H, b-H, i-H, j-H, k-H), 0.88 (m, 6H, a-H, l-H). ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 157.0, 65.1, 41.1, 29.8, 29.7, 29.5, 22.8, 22.7, 14.7, 14.2.


La même procédure a été utilisée pour la synthèse de **10.9** (160 mg, 0.36 mmol, 1 eq.) ; DCM (10 mL) ; TEA (70 μL , 0.52 mmol, 1.4 eq.) ; 4-amino-1-butanol (70 mg, 0.79 mmol, 2.2 eq.) ; **10** (120 mg, 0.29 mmol, 80 %). ^1H RMN (400 MHz, MeOD) δ (ppm) = 4.01 (m, 4H, d-H,), 3.56 (t, J = 6.2 Hz, 2H, j-H), 3.11 (m, 4H, g-H), 1.62-1.55 (m, 10H, c-H, h-H, i-H), 1.29 (m, 18H, b-H), 0.90 (t, J = 6.9 Hz, 3H, a-H).

c. Synthèse des molécules 5, 6 et E

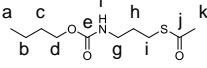

A une solution **3** (1.0 g, 5.7 mmol, 1 eq.) et de TEA (1.25 mL, 9.3 mmol, 1.6 eq.) dans du THF anhydre (10 mL) a été ajouté, goutte à goutte et à 0°C, du MsCl (750 μL , 9.7 mmol, 1.7 eq.). Le mélange réactionnel a été agité à 0°C pendant 1 heure puis à température ambiante pendant 30 minutes. Le solvant a ensuite été évaporé à pression réduite et l'huile résultante a été dissoute dans du DCM (50 mL), et lavée avec de l'eau (2 x 50 mL) et de la saumure (1 x 50 mL). La phase organique a été séchée sur du sulfate de sodium anhydre, puis filtrée et concentrée par évaporation à pression réduite afin d'obtenir une huile qui a été purifiée par chromatographie sur colonne de silice (MeOH/DCM : 0/1 à 1/9) afin d'obtenir **5** sous forme d'une huile incolore (1.20 g, 4.7 mmol, 83 %). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 4.87 (s, 1H, f-H), 4.30 (t, J = 6.0 Hz, 2H, i-H), 4.05 (t, J = 6.3 Hz, 2H, d-H), 3.31 (m, 2H, g-H), 3.03 (s, 3H, j-H), 1.96 (m, 2H, h-H), 1.60 (m, 2H, c-H), 1.37 (m, 2H, b-H), 0.93 (t, J = 7.5 Hz, 3H, a-H).


La même procédure a été utilisée pour la synthèse de **6.4** (**214 mg**, 0.71 mmol, 1 eq.) ; TEA (400 μL , 3.0 mmol, 4.2 eq.) ; THF (10 mL) ; MsCl (240 μL , 3.1 mmol, 4.4 eq.) ; mésylate **6** (215 mg, 0.57 mmol, 80 %). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 4.66 (s, 1H, f-H), 4.25 (t, J = 6.4 Hz, 2H, j-H), 4.04 (t, J = 6.8 Hz, 2H, d-H), 3.23 (m, 2H, g-H), 3.01 (s, 3H, k-H), 1.80 (m, 2H, i-H), 1.62-1.53 (m, 4H, h-H, c-H), 1.30-1.26 (m, 18H, b-H), 0.88 (t, J = 6.9 Hz, 3H, a-H).

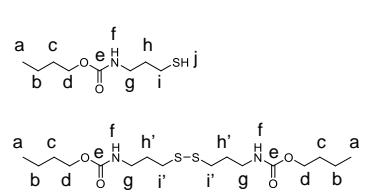


La même procédure a été utilisée pour la synthèse de **E. 10** (120 mg, 0.29 mmol, 1 eq.), TEA (50 µL, 0.37 mmol, 1.3 eq.) ; THF (7 mL) ; MsCl (20 µL, 0.39 mmol, 1.3 eq.) ; éluant: MeOH/DCM : 3/100 ; **E** (90 mg, 0.18 mmol, 63 %).¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 4.81-4.71 (m, 2H, f-H), 4.25 (t, J = 6.4 Hz, 2H, k-H), 4.04 (m, 4H, d-H), 3.20 (m, 4H, g-H), 3.01 (s, 3H, I-H), 1.78 (m, 2H, j-H), 1.63-1.55 (m, 8H, c-H, h-H, i-H), 1.25 (m, 18H, b-H), 0.87 (t, J = 6.8 Hz, a-H). ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 157.0, 156.8, 69.6, 65.2, 64.6, 37.6, 32.1, 29.8, 29.7, 29.5, 26.8, 26.5, 26.4, 26.0, 22.8, 14.27.

d. Synthèse de la molécule 7

 A une solution de **5** (57 mg, 0.23 mmol, 1eq.) dans du DMF (1 mL) a été ajoutée une solution de thioacétate de potassium (170 mg, 1.5 mmol, 5.8 eq.) dans du DMF (2 mL). Le mélange réactionnel a été agité à température ambiante pendant 16 heures. Une solution aqueuse et saturée de chlorure d'ammonium (10 mL) a été ajoutée et la phase aqueuse est extraite avec de l'acétate d'éthyle (20 mL). La phase organique est ensuite lavée avec de la saumure (4 x 20 mL). La phase organique a été séchée sur du sulfate de sodium anhydre, puis filtrée et concentrée par évaporation à pression réduite afin d'obtenir **7** sous la forme d'une huile brune (45 mg, 0.19 mmol, 83 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 4.92 (s, 1H, f-H), 4.05 (t, J = 6.8 Hz, 2H, d-H), 3.21 (m, 2H, g-H), 2.91 (m, 2H, i-H), 2.34 (s, 3H, k-H), 1.78 (m, 2H, h-H), 1.59 (m, 2H, c-H), 1.38 (m, 2H, b-H), 0.93 (t, J = 7.6 Hz, 3H, a-H).

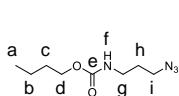
e. Synthèse de la molécule A



A une solution de **7** (45 mg, 0.19 mmol, 1eq.) dans du DCM (2 mL) a été ajouté de l'hydrazine monohydratée (40 mg, 0.80 mmol, 4.2 eq.). Le mélange réactionnel a été agité à température ambiante pendant 2 heures avant d'être dilué dans de l'acétate d'éthyle (10 mL). La phase organique a été lavée avec de l'eau (10 mL) puis séchée sur du sulfate de sodium anhydre, filtrée et concentrée par évaporation à

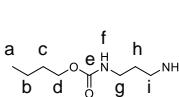
pression réduite afin d'obtenir un mélange de thiol **A** et du disulfure correspondant. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 4.82-4.68 (s, 1H, f-H), 4.06 (m, 2H, d-H), 3.29 (m, 2H, g-H), 2.72 (t, 0.8H, i'-H), 2.57 (m, 1.2H, i-H), 1.90 (m, 0.8H, h'-H), 1.81 (m, 1.2H, h-H), 1.59 (m, 3H, c-H, H_2O), 1.37 (m, 2H, b-H), 0.93 (t, J = 7.6 Hz, 3H, a-H).

f. Synthèse de la molécule 8



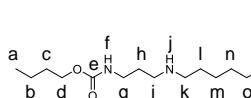
Une solution de **5** (350 mg, 1.4 mmol, 1 eq.) dans du THF (500 μL) a été ajoutée à une solution d'azoture de sodium (220 mg, 3.4 mmol, 2.5 eq.) dans de l'eau (2.5 mL). Le mélange réactionnel a été agité à reflux pendant 2 heures avant d'être dilué dans de l'acétate d'éthyle (10 mL). La phase organique a été lavée séquentiellement avec de l'eau (2×10 mL) et de la saumure (10 mL), puis séchée sur du sulfate de sodium anhydre, filtrée et concentrée par évaporation à pression réduite afin d'obtenir l'azoture **8** (230 mg, 1.2 mmol, 82 %). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 4.76 (s, 1H, f-H), 4.06 (m, 2H, d-H), 3.37 (t, J = 6.58 Hz, 2H, i-H), 3.26 (m, 2H, g-H), 1.83 (m, 2H, h-H), 1.58 (m, 4H, c-H, H_2O), 1.37 (m, 2H, b-H), 0.93 (t, J = 6.9 Hz, 3H, a-H).

g. Synthèse de la molécule B

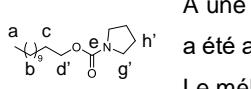


A une solution de **8** (40 mg, 0.16 mmol, 1 eq.) dans du THF (1 mL) a été ajoutée, à 0°C, de la triphénylphosphine (PPh_3) (80 mg, 0.31 mmol, 1.9 eq.). Le mélange réactionnel a lentement été porté à température ambiante et a été agité pendant 20 heures. De l'eau (100 μL) y a ensuite été ajouté et le mélange a de nouveau été agité pendant 4 heures avant d'être dilué dans de l'acétate d'éthyle. La phase organique a été lavée avec de l'eau, puis séchée sur du sulfate de sodium anhydre, filtrée et concentrée par évaporation à pression réduite afin d'obtenir **B**. Cette procédure n'a pas permis de purifier l'amine **B** de l'oxyde de triphénylphosphine. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7.70-7.33 (m, 28H, oxyde de triphénylphosphine), 5.16 (s, 1H, f-H), 4.08 (m, 2H, d-H), 3.30 (m, 2.5H, g-H), 2.86 (m, 1.5H, i-H), 1.89 (m, 5H, j-H, impureté), 1.71-1.61 (m, 4H, h-H, c-H), 1.39 (m, 2H, b-H), 0.95 (t, J = 6.9 Hz, 3H, a-H).

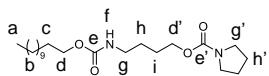
h. Synthèse de la molécule C

 Au composé **5** (32 mg, 0.13 mmol) a été ajoutée de l'hexylamine (1 mL). Le mélange réactionnel a été agité à température ambiante pendant 24 heures avant d'être dilué dans de l'eau et extrait avec de l'AcOEt (20 mL). La phase organique a été lavée avec de l'eau (20 mL), de la saumure (20 mL) puis séchée sur du sulfate de sodium anhydre, filtrée et concentrée par évaporation à pression réduite afin d'obtenir **C** sous forme d'huile (32 mg, 0.12 mmol, 98 %). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 5.50 (s, 1H, f-H), 4.04 (t, 2H, d-H), 3.26 (m, 2H, g-H), 2.70 (t, 2H, i-H), 2.59 (t, 2H, k-H), 1.90 (s, 1H, j-H), 1.68 (m, 2H, h-H), 1.58 (m, 2H, c-H), 1.48 (m, 2H, l-H), 1.39-1.26 (m, 9H, n-H, m-H, o-H, b-H), 0.92 (t, 3H, a-H), 0.88 (t, 3H, p-H). ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 157.4, 64.9, 49.7, 47.4, 39.5, 31.8, 31.3, 29.2, 29.0, 27.0, 22.7, 19.2, 14.2, 13.6.

i. Synthèse la molécule D

 A une solution de **6** (85 mg, 0.22 mmol, 1 eq.) dans du DMF (3 mL) a été ajouté, à 0°C, de l'hydrure de sodium (45 mg, 1.1 mmol, 5 eq.). Le mélange réactionnel a été agité à 0°C pendant 10 minutes puis à température ambiante pendant 16h. Il a à nouveau été porté à 0°C avant l'arrêt de la réaction par ajout d'eau (10 mL), puis dilué dans de l'acétate d'éthyle (10 mL). Les deux phases ont été séparées et la phase organique a été lavée avec de l'eau, puis séchée sur du sulfate de sodium anhydre, filtrée et concentrée par évaporation à pression réduite afin d'obtenir une huile qui a été purifiée par chromatographie sur colonne de silice (AcOEt/cyclohexane : 15/85) afin d'obtenir **D** sous forme d'huile translucide (53 mg, 0.19 mmol, 85 %).

j. Synthèse de la molécule F



De l'hydrure de sodium (80 mg, excès) a été lavé avec du n-pentane (3×2 mL). Les traces de solvant ont ensuite été évaporées à pression réduite. La poudre résultante a été ajoutée à une solution de **E** (21 mg, 0.042 mmol, 1 eq.) dans du DMF anhydre (1.5 mL). Le mélange réactionnel a été agité à température ambiante pendant 90 minutes puis dilué dans de l'acétate d'éthyle (10 mL). De l'eau (10 mL) a été ajoutée et les deux phases ont été séparées. La phase aqueuse a été extraite avec de l'acétate d'éthyle (10 mL). Les phases organiques ont été combinées, lavées avec de l'eau (4×20 mL), séchées sur du sulfate de sodium anhydre, puis filtrées, concentrées par évaporation à pression réduite afin d'obtenir **F** sous forme d'un solide blanc (12 mg, 0.030 mmol, 72 %). L'analyse ^1H RMN montre des traces de graisse minérale. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 4.11 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H, d'-H), 4.05 (m, 2H, d-H), 3.39 (m, 4H, g'-H), 3.23 (m, 2H, g-H), 1.88 (m, 4H, h'-H), 1.69-1.60 (m, 8H, c-H, h-H, i-H), 1.28 (m, 21H, b-H), 0.90 (t, $J = 6.7$ Hz, 4H, a-H). ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 156.8, 155.2, 65.0, 64.5, 46.1, 45.7, 40.7, 31.9, 29.7, 29.6, 29.3, 29.1, 26.7, 26.5, 25.9, 25.8, 22.7, 14.1.

2) Etudes des conditions réactionnelles

Les études des différentes conditions réactionnelles sont résumées sous forme de tableau. Seules les procédures expérimentales les plus pertinentes sont décrites dans le détail. Ces dernières sont indiquées en gras dans les tableaux. La procédure permettant de déterminer la substitution sélectivité est décrite dans le point j. ci-dessus.

a. Première stratégie: clivage de l'unité terminale.

réactif	<i>n</i> (μmol)	[c] (mM)	conditions	observations
A	53	53	DCM, t.a.	Pas d'évolution
TEA	370	370		
A	53	53	DCM, t.a.	Pas d'évolution
TEA	370	370		
H ₄ N ₂ ·H ₂ O	400	400		
A	53	53	DCM, t.a.	Pas d'évolution
AlCl ₃	150	150		
B	200	36	DCM, t.a.	Pas d'évolution
TEA	3700	673		
B	200	33	THF, t.a.	Pas d'évolution
TEA	7400	1233		
C	110	55	DCE, t.a.	Pas d'évolution
AlCl ₃	110	55		
C	110	37	DCE, t.a.	Pas d'évolution
AlCl ₃	220	73		
C	110	16	THF/DCM : 5/2, addition à 0°C puis t.a.	Pas d'évolution
NaH	180	26		
C	110	18	THF/DCM : 4/2, addition à 0°C puis t.a.	Pas d'évolution
TiCl ₄	430	72		
C	91	18	THF/DCM : 1/4, t.a.	Pas d'évolution
TBuOK	270	53		
C	91	18	ACN, t.a. 16h puis reflux	Pas d'évolution
DBU	330	66		

Tableau 3: Conditions étudiées pour l'étape de clivage dans la première stratégie.

b. Seconde stratégie: clivage de l'unité terminale.

réactif	n (μmol)	[c] (mM)	conditions	observations
D	19	38	THF, t.a.	Pas d'évolution
nBuLi	25	50		
LiBr	cat	/		
D	25	50	ACN, t.a.	Pas d'évolution
CH ₃ COCl	exces	/		
D	19	38	THF, t.a., 16 h	Réduction partielle
BH ₃	50	100		
D	5	10	THF, t.a.	Pas d'évolution
TBAF	500	1000		
D	15	75	Sans solvant, t.a.	Pas d'évolution
TFA	exces	/		
H ₂ O	exces	/	THF, t.a., 16h puis 40°C, 24h puis 60°C, 4h.	Réduction partielle
D	18	3.6		
NaBH ₄	625	125		
D	31	6.2	DCM, t.a.	Pas d'évolution
H ₄ N ₂ ·H ₂ O	310	62		
D	25	5	MeOH, t.a.	Pas d'évolution
H ₄ N ₂ ·H ₂ O	250	50		
D	21	10.5	THF/MeOH : 1/1, t.a. 16h.	Hydrolyse partielle
KOH	100	50		
EtOH	exces	/		
D	22	220	THF, t.a., 16h.	Réduction totale $\xi = 1.0$
LAH	100	1000		

Tableau 4: Conditions étudiées pour l'étape de clivage dans la seconde stratégie.

Au composé D (6.3 mg, 22 μmol, 1eq.), sous atmosphère inerte, a été ajouté une solution de LAH dans du THF (100 μL, 1M, 100 μmol, 4.5 eq.). Le mélange réactionnel a été agité à température ambiante pendant 16 heures. La réaction a été arrêtée par ajout d'eau (100 μL) avant que du CDCl₃ (1 mL) ne soit ajouté au mélange. Les deux

phases ont été séparées et la phase organique est filtrée sur du sulfate de sodium anhydre avant d'être analysée par ^1H RMN (Figure 45) (400 MHz) δ (ppm) = 3.63 (t, $J = 6.7$ Hz, 2.00H, d"-H), 2.47 (m, 0.91H, g"-H), 2.36 (s, 0.70H, e"-H), 1.56 (m, 2.29H, c-H), 1.29 (m, 18.46H, b-H), 0.88 (t, $J = 6.7$ Hz, 3.03H, a-H)

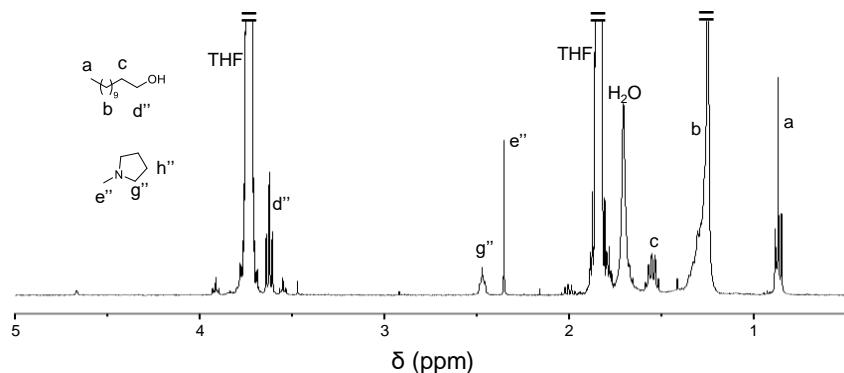


Figure 45: Spectre ^1H RMN correspondant à la réduction du carbamate D par LAH.

c. Seconde stratégie: sélectivité du clivage

$n_{D,0}$ (μmol)	$n_{G,0}$ (μmol)	n_{LAH} (μmol)	[LAH] (M)	Conditions	observations
18		200	1	-78°C, 30 min	Réduction totale
18		200	0.2	-78°C, 30 min	Réduction totale
	6	200	0.2	-78°C, 30 min	Traces de produit
18		200	0.2	ajout de LAH à -78°C puis r.t., 5 min,	Réduction totale
	19	200	0.2	ajout de LAH à -78°C puis r.t., 5 min,	Traces de produit

Tableau 5: Conditions étudiées sur les molécules séparées pour déterminer un protocole de clivage sélectif.

$n_{D,0}$ (μmol)	$n_{G,0}$ (μmol)	$n_{F,0}$ (μmol)	n_{LAH} (μmol)	[LAH] (M)	Conditions	ξ	R
15	32		150	0.025	t.a., 16h.	0.75	0.55
17	64		200	1	Remontée lente de 0°C à t.a., 16h.	1.00	0.41
106	48		110	0.22	Remontée lente de -78°C à t.a. puis t.a., 90 min	0.84	0.97
56	46		60	0.23	-78°C, 20 min puis t.a., 90 min	0.94	0.97
		30	30	0.23	-78°C, 20 min puis t.a., 90 min	0.90	0.93

Tableau 6: Conditions étudiées pour déterminer un protocole de clivage sélectif.

A une solution de **D** (16.0 mg, 56 μmol, 1 eq.) et de **G** (14.5 mg, 46 μmol, 0.82 eq.) dans du THF anhydre sous atmosphère inerte a été ajouté, à -78°C, une solution de LAH dans du THF (60 μL, 1M, 60 μmol, 1.1 eq.). Le mélange réactionnel a été agité à -78°C pendant 20 minutes puis à température ambiante pendant 1.5 heures. La réaction a été arrêtée par ajout de MeOH (2 mL). Le solvant est évaporé à pression réduite. Le mélange a ensuite été repris dans du CDCl₃ (1 mL) et la phase organique a été lavée avec de l'eau (1 x 1 mL) puis filtrée et analysée par ¹H RMN (Figure 46) (400 MHz) δ (ppm) = 4.62 (s, 0.15H, f-H), 4.05 (m, 1.07H, d-H, d'-H), 3.63 (t, J = 6.7 Hz, 1.23H, d''-H), 3.35 (m, 0.15H, g'-H), 3.15 (m, 1.00H, g-H), 2.47 (m, 0.05H, e''-H), 2.35 (s, 0.03H, g-H), 1.58 (m, 3.15H, h-H, h'-H, h''-H), 1.48 (m, 1.30H, c-H), 1.25 (m, 25.18H, b-H, i-H, j-H, k-H), 0.87 (m, 5.17 H, a-H, l-H)

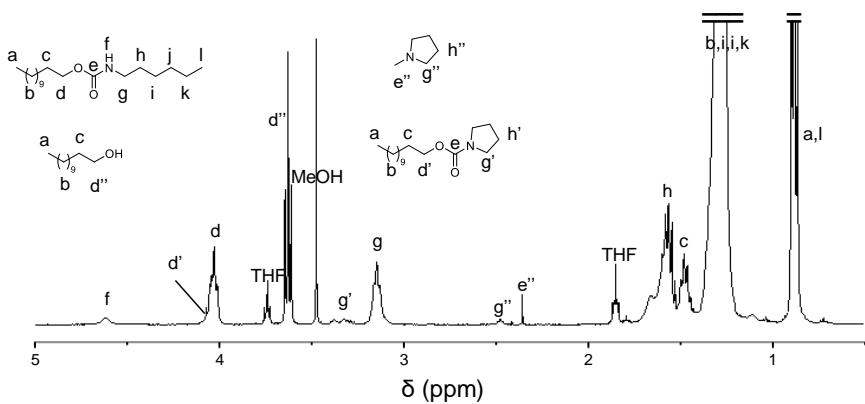


Figure 46: Spectre ^1H RMN correspondant à la réduction du mélange de carbamates carbamate D et G par LAH.

La même procédure a été utilisée sur F (12 mg, 30 μmol , 1eq.), THF (100 μL), LAH (1M, 30 μL , 1.0 eq.). ^1H RMN (Figure 47) (400 MHz) δ (ppm) = 4.75 (s, 0.88H, f-H), 4.03 (m, 2.00H, d-H, d'-H), 3.66 (m, 1.85H, j-H, d''-H), 3.35 (m, 0.37H, g'-H), 3.21 (m, 1.84H, g-H), 1.88-1.59 (m, 11.41H, c-H, h-H, h'-H i-H), 1.25 (m, 21.12H, b-H), (t, J = 6.9 Hz, 4.17H, a-H). L'impureté aliphatique apparue lors de la synthèse de F est conservée.

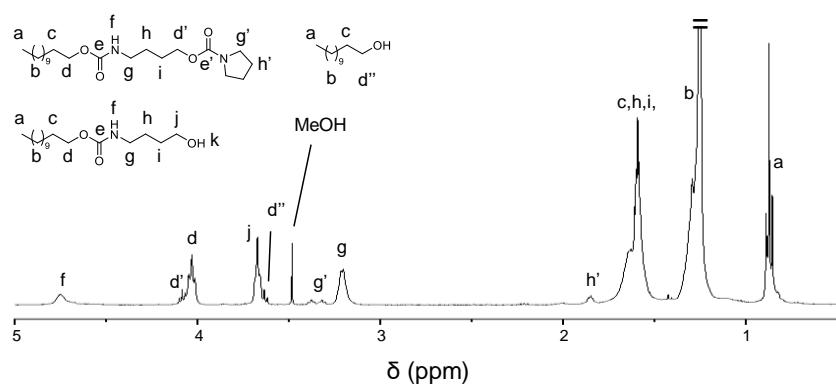
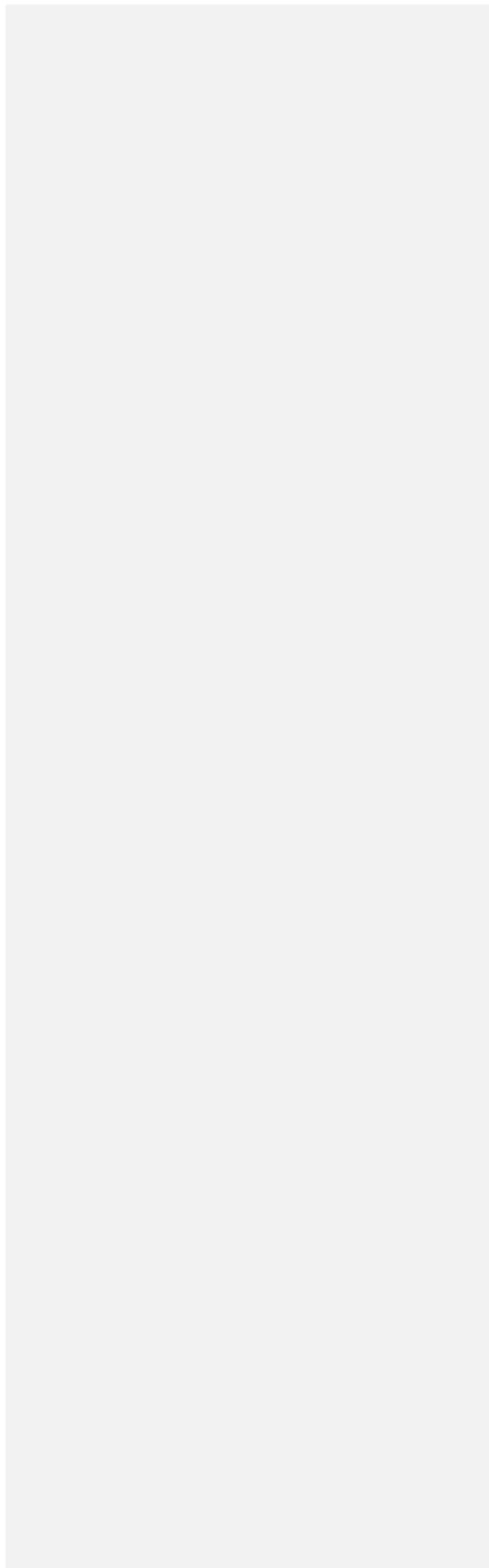


Figure 47: Spectre ^1H RMN correspondant à la réduction du carbamate F par LAH.

Chapitre IV:

Etude cristallographique d'oligocarbamates numériques



I. Introduction

Ce chapitre propose une étude cristallographique des oligocarbamates à séquences définies. Outre la capacité des fonctions carbamates à former des liaisons hydrogène intermoléculaires, la faible solubilité des oligocarbamates décrits dans le Chapitre II dans des solvants usuels ouvre l'hypothèse que ces molécules forment des cristaux. L'étude de cristaux de ces polymères est intéressante car l'obtention de la maille de telles molécules permettrait de calculer l'espace qu'elles occupent dans le cristal. En connaissant ce volume, il devient possible de déterminer expérimentalement la densité d'information encodée dans un cristal de polymère à séquence définie. Un des intérêts du stockage de données sur polymères à séquences définies est en effet la grande densité d'information qu'ils peuvent contenir. La densité d'information maximale théorique d_i contenue dans un brin d'ADN a été déterminée dans diverses études en utilisant le calcul suivant:

$$d_i = \frac{n_{bit} \times Na \times d_{ADN}}{\overline{M}_0 \times n_{UR}} = \frac{2 \times Na \times d_{ADN}}{\overline{M}_0}$$

avec : n_{bit} : le nombre de bits contenus dans le système ; Na : le nombre d'Avogadro ; d_{ADN} : la masse volumique de l'ADN ; \overline{M}_0 : la masse moléculaire moyenne d'une unité répétitive ; n_{UR} : le nombre de nucléotides dans le système.

Avec les quatre bases différentes d'ADN naturelles, le nombre de bits par base est de 2. La masse volumique de l'ADN est arbitrairement fixée à 1 g.cm⁻³. La densité maximale théorique calculée est donc de 3.6 × 10¹⁸ bits.mm⁻³.^[13] Néanmoins, aucune preuve de la densité de l'ADN simple brin n'a jamais été apportée. Les brins d'ADN dans les chromosomes sont repliés selon une structure quaternaire en double hélice composée de deux brins complémentaires. Les dimensions de cette double hélice sont connues^[97] ce qui permet le calcul de la densité d'information d_i contenue dans l'ADN chromosomique grâce à la formule :

$$d_i = \frac{n_{bit}}{V} = \frac{1}{V_{UR}}$$

avec : n_{bit} : le nombre de bits contenus dans le système ; V : le volume occupé par le système ; V_{UR} : le volume occupé par un nucléotide.

Le diamètre de la double hélice est de 20 Å et l'espacement entre les paires de bases est de 3.4 Å. En considérant le volume occupé par la double hélice comme étant celui d'un cylindre, le volume occupé par une paire de bases est de 1068 Å³. Les deux brins étant complémentaires, l'information est redondante et le nombre de bits par base est donc de 1. La densité d_i ainsi calculée est de 1.8 x 10¹⁸ bits.mm⁻³. Il est possible de calculer, de la même manière, la densité d'information contenue dans un système de stockage de données sur polymères à séquences définies abiotiques. Pour ce faire, le volume occupé par un bit d'information doit être connu.

Plusieurs techniques d'analyses permettent d'obtenir des informations sur la structure de molécules. La diffraction des électrons permet d'analyser l'organisation des molécules dans des échantillons orientés. Cette technique a permis la détermination de la maille cristalline de nombreux types de polymères. Les polyamides, par exemple cristallisent via la formation de liaisons hydrogène entre les fonctions amide des différentes monomères.^[159] Le même type d'organisation est retrouvé dans les polyuréthanes, dont les fonctions carbamates forment des liaisons hydrogène intermoléculaires. La structure chimique des monomères joue un rôle primordial sur l'arrangement des chaînes entre elles. Dans les polyuréthanes dont les fonctions carbamates sont orientées de façon unidirectionnelle, un nombre de carbones aliphatiques impair entre deux fonctions carbamate entraîne l'obtention de feuillets dans lesquels l'arrangement des différentes chaînes peut se faire de manière antiparallèle ou parallèle ; un nombre pair de carbone ne permettra que l'arrangement des chaînes de manière antiparallèle (Figure 48).^[160]

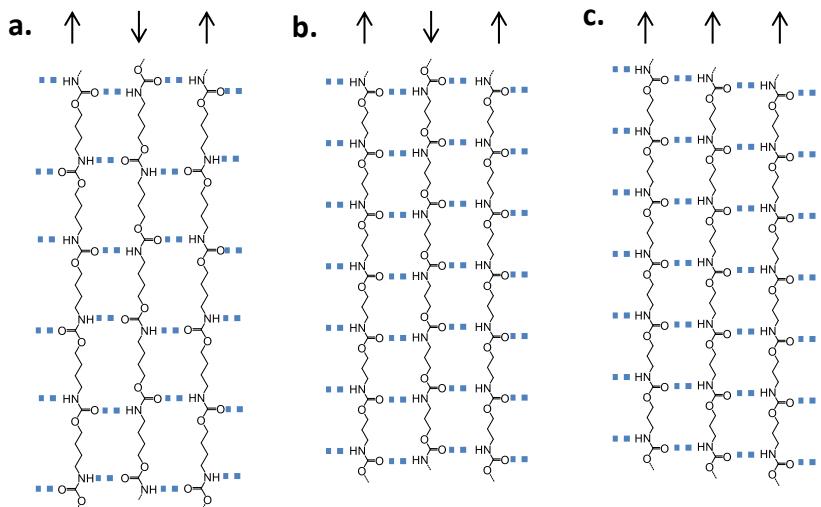


Figure 48: Organisations antiparallèles (a, b) et parallèles (c) permises par la formation de liaisons hydrogène de feuillets constitués de polyuréthanes séparés par un nombre pair (a) et impair (b, c) de carbones aliphatiques.

Les flèches noires indiquent la direction de la chaîne dans le feuillet. Les pointillés bleus soulignent les liaisons hydrogène. Adapté d'après la référence [160].

Le rapport molaire entre monomères méthylés/non-méthylés dans des copolymères impacte également leur structure cristalline. Il a été montré, dans des copolymères périodiques d'alanine et de glycine, que l'augmentation de ce ratio entraîne une augmentation du volume de la maille élémentaire (Figure 49).^[161] D'autres études montrent l'influence de la longueur d'oligomères de \mathcal{D} inférieure à 1.1 sur le repliement des molécules dans les cristaux.^[162] Néanmoins, l'impact de la position des groupes méthyles dans la séquence de polymères uniformes sur la structure cristalline n'a jamais été étudié.

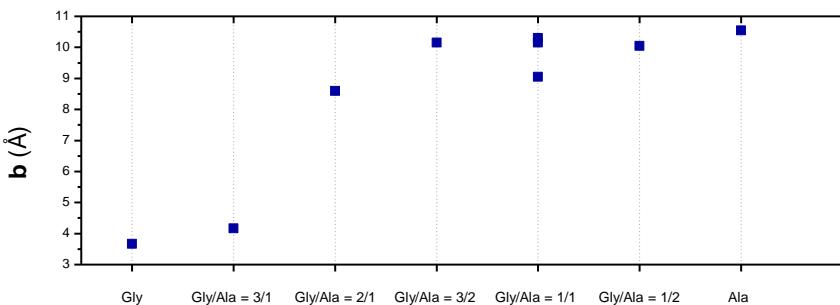


Figure 49: Evolution de la distance interfeuillet b dans des cristaux de copolymères d'alanine et de glycine en fonction de la fraction molaire d'alanine et de glycine dans le copolymère.

Adapté d'après la référence [161].

En plus de pouvoir répondre à des questions sur la structure supramoléculaire des polymères à séquences définies, l'obtention de cristaux pour de telles molécules permet de minimiser l'espace occupé par chaque atome, et ainsi de maximiser l'information contenue dans ces systèmes. Pour obtenir un système de stockage contenant une grande quantité d'information avec une haute densité, une des méthodes consiste à mélanger des polymères à séquences définies contenant chacun un domaine permettant à l'utilisateur de connaître la position relative de chaque polymère dans le message ; si les molécules sont stockées indépendamment, l'ordre de grandeur de la densité d'informations encodée n'est plus moléculaire, mais dépend du système de stockage des molécules. Si différents polymères numériques peuvent co-cristalliser, alors le système de stockage obtenu aura une densité d'information importante, et permettra le stockage d'une grande quantité d'information.

Cette étude par diffraction électronique d'une population d'oligocarbamates à séquences définies a donc plusieurs objectifs: déterminer la densité contenue dans les cristaux d'oligomères numériques cristallisés, étudier des rapports entre la séquence et la structure cristalline de ces molécules et explorer leur potentiel de stockage d'une grande quantité d'information à haute densité.

II. Résultats et discussion

1) Sélection des oligomères.

Une série d'oligocarbamates de séquences différentes a été synthétisée selon la méthodologie décrite dans le Chapitre II et analysée par HRMS. La population analysée est uniquement composée d'hexamères d'alphabet C₄₀/C₄₁, défini dans le Chapitre II et les différentes séquences utilisées sont résumées dans le Tableau 7. Un DP précis a été choisi afin que les différences structurelles observées entre les oligomères ne soient dépendantes que des différences dans leur séquence. L'utilisation d'une population contenant six unités répétitives permet de synthétiser relativement rapidement des oligomères uniformes de séquences diverses. La stéréochimie du méthyle porté en chaîne latérale de C₄₁ n'est pas contrôlée ; les oligomères utilisés dans cette étude sont donc atactiques. Les oligocarbamates analysés comportent quatre carbones aliphatiques entre chaque fonction carbamate. Ces dernières sont orientées de façon unidirectionnelle. Le groupe acide hexanoïque terminal α , résultant de la synthèse sur support solide des polymères étudiés, est présent sur chaque molécule.

Séquence	m/z _{th} ^a	m/z _{exp} ^a
α -0-0-0-0-0	840.4924	840.4921
α -0-0-0-0-1	854.5081	854.5080
α -0-1-0-0-0	854.5081	854.5084
α -0-0-1-0-0	854.5081	854.5074
α -0-1-0-0-1	868.5237	868.5242
α -0-1-0-1-0	882.5394	882.5392
α -0-1-1-1-1	910.5707	910.5714
α -1-1-1-1-0	910.5707	910.5714
α -1-1-1-1-1	924.5863	924.5860

Tableau 7: Séquences et HRMS des oligocarbamates étudiés dans le Chapitre IV.

2) Sélection des cristaux

Les cristaux susceptibles de diffracter les électrons doivent remplir certaines exigences. Leur longueur doit être au minimum de l'ordre du micron et leur épaisseur de l'ordre de la centaine de nm pour ne pas bloquer le faisceau électronique. De plus, des monocristaux sont nécessaires à la détermination de la maille bidimensionnelle. En effet, les clichés de polycristaux ne renseignent que sur les dimensions de la maille contrairement aux monocristaux qui renseignent aussi sur la position relative des différentes molécules.

Différentes méthodes de cristallisation usuelles ont été testées sur la population d'oligomères sélectionnée. Avant toute expérience de diffraction, les analytes résultants de ces expériences ont été observés au microscope optique à contraste de phase afin de déterminer leur aptitude potentielle à diffracter les électrons. Les analytes obtenus se caractérisent généralement soit par une suspension cristalline de polycristaux ou/et de monocristaux, ou par une suspension résultant d'une séparation de phase entre le polymère et le solvant. Une des conditions afin de pouvoir comparer l'influence de la séquence sur la structure dans les différents oligomères a été d'optimiser une méthode permettant de cristalliser tous les échantillons. Trois des méthodes testées ont permis d'obtenir des monocristaux analysables par diffraction électronique: la recristallisation dans l'acétonitrile, la cristallisation interfaciale DMSO/H₂O, et la recristallisation dans un mélange DMSO/H₂O. Seule cette dernière permet l'obtention reproductible d'échantillons composés essentiellement de cristaux multilamellaires orientés, analysables par diffraction électronique pour toutes les séquences testées. Elle consiste au refroidissement lent d'une solution portée à 120°C de l'échantillon à cristalliser dans un mélange d'eau et de DMSO (1/1 : V/V, 0.125 à 0.25 mg.mL⁻¹). Les cristaux obtenus sont de forme rectangulaire à angles arrondis, ont une longueur de plusieurs micromètres et une largeur d'environ un micromètre.

Il a été intéressant de noter que la séquence influe sur la capacité de cristallisation des différents oligomères. En effet, l'oligomère α 1111111 cristallise sous forme de monocristaux dans toutes les conditions mentionnées ci-dessus alors que des cristaux de l'oligomère α 000000 n'ont pu être obtenus que par recristallisation dans le mélange

DMSO/H₂O. Ce fait est étonnant car l'oligomère α 1111111 contient six groupes méthyle, dont la stéréochimie n'est pas contrôlée. Or, ce manque de contrôle devrait augmenter le désordre entre les différentes molécules et ainsi inhiber le processus de cristallisation. Or ce désordre semble être compensé par l'augmentation de la rigidité induite par l'introduction de méthyles. Un second argument en faveur de cette hypothèse est donné par comparaison qualitative des clichés de diffraction (page 120).

3) Analyse des clichés de diffraction

Les clichés de diffraction ont été obtenus par microscopie électronique à transmission. La Figure 58 (page 132) montre les micrographes des cristaux ayant permis l'obtention de chaque cliché ainsi que ces derniers. Afin de pouvoir mesurer les distances dans les mailles, les échantillons ont été couverts d'un film de polycristaux d'or servant d'étaillon interne.

a. Détermination de la maille élémentaire

Les clichés de diffractions obtenus pour tous les oligomères sont caractérisés par une symétrie de groupe 2mm, avec des réflexions 110 et 020 intenses. La Figure 50 montre le cliché de diffraction des électrons obtenu pour le cristal de l'oligomère α 1111111 et la maille correspondante. Il montre des réflexions 110 et 020, respectivement à des distances de 0.431 et 0.453 nm et l'angle α mesurés entre les réflexions 110, $\bar{1}10$ et $1\bar{1}0$ est de 28°. Ces mesures permettent la détermination d'une maille primitive de type orthorhombique centrée. La distance **a** entre deux molécules sur l'axe a est de 4.88 Å, la distance **b** entre deux molécules sur l'axe b est de 9.06 Å. La distance sur l'axe a est typique d'une liaison hydrogène, tout comme la netteté de la réflexion 200. Cette maille primitive suggère une organisation des chaînes de polyuréthanes dans le cristal *via* des liaisons hydrogène sur l'axe a et en feuillets sur l'axe b.

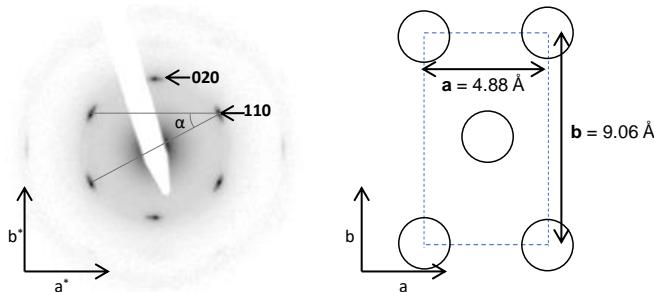


Figure 50: Cliché de diffraction (gauche) et maille correspondante (droite) obtenus pour le cristal de l'oligomère $\alpha 111111$.

Seules les réflexions les plus intenses sont annotées. Les limites de la maille élémentaire dans les axes a et b sont représentées par des pointillés bleus. Les cercles noirs figurent les différentes chaînes de polymères dans la maille.

b. Comparaison qualitative des clichés

Les réflexions 110 et 020 sont, dans les cristaux d'oligocarbamates, relativement courbées par rapport aux réflexions obtenues lors de la diffraction d'un monocristal. La courbure et la netteté des taches de diffractions reflètent respectivement les caractères polycristallins et monocrystallins des cristaux observés.^[163] La courbure des réflexions obtenues pour l'oligomère $\alpha 000000$ est plus importante que celle obtenue pour l'oligomère $\alpha 111111$. La courbure des réflexions décroît avec l'introduction de méthyles dans la séquence de l'oligomère. L'hypothèse que caractère monocrystallin est supérieure dans les cristaux de $\alpha 111111$ est aussi renforcée par l'observation de réflexions secondaires, jusqu'à la réflexion 310, sur certains clichés de cet oligomère, ce qui n'a jamais été observé pour les clichés de $\alpha 000000$ (Figure 51).

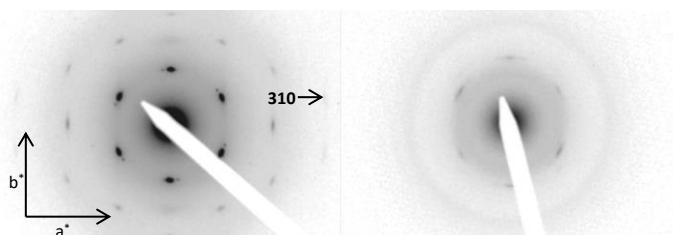


Figure 51: Clichés de diffractions obtenus pour les cristaux d'oligomères de séquence $\alpha 111111$ (gauche) et $\alpha 000000$ (droite).

c. Comparaison des mailles dans les oligomères

Les distances **a** et **b** obtenues pour l'oligomère α000000 sont respectivement de 4.76 Å et de 7.32 Å. La distance **a** est donc 1.03 fois plus grande dans le cristal de α111111 que dans celui de α000000 ; la distance **b** est quant à elle 1.23 fois plus importante. Aussi, la distance interfeuillet fixée par les liaisons hydrogène varie peu alors que la distance interfeuillet sur l'axe **b** est affectée par la présence de groupes méthyle sur les chaînes latérales des monomères composant l'oligomère α111111. Les dimensions des mailles d'oligomères de séquences différentes ont été déterminées et comparées. Elles sont présentées dans le Tableau 8. Les distances dans l'espace réciproque des réflexions 110 et 200 ainsi que la mesure des angles α ayant permis de les calculer sont présentées dans le Tableau 9 (page 133). Les distances **b** sont comprises entre les valeurs extrêmes obtenues pour les homo-oligomères et augmentent en fonction du nombre de monomères 1 dans l'oligomère étudié.

Séquence	a (Å)	b (Å)
α-0-0-0-0-0	4.76	7.32
α-0-0-0-0-1	4.79	7.34
α-0-1-0-0-0	4.75	7.64
α-0-0-1-0-0	4.86	7.76
α-0-1-0-0-1-0	4.85	8.08
α-0-1-0-1-0-1	4.83	8.16
α-0-1-1-1-1-1	4.78	8.72
α-1-1-1-1-1-0	4.82	8.94
α-1-1-1-1-1-1	4.88	9.06

Tableau 8: Distances **a** et **b** de la maille élémentaire des différents oligomères en fonction de leur séquence.

b varie en fonction du nombre de « bit 1 » dans l'oligomère. Des variations notables existent aussi en fonction de la séquence. La différence de **b** (Δ_b) entre des oligomères différents peut être calculée selon la formule :

$$\Delta_b = b_1 - b_2$$

avec : **b1**: **b** obtenue pour un oligomère ; **b2**: **b** obtenue pour un oligomère de séquence différente de telle sorte que $\Delta_b \geq 0$.

Des Δ_b importantes pour des oligomères ayant le même nombre de « bit 1 » dans leur séquence montrent l'absence de la dernière unité codante dans la maille sur l'axe c, et renseignent donc sur le nombre de méthyles dans la maille ; des Δ_b plus faibles renseignent sur l'absence du bras espaceur a de la maille sur l'axe c. Les analyses menant à ces conclusions sont détaillées séparément ci-dessous.

d. Nombre de C4₁ dans la maille

La position relative des différents monomères dans l'oligomère joue un rôle dans l'espacement des feuillets sur l'axe b. En effet, **b** est plus importante dans les oligocarbamates de séquences $\alpha 010000$ (7.64 Å) et $\alpha 001000$ (7.76 Å) que dans les oligomères de séquences $\alpha 000000$ (7.32 Å) et $\alpha 000001$ (7.34 Å). Alors que les oligomères $\alpha 010000$, $\alpha 001000$ et $\alpha 000001$ contiennent tous trois un méthyle en chaîne latérale dans leur séquence, le positionnement de ce méthyle sur la dernière unité de l'oligomère n'affecte pas **b**. En d'autres termes, la maille cristalline n'inclue pas la dernière unité constitutive de l'oligomère dans l'axe c. Cette hypothèse est confirmée par le fait que **b** est moins importante dans l'oligomère $\alpha 011111$ (8.72 Å) que dans les oligomères $\alpha 111111$ (9.06 Å) et $\alpha 111110$ (8.94 Å). Enfin, entre les oligomères $\alpha 010101$ (8.16 Å), dont le troisième groupe méthyle est positionné sur l'unité terminale et $\alpha 010010$ (8.08 Å) la Δ_b mesurée est moins importante que lors de l'introduction d'un méthyle dans une autre unité observée dans d'autres situations. Ces observations ont conduit à définir un nombre n comme étant le nombre de groupes méthyle inclus dans la maille pour chaque oligomère (Figure 52). Ce nombre peut être calculé selon la formule :

$$n = n' - n''$$

avec : n' : le nombre de « bit 1 » dans la structure de l'oligomère ; n'' : nombre de « bit 1 » en position terminale de la séquence.

Des molécules ayant n méthyles dans leurs mailles auront des Δ_b supérieures de plusieurs dixièmes d'Å par rapport à des molécules ayant $n - 1$ « bit 1 » dans leurs mailles.

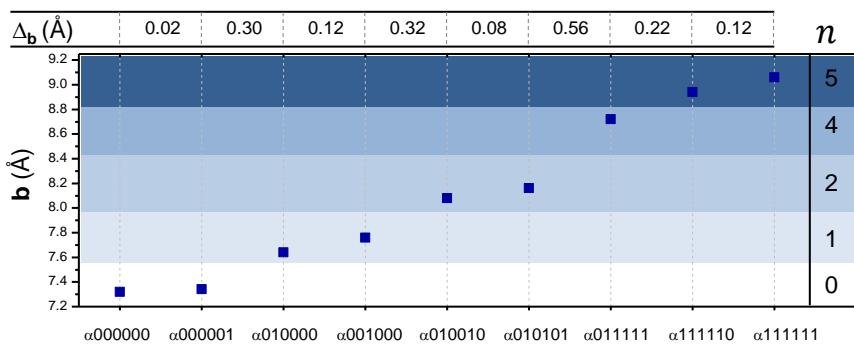


Figure 52: Distance entre les feuillets b en fonction de la séquence de l'oligomère contenu dans le cristal.

Le nombre n de méthyles inclus dans la maille pour les différents oligomères est indiqué dans la colonne à droite. La Δ_b mesurée entre deux oligomères est indiquée entre les colonnes indiquant leur séquence.

e. Absence de α dans la maille

Le motif répétitif de la chaîne principale des polyuréthanes étudiés est constitué de 7 atomes dont quatre carbones aliphatiques. L'espacement entre deux carbonyles ne permet dans ce cas que la formation de feuillets dont les chaînes sont positionnées de façon antiparallèles. L'acide carboxylique du bras espacer α peut lui aussi former des liaisons hydrogène avec les protons des carbamates. Aussi, l'espacement entre la fonction acide carboxylique et l'oxygène du premier carbamate permet l'inclusion ou l'exclusion de α de la maille dans l'axe c. En effet, les deux polymorphismes possibles permettent la formation de six liaisons hydrogène entre chaque molécule du cristal, comme illustré dans la Figure 53. Des Δ_b d'une dizaine d' \AA sont observées en fonction de la séquence pour des oligomères de n identique. La comparaison de b dans différentes molécules de n identique permet de discriminer le polymorphisme le plus probable. En effet, le polymorphisme présentant α hors de la maille oblige deux méthyles de se faire face, créant ainsi un encombrement stérique pour des oligomères de séquences spécifiques. Si $n = 1$, c'est le cas de l'oligomère $\alpha 001000$ et non de l'oligomère $\alpha 010000$. Si $n = 2$, c'est le cas de l'oligomère $\alpha 010101$ et non de l'oligomère $\alpha 010010$. Le polymorphisme présentant α dans la maille n'entraîne jamais

une telle situation. **b** est plus importante dans $\alpha 001000$ que dans $\alpha 010000$ ($\Delta b = 0.12 \text{ \AA}$), et dans $\alpha 010101$ que dans $\alpha 010010$ ($\Delta b = 0.08 \text{ \AA}$). Cela peut être expliqué par l'encombrement stérique lié au polymorphisme dans lequel α est exclu de la maille. Ce dernier est donc le polymorphisme le plus probable.

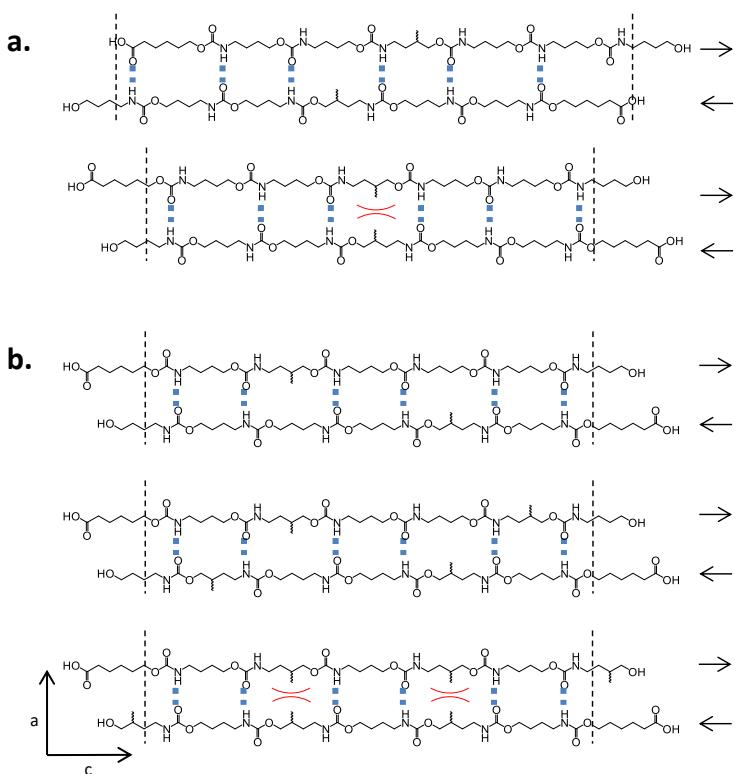


Figure 53: a. Différents polymorphismes permis par l'arrangement antiparallèle des chaînes dans l'oligomère $\alpha 001000$. b. Oligomères $\alpha 010000$, $\alpha 010010$ et $\alpha 010101$ représentés dans la configuration la plus probable.

Les flèches noires indiquent la direction de la chaîne dans le feuillet. Les pointillés noirs représentent les limites dans l'axe c de la maille. Les pointillés bleus et les demi-cercles rouges soulignent respectivement les liaisons hydrogène et l'encombrement stérique.

f. Calcul de la densité d'information

L'obtention des mailles élémentaires des différents cristaux d'oligomères codés permet, pour chacun d'entre eux, de calculer la densité d'information d_i qu'il contient selon la formule :

$$d_i = \frac{n_{bit}}{\mathbf{a} \times \mathbf{b} \times \mathbf{c}}$$

avec : n_{bit} : le nombre de bits contenus dans une maille ; \mathbf{a} , \mathbf{b} , et \mathbf{c} : les dimensions de la maille dans les axes respectifs a, b, et c.

Dans le système étudié, deux monomères sont utilisés. Chaque unité répétitive encode donc un bit d'information. La maille étant de type orthorhombique centrée, chaque maille contient deux molécules. La dernière unité répétitive ainsi que le bras espaceur a ne sont pas constituants de la maille. Chaque maille contient donc dix bits d'information ; chaque volume occupé par un monomère contient un bit d'information.

La densité d'information d_i est donc donnée par la formule :

$$d_i = \frac{1}{V_{UR}} \text{ et } V_{UR} = \frac{\mathbf{a} \times \mathbf{b} \times \mathbf{c}'}{2}$$

avec : V_{UR} : le volume occupé par un monomère dans la maille ; \mathbf{a} et \mathbf{b} : les dimensions de la maille dans les axes respectifs a et b ; \mathbf{c}' : longueur d'une unité répétitive dans l'axe c.

\mathbf{c}' peut être déterminée par diffraction des électrons sur des échantillons cristallisés dans la direction de l'axe des chaines. Pour ce faire, diverses expériences de cristallisations épitaxiques ont été mises en œuvre mais aucune n'a permis l'obtention de cristaux analysables. \mathbf{c}' a donc été calculée grâce à l'utilisation d'un modèle moléculaire et est estimée à 8.5 Å. Les valeurs de d_i calculées pour les différents oligomères varient dans la fourchette de $5.3\text{-}6.8 \times 10^{18} \text{ bit.mm}^{-3}$ en fonction de leur séquence.

g. Epaisseur des lamelles

L'épaisseur des cristaux a été étudiée par microscopie à force atomique (AFM). Une partie d'une suspension cristalline contenant les cristaux utilisés pour les expériences de diffraction électronique a été déposée sur une lamelle de mica. L'épaisseur des

objets s'est révélée trop importante pour pouvoir être mesurée. Néanmoins, par dilution d'une suspension de cristaux dans du dichlorométhane et dépôt sur lame de mica, des lamelles, dont les épaisseurs ont pu être mesurée ont été obtenus (Figure 54).

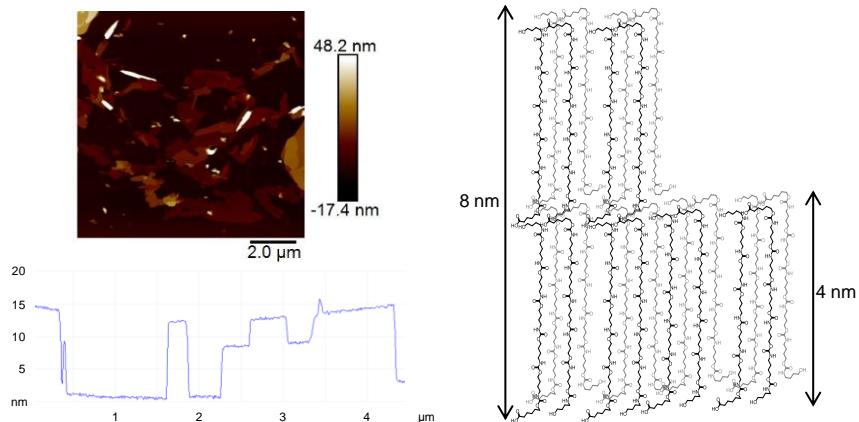


Figure 54: Image topographique de lamelles de l'oligomère α 010000 (haut gauche), tracé AFM obtenu (bas gauche) et modèle proposé pour l'empilement des feuillets (droite).

Les différences d'épaisseur observées entre différents objets sont de 4.17 ± 0.37 , 8.03 ± 0.61 ou de 12.14 ± 0.49 nm. L'épaisseur de chaque lamelle est donc d'environ 4 nm. La longueur théorique d'un oligomère étendu est de 6.2 nm. Comme la dernière unité codante ainsi que le bras espaceur α sont hors de la maille, la partie cristalline étendue d'une lamelle à théoriquement une épaisseur de 4.2 nm. L'épaisseur attendue était donc d'environ 4.5 à 6 nm. Aussi, l'épaisseur des lamelles mesurées par AFM corrobore les résultats obtenus par diffraction des électrons mais est légèrement inférieure à celle attendue.

4) Cristallisations conjointes.

Des expériences de cristallisations conjointes ont été menées afin de vérifier la capacité des oligocarbamates à cristalliser de façon concertée. Sans cette capacité, la création d'un système d'encodage à la fois compact et capable de stocker une

grande quantité d'information dans des cristaux de polyuréthanes numériques est impossible. Ces expériences ont été menées selon le même protocole que celui décrit pour les cristallisations d'oligomères uniques. Les analytes obtenus pour ces expériences varient en fonction des séquences et des mélanges de séquences utilisées. Des cristaux susceptibles de diffracter les électrons sont plus difficiles à obtenir que pour des cristallisations d'oligomères uniques.

a. Cristallisation conjointe de deux oligomères.

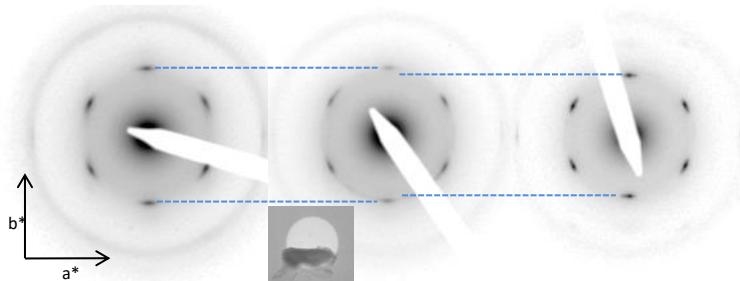


Figure 55: Cliché de diffraction obtenu pour la cristallisation conjointe des oligomères $\alpha 111111$ et $\alpha 010101$ (centre) et clichés des cristaux d'oligomères de $\alpha 010101$ (gauche) et $\alpha 111111$ (droite).

Les pointillés bleus soulignent la similitude entre le cliché du mélange de cristaux et les clichés des cristaux simples. Le micrographe du cristal analysé est montré en bas à gauche du cliché.

Pour les cristaux résultants de la cristallisation conjointe de deux oligomères, deux types de clichés de diffraction ont été observés. Dans un premier cas, les clichés obtenus sont similaires aux clichés à ceux de cristaux contenant un seul oligomère. C'est le cas par exemple du mélange d'oligomères $\alpha 111111$ et $\alpha 010101$. La Figure 55 montre un cliché typique obtenu pour la cristallisation conjointe de ce mélange. La résolution de ce cliché a permis la détermination d'une maille orthorhombique centrée avec des **a** et **b** respectivement de 4.85 et de 8.26 Å. Ces dimensions ont été comparées aux dimensions trouvées pour les deux oligomères seuls et sont comparables à celles trouvées pour $\alpha 010101$ ($\Delta b = 0.10$ Å). Aucun cristal analysé dans cette expérience n'a un cliché de diffraction similaire à celui observé pour l'oligomère

$\alpha 111111$ seul. Ce cas est retrouvé pour la cristallisation conjointe des oligomères $\alpha 111000$ et $\alpha 111111$.

Dans un second cas, les clichés obtenus se caractérisent par des réflexions 110 ainsi que par deux réflexions différentes sur l'axe b^* . Ces dernières sont, dans le cliché obtenu pour le mélange de $\alpha 000000$ et $\alpha 111111$, situées à 0.363 et 0.451 nm (Figure 56). Ces deux réflexions sont associées à deux distances, appelées respectivement \mathbf{b}^1 et \mathbf{b}^2 . Ces dernières sont similaires avec les \mathbf{b} observées respectivement dans les mailles de $\alpha 000000$ ($\Delta b^1 = 0.06 \text{ \AA}$) et de $\alpha 111111$ ($\Delta b^2 = 0.04 \text{ \AA}$).

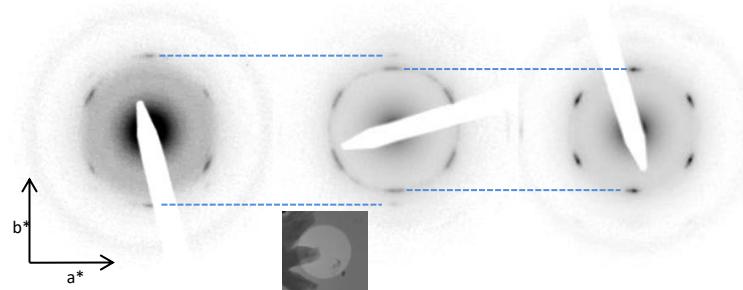


Figure 56: Cliché de diffraction obtenu pour la cristallisation conjointe des oligomères $\alpha 111111$ et $\alpha 000000$ (centre) et clichés des cristaux d'oligomères de $\alpha 000000$ (gauche) et $\alpha 111111$ (droite).

Les pointillés bleus soulignent la similitude entre le cliché du mélange et les clichés des cristaux simples. Le micrographie du cristal analysé est montré en bas à gauche du cliché.

Ces différences dans les résultats obtenus montrent que la cristallisation conjointe semble possible dans le cas des polyuréthanes. Dans le premier cas, les deux oligomères sont peut-être cristallisés dans la même maille, ce qui semble peu vraisemblable car la maille obtenue devrait théoriquement avoir une \mathbf{b} intermédiaire à celles trouvées pour les cristaux d'oligomères uniques. Une autre possibilité est que la cristallisation d'un oligomère inhibe la cristallisation de l'autre. Afin de vérifier ces hypothèses, il serait nécessaire de pouvoir isoler le cristal analysé et de le séquencer par spectrométrie de masse. Dans le second cas, le cliché indique que les deux molécules sont bien constitutives du même cristal, mais pas de la même maille. Les

oligomères sont dans ce cas présents dans des domaines ou des lamelles séparées dans le cristal.

b. Cristallisation conjointe de plusieurs oligomères

Des expériences de cristallisation conjointe de plusieurs oligomères ont été effectuées. La plupart des analytes obtenus sont des cristallisations séparées ou des précipitations. La Figure 57 représente un micrographe et un cliché de diffraction obtenu pour la cristallisation conjointe des oligomères de séquences $\alpha 111111$, $\alpha 111110$, $\alpha 111000$, $\alpha 101010$, $\alpha 000001$ et $\alpha 000000$. Le cristal de gauche sur le micrographe résulte d'une cristallisation séparée de différents oligomères. Le cristal de droite, quant à lui, permet l'obtention d'un cliché de diffraction se caractérisant par une symétrie $2mm$ avec des réflexions 110 et 020 intenses. Contrairement aux réflexions 020 obtenues pour des clichés d'oligomères simples et pour des cristallisations conjointes de deux oligomères, qui sont plus ou moins circulaires mais nettes sur l'axe b^* , la réflexion 020 obtenue est relativement large sur l'axe b^* . Les dimensions de la maille obtenue pour ce cliché de diffraction montrent des **a** et **b** respectivement de 4.83 et de 8.45 \AA . La distance **b** obtenue ne correspond à aucune **b** obtenus pour les cristaux d'oligomère simples et est comprise entre les **b** obtenues pour les cristaux d'homo-oligomères. Dans le cas de la cristallisation de plusieurs séquences, les cristaux semblent intégrer diverses séquences dans la même maille.

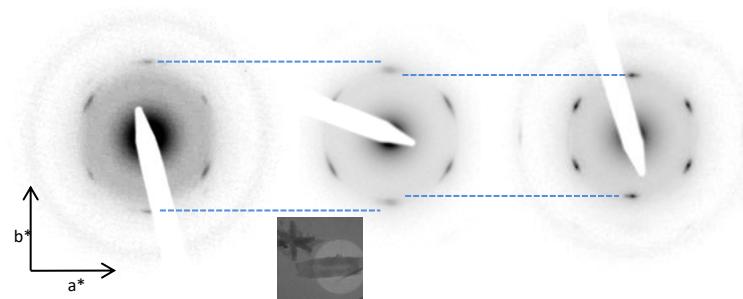


Figure 57: Cliché de diffraction obtenu pour la cristallisation conjointe des oligomères $\alpha 111111$, $\alpha 111110$, $\alpha 111000$, $\alpha 101010$, $\alpha 000001$ et $\alpha 000000$ (centre) et clichés des cristaux d'oligomères de $\alpha 000000$ (gauche) et $\alpha 111111$ (droite).

Les pointillés bleus soulignent la similitude entre le cliché du mélange et les clichés des cristaux simples. Le micrographe du cristal analysé est montré en bas à gauche du cliché.

III. Conclusion

Une chimiothèque d'oligocarbamates à séquences définies, de DP identiques a été étudiée. Ces molécules diffèrent par leur structure primaire. Des deux monomères utilisés, seul l'un, appelé « bit 1 » porte un groupe méthyle en chaîne latérale. L'étude par diffraction des électrons de cristaux orientés de ces molécules a permis de déterminer la maille élémentaire de ces cristaux. Elle est de type orthorhombique centrée et ses dimensions varient en fonction de la proportion de « bit 1 » dans la structure moléculaire, mais aussi de la position respective des différents monomères. L'étude des dimensions d'oligomères de différentes séquences a permis de montrer que la maille des cristaux ne comprend pas le dernier monomère dans l'axe c. Elle permet aussi de favoriser l'hypothèse d'un polymorphisme dans lequel le bout de chaîne acide carboxylique est exclu de la structure cristalline. Les différentes molécules portant de l'information digitale dans leur séquence et les mailles élémentaires des cristaux étant connues, la densité d'information stockée dans ces cristaux a pu être déterminée. Elle varie de 6.8×10^{18} bit.mm⁻³ pour les polymères ne contenant que des « bit 0 » à 5.3×10^{18} bit.mm⁻³ pour ceux constitués uniquement de « bit 1 ». Enfin, des expériences de cristallisations conjointes ont été mises en œuvre. Les clichés de diffraction obtenus pour les cristaux issus de ces expériences montrent que l'utilisation d'oligomères de séquences différentes induit des compositions différentes dans les cristaux. Les oligomères sont dans certains cas constitutifs d'un même cristal orienté, mais leurs populations sont ségrégées dans différentes mailles. Enfin, pour des expériences de cristallisations conjointes de plusieurs oligomères, les clichés de diffractions montrent que les différents oligomères peuvent co-cristalliser, les différentes populations étant dans certains cas intégrées dans une seule et même maille.

IV. Procédures expérimentales

1) Préparation des échantillons

a. Procédure de cristallisation des oligomères.

Dans un pilulier en verre fermable hermétiquement, un volume d'eau a été ajoutée au même volume d'une solution d'oligocarbamate dans du DMSO afin d'obtenir une suspension d'oligomère à 5 mg.mL^{-1} . La suspension résultante a été chauffée jusqu'à la dissolution complète de l'oligomère. Le pilulier a ensuite été fermé et immergé dans un bain d'huile chauffée à 120°C à l'aide d'une plaque chauffante. La solution a ensuite été refroidie doucement à température ambiante par extinction de la plaque chauffante. Après retour à température ambiante, les solutions ont été laissées immobiles 16h.

b. Observation des analytes.

Une goutte de suspension de cristaux est observée entre lame et lamelle au microscope optique à contraste de phase afin de vérifier la qualité des suspensions et de mesurer la dimension des cristaux. La dimension des cristaux a été mesurée grâce à une règle intra oculaire.

c. Préparation des échantillons pour le MET

Sur papier filtre, deux gouttes de suspension de cristaux ont été déposées sur une grille adaptée au microscope électronique couverte d'un film de carbone. De l'or est ensuite vaporisé sur cette grille.

d. Préparation des échantillons pour l'AFM

Une suspension de cristaux d'oligomère de séquence a010000 préalablement préparée pour l'observation de monocristaux au TEM ($100 \mu\text{L}$) a été diluée par l'ajout de DCM (1 mL). Une goutte de la solution résultante a été déposée sur une lamelle de mica clivée. Le solvant a ensuite été évaporé à température ambiante et à pression atmosphérique.

2) Clichés de diffractions

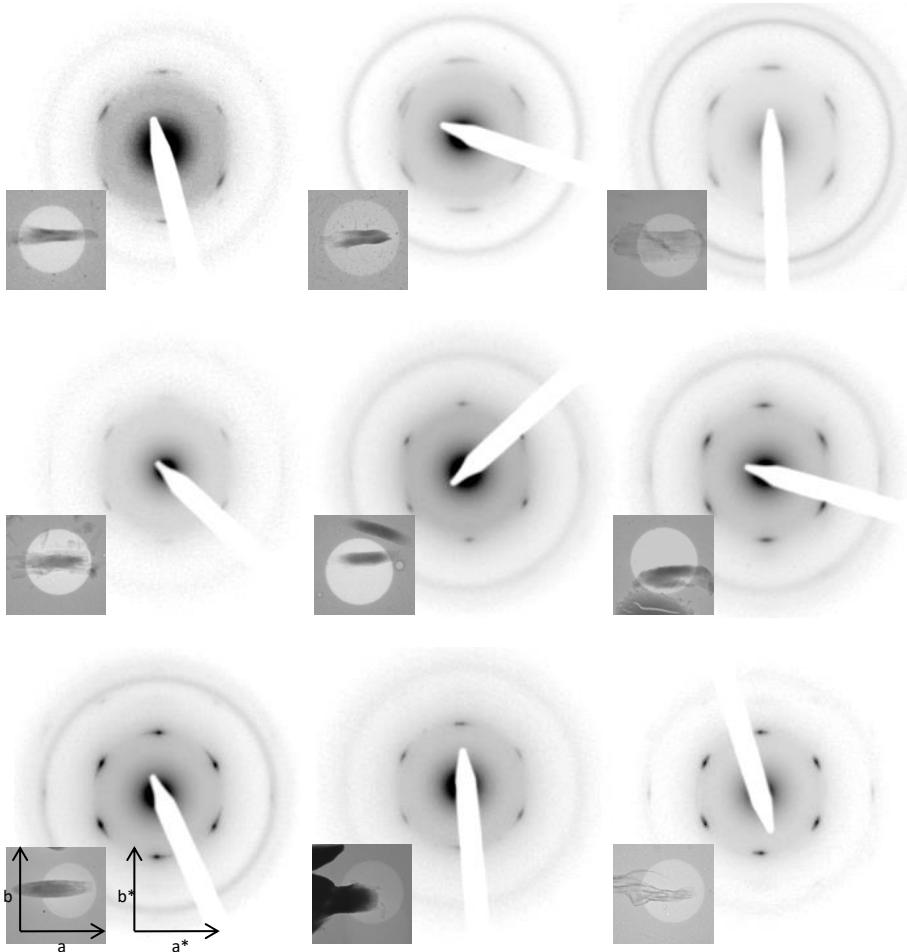


Figure 58: Clichés de diffractions obtenus pour les oligomères (de gauche à droite et de haut en bas) $\alpha 000000$, $\alpha 000001$, $\alpha 010000$, $\alpha 001000$, $\alpha 010010$, $\alpha 010101$, $\alpha 111111$, $\alpha 111110$ et $\alpha 111111$.

Le micrographe du cristal analysé est montré en bas à gauche de chaque cliché, le disque clair montre la zone irradiée pour l'obtention du cliché. Les micrographes et les clichés ont été orientés afin que les axes b et b^* soit parallèles.

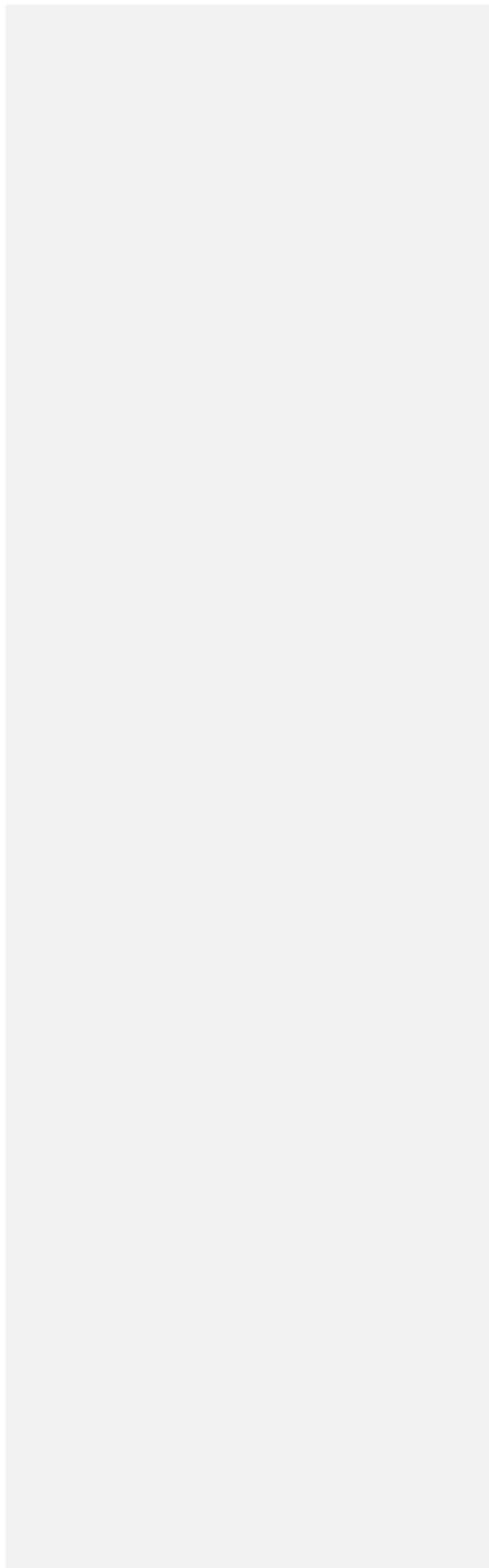
3) Distances dans l'espace réciproque

Les distances **a** et **b** ont été déterminées par comparaison des dimensions dans l'espace réciproque avec l'étalon interne (Au, $d_{111} = 0.235 \text{ nm}$). Ces distances ont été comparées dans la mesure du possible avec des mesures effectuées sur des cristaux de séquences identiques ; aucune différence notable n'a été observée pour des échantillons de même séquence. La distance **b** pour l'oligomère $\alpha 111000$ seul est de 8.33 \AA . Elle a été obtenue grâce au cliché de cristallisation conjointe avec $\alpha 000000$ et n'est donc pas discutée dans le détail mais uniquement comparée à celles observée pour les cristallisations conjointes. Le Tableau 5 résume les distances mesurées dans l'espace réciproque pour toutes les situations décrites.

Séquence	Au ^a	110	α (°)	020	020 ^b
$\alpha 0-0-0-0-0-0$	27862	16137	31.5	17866	
$\alpha 0-0-0-0-0-1$	27812	16252	32.9	17807	
$\alpha 0-1-0-0-0-0$	28226	16251	30.8	17368	
$\alpha 0-0-1-0-0-0$	28327	16189	32.3	17169	
$\alpha 0-1-0-0-1-0$	27913	15755	30.8	16223	
$\alpha 0-1-0-1-0-1$	27982	15720	30.4	16069	
$\alpha 0-1-1-1-1-1$	27383	15333	28.7	14765	
$\alpha 1-1-1-1-1-0$	28096	15524	28.1	14766	
$\alpha 1-1-1-1-1-1$	27630	15080	28.3	14332	
$\alpha 1-1-1-1-1-1 + \alpha 0-1-0-1-0-1$	27885	15621	30.3	15848	
$\alpha 1-1-1-0-0-0 + \alpha 1-1-1-1-1-1$	28232	15497	28.2	14783	
$\alpha 0-0-0-0-0-0 + \alpha 1-1-1-1-1-1$	28251	15648	28.8	18251	14716
$\alpha 1-1-1-0-0-0 + \alpha 0-0-0-0-0-0$	28044	15843	30.2	17638	15861
Plusieurs oligomères	28047	15704	29.7	15597	

Tableau 9: distances dans l'espace réciproque des réflexions 110 et 020 dans les différents cristaux étudiés.

Les distances sont en unités arbitraires. ^aréflexion 111. ^bseconde réflexion nette sur l'axe b* mesurée si présente



Conclusion générale

L'objectif de cette thèse était de synthétiser et d'étudier des polycarbamates à séquences définies contenant de l'information numérique. Leur structure chimique permet le décodage facile de l'information par spectrométrie MS/MS, le clivage sélectif de la dernière unité d'un dimère et leur cristallisation *via* la formation de liaisons hydrogène.

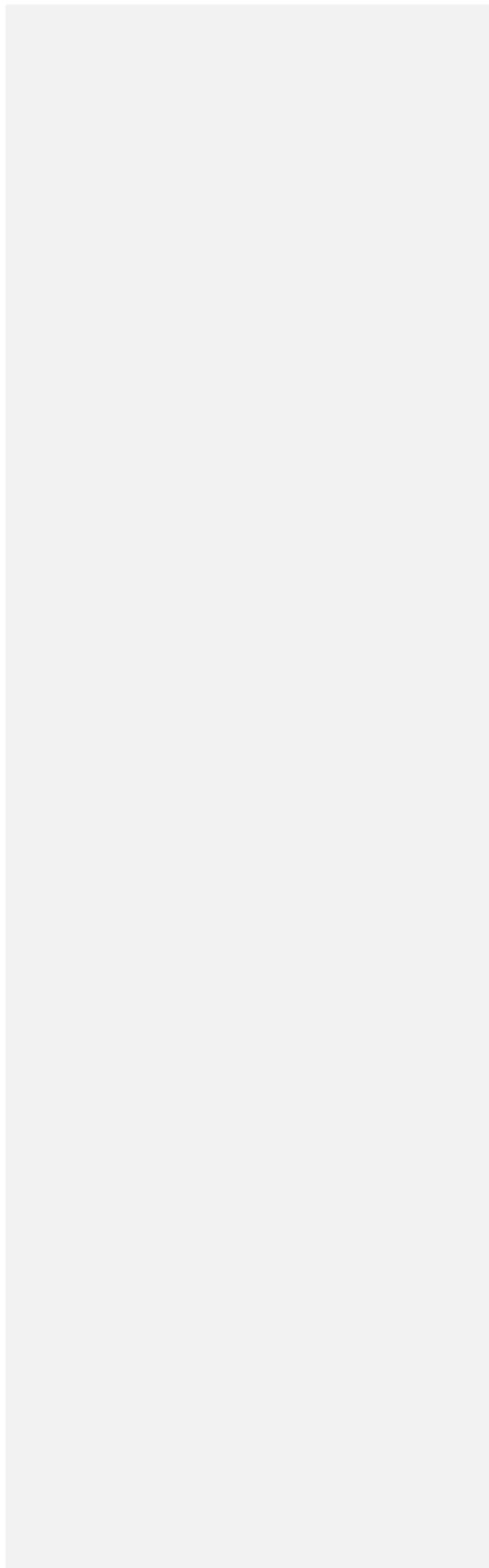
Ainsi, dans le Chapitre II, la réactivité particulière d'un sous-monomère, le carbonate de N,N'-disuccinimidyle, a été mis à profit pour l'optimisation de la synthèse de polycarbamates. Une résine de Wang, préalablement estérifiée avec un bras espaceur clivable, réagit dans une première étape avec le DSC, produisant un carbonate non-symétrique supporté. Ce dernier réagit lors d'une seconde étape avec un alcool aminé, amenant à la formation d'un carbamate supporté dont l'extrémité libre est une fonction hydroxyle qui peut à nouveau réagir avec le DSC. Après répétition itérative de ces deux étapes, le clivage en milieu acide permet l'obtention du composé de séquence voulue. Une chimiothèque d'oligomères uniformes a été synthétisée et, le choix de l'alcool aminé lors de la deuxième étape permet de faire varier la structure chimique des polymères. L'utilisation des monomères 4-amino-1-butanol, 4-amino-2-méthyl-1-butanol, 3-amino-1-propanol et 3-amino-2,2-diméthyl-1-propanol permet de synthétiser des octamères numériques, après définition arbitraire de couples de monomères de masses moléculaires différentes comme « bit 0 » et « bit 1 ». Du fait de la fragilité relative de la liaison carbamate et de la présence d'une seule fonction ionisable, la fragmentation en spectrométrie de masse en tandem en mode négatif de ces molécules entraîne la production d'une seule série d'ions. Cela rend le séquençage de ces molécules particulièrement facile. L'utilisation des monomères (R)-2-amino-1-propanol et (S)-2-amino-1-propanol a permis de contrôler la tacticité d'une série de tétramères. Si l'intensité relative des fragments obtenus par MS/MS lors du séquençage de ces oligomères diffère en fonction de leur séquence, l'information encodée n'a néanmoins pas pu être retrouvée pour molécules.

La dépolymérisation séquentielle d'oligouréthanes a été étudiée dans le Chapitre III. Ce travail, mené sur des molécules modèles en solution s'est appuyé sur deux stratégies différentes. La première consistait à modifier l'alcool terminal des molécules en groupe nucléophile et de faire réagir ce dernier avec le carbamate de l'unité terminale. Aucune condition testée n'a permis d'observer le clivage escompté. La seconde stratégie consistait à modifier le carbamate de la dernière unité en carbamate secondaire et de cliver sélectivement ce dernier. Pour ce faire, l'alcool primaire d'une molécule comportant un carbamate a été converti en fonction mésylate. Ce dernier a ensuite été substitué par l'azote du carbamate, produisant un carbamate secondaire cyclique. Enfin, des conditions de réduction sélective de ce carbamate secondaire en présence d'un carbamate primaire ont été testées afin d'obtenir à la fois un bon avancement et une bonne sélectivité. Pour tester la sélectivité de la substitution du mésylate par le carbamate de l'unité terminale, la fonction hydroxyle terminale d'un dimère a été mésylée et substituée. La substitution s'est révélée sélective. La réduction de l'unité carbamate secondaire de ce dimère dans des conditions préalablement établies a un avancement de 0.90 et une sélectivité de 0.93. Des bases pour la dépolymérisation contrôlée d'oligocarbamates ont donc été posées, néanmoins, cette méthode doit être optimisée et adaptée sur support afin de palier à la faible solubilité de ces molécules en solution.

Dans le Chapitre IV, une série d'oligocarbamates uniformes de DP 6 encodant de l'information a été cristallisée et analysée par diffraction des électrons. Tous les échantillons présentent une maille de type orthorhombique centrée dont les dimensions dans l'axe *a* de formation des liaisons hydrogène restent inchangées, alors la distance interfeuillet dans l'axe perpendiculaire *b* augmente avec l'introduction de chaînes latérales méthylées dans la séquence. La détermination de ces dimensions a permis de calculer le volume occupé par chaque unité répétitive, et ainsi la densité d'information contenue dans les cristaux, qui varie de 5.3 à 6.8×10^{18} bit.mm⁻³ en fonction de la séquence. De plus, la comparaison des dimensions obtenues entre les différentes séquences analysées a permis de démontrer que des variations de structures sont induites par la position des chaînes latérales. Cette analyse de la relation séquence/structure a montré que ni l'unité terminale de

l'oligomère, ni le bras espaceur clivable résultant de la synthèse supportée ne sont constitutifs de la maille. Enfin, la cristallisation conjointe de différents oligomères permet dans certains cas d'obtenir plusieurs molécules codées dans le même cristal ce qui est nécessaire pour pouvoir utiliser les polycarbamates pour stocker un grand nombre de données de façon dense. Des meilleures conditions de cristallisations conjointes doivent être trouvées afin d'intégrer chaque oligomère au cristal, indépendamment de sa séquence.

En conclusion, les travaux menés pour cette thèse ont permis la synthèse de polycarbamates uniformes numériques dont l'information peut être décodée de façon simple par MS/MS. De plus, un premier pas vers la dépolymérisation séquentielle de polymères abiotiques a été effectué. Enfin, l'étude des cristaux d'oligocarbamates a permis à la fois de calculer la densité d'information encodée et de mettre en lumière des relations entre la séquence et la structure dans ces molécules.



Matériel et Méthodes

1) Produits utilisés

Acétate d'éthyle (AcOEt; Carlo Erba), acétone-d6 (Aldrich, 99.8%), acétonitrile anhydre (ACN; Sigma-Aldrich, 99.8%), acide (R)-(+)- α -méthoxy- α -(trifluorométhyl) phénylacétique ((+)-MTPA; Alfa Aesar, 99%), acide chlorhydrique (HCl; Sigma-Aldrich, 37%), acide citrique (Alfa Aesar, >99%), acide para-toluenesulfonique (APTS; Sigma-Aldrich, 98.5%), acide trichloroacétique (TCA; Sigma-Aldrich, 99%), acide trifluoroacétique (TFA; Alfa Aesar, 99%), D-alanine (TCI, >98%), L-alanine (TCI, >99%), anhydride acétique (Alfa Aesar, >99%), 4-amino-1-butanol (TCI, 98%), 3-amino-2,2-diméthyl-1-propanol (TCI, 97%), 4-amino-2-méthyl-1-butanol (TCI, 98%), 3-amino-1-propanol (Alfa Aesar, 99%), azoture de sodium (Alfa Aesar, 99%), butanol (Sigma-Aldrich, ≥99%), ϵ -caprolactone (Sigma-Aldrich, 97%), carbonate de N,N'-disuccinimidyle (DSC, TCI, >98.0%), célite (VWR), chloroforme deutéré (CDCl_3 ; Aldrich, 99.8%), chlorure d'ammonium (VWR, 99.5%), chlorure de 4,4-diméthoxytrityle (ChemGenes), chlorure de méthanesulfonyle (MsCl; Alfa Aesar, 98%), cyclohexane (Carlo Erba), dichlorométhane (DCM; Sigma-Aldrich, 99.9%), dichlorométhane anhydre (Sigma-Aldrich, 99.9%, 40–150 ppm amylyne), N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCC; Alfa Aesar, 99%), 4-diméthylaminopyridine (DMAP; Sigma-Aldrich, 99%), N,N-diméthylformamide (DMF; Sigma-Aldrich, 99.0%), N,N-diméthylformamide anhydre (Sigma-Aldrich, 99.8%), diméthylsulfoxyde (DMSO; Alfa Aesar, >99%), diméthylsulfoxyde deutéré (DMSO-d6; Aldrich, 99.9%), 1-dodécanol (Fluka, 99.5%), éther diéthylique (Carlo Erba), gel de silice (Sigma-Aldrich, taille des pores 60 Å, taille en mesh 230-400), 1-héxylamine (Alfa Aesar, 99%), hydrazine monohydratée (Aldrich, 98 %), hydrogénocarbonate de sodium (SDS, 99%), hydroxyde de sodium (VWR, 99%), hydrure de lithium et d'aluminium (LAH; Aldrich, 1M dans le THF), hydrure de sodium (NaH; Aldrich, dispersion à 60% dans de l'huile minérale), méthanol (MeOH; Carlo Erba, 99.9%), méthanol deutéré (MeOD; Aldrich, 99.8%), n-pentane (Carlo Erba), pyridine (Sigma-Aldrich, anhydre, 99.8%), pyrrolidine (Alfa Aesar, 99%), résine de Wang (Iris Biotech, 0.94 mmol.g⁻¹, taille en mesh 100-

200), sulfate de sodium anhydre (VWR, 99%), tétrahydrofurane (THF; Carlo Erba), tétrahydrofurane anhydre (Sigma-Aldrich, ≥99%), thioacétate de potassium (Alfa Aesar, 98 %), triéthylamine (TEA; Merck, >97%), triphénylphosphine. (PPh_3 , Alfa Aesar, 99%).

2) Méthodes d'analyses

a. RMN

Les spectres RMN ont été acquis sur un spectromètre Bruker Avance 400 MHz équipé d'un aimant Ultrashield. Les déplacements chimiques sont reportés en fonction du pic résiduel du solvant ^1H RMN: $\text{CDCl}_3 \delta$ (ppm) = 7.26 ; $\text{DMSO-d}_6 \delta$ (ppm) = 2.50 ; $\text{MeOD} \delta$ (ppm) = 3.31 ; ^{13}C RMN: $\text{CDCl}_3 \delta$ (ppm) = 77.16 ; $\text{DMSO-d}_6 \delta$ (ppm) = 39.52 ; $\text{MeOD} \delta$ (ppm) = 49.00 ; Acétone- $d_6 \delta$ (ppm) = 29.84.

b. Chromatographie d'exclusion stérique

Les SEC ont été acquis dans les conditions suivantes: phases stationnaires: quatre colonnes monoporosity PLGel (5 μm , 30 cm, diamètre 7.5 mm) de 50, 100, 500, et 1,000 Å; phase mobile: THF (débit 1mL.min $^{-1}$); détecteur: refractomètre Shimadzu RID-10A; étalon interne: toluène.

c. Spectrométrie de masse

Les spectres ESI-MS HRMS et MS/MS ont été acquis sur un spectromètre de masse de type QqTOF QStar Elite Applied Biosystems SCIEX équipé d'une source d'ionisation ESI opérant généralement en mode négatif (tension du capillaire: 4,200 V, tension du cône: 75 V). Certaines expériences ont été réalisées en mode positif (tension du capillaire: 5,500 V, tension du cône: 75 V). En mode MS, la masse des ions a été mesurée dans un analyseur TOF orthogonal (oa-TOF) utilisant des adduits d'oligomères de polyéthylène glycol et d'acétate comme étalons interne. En mode MS/MS, les ions précurseurs ont été sélectionnés dans un analyseur quadripolaire avant leur entrée dans une chambre de collision remplie d'azote et la masse des ions produits a été analysée dans le oa-TOF. Le gaz nébuliseur utilisé est l'air (10 psi), le gaz rideau est l'azote (20 psi). Le contrôle de l'appareil, l'acquisition des données et

le traitement des données a été effectué avec le logiciel Analyst QS 2.0 (Applied Biosystems). Les oligomères (1-2 mg) ont été dissous dans du MeOH (300 mL) sous irradiation ultrasonique pendant 15 minutes. Les solutions résultantes ont ensuite été diluées (1:100 à 1:1000) dans une solution d'acétate d'ammonium dans du MeOH (3 mM) avant d'être injectées dans la source ESI (débit: 10 mL·min⁻¹). Les oligomères ont été ionisés en mode négatif et les molécules déprotonées ont été soumises à la fragmentation induite par collision.

d. ATG

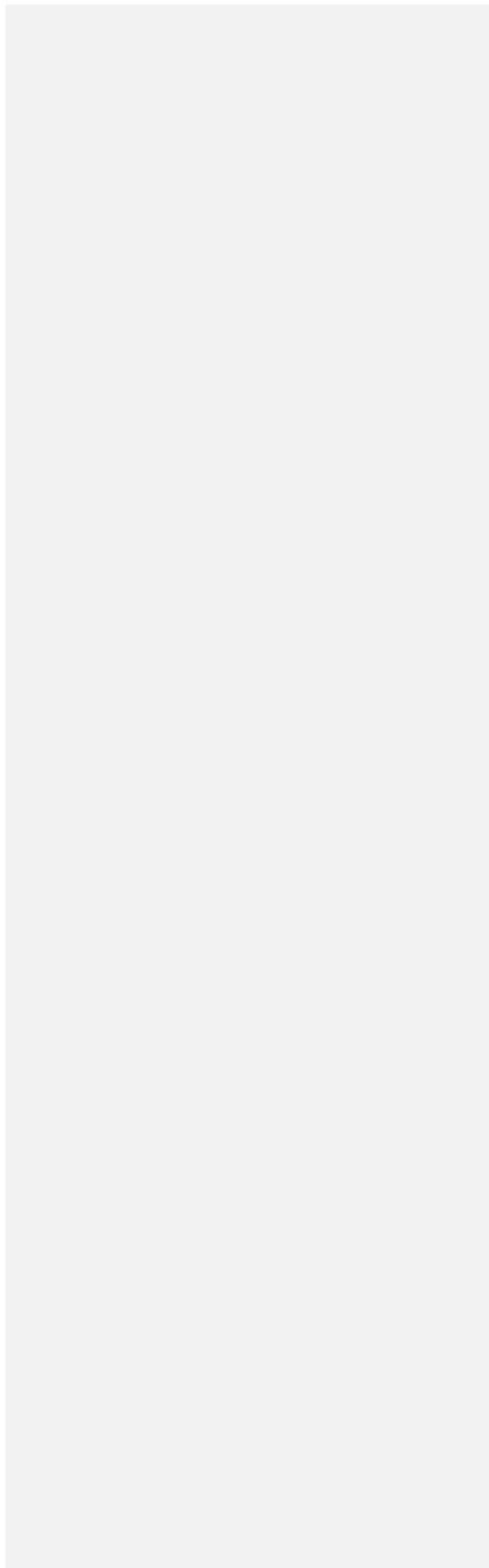
Les analyses ATG ont été effectuées sur un appareil Mettler Toledo TGA 2 Star System dans les conditions suivantes: gamme de température: 25-600°C à 10°C·min⁻¹; flux d'azote 100 mL·min⁻¹.

e. MET

Les échantillons ont été caractérisés par diffraction des électrons avec un microscope CM12 (Philips) équipé d'une caméra digitale Megaview III (Soft Imaging Systems). Les cristaux ont été sélectionnés visuellement sur l'écran avant l'expérience de diffraction à proprement parler. Les distances dans l'espace réciproque ont été mesurées sur les clichés avec le logiciel ImageJ.

f. AFM

Les échantillons ont été caractérisés avec un microscope à force atomique AFM Enviroscope (Veeco) et les images topographiques analysées avec le logiciel NanoScope Analysis (Bruker Corporation).



Références

- [1] J.-F. Lutz, M. Ouchi, D. R. Liu, M. Sawamoto, *Science* **2013**, *341*.
- [2] J. Davis, *Art Journal* **1996**, *55*, 70-74.
- [3] P. Lebacq, US Patent 5,139,812, **1992**.
- [4] R. Dawkins, in *The Blind Watchmaker*, Norton & Company, Inc, United Kingdom, **1986**, p. 115.
- [5] A. Al Ouahabi, J.-A. Amalian, L. Charles, J.-F. Lutz, *Nature Communications* **2017**, *8*, 967.
- [6] A. C. Boukis, M. A. R. Meier, *European Polymer Journal* **2018**, *104*, 32-38.
- [7] R. E. Fontana, G. M. Decad, S. R. Hetzler, *Journal of Applied Physics* **2015**, *117*, 17E301.
- [8] M. Blawat, K. Gaedke, I. Huetter, X.-M. Chen, B. Turczyk, S. Inverso, B. W. Pruitt, G. M. Church, *Procedia Computer Science* **2016**, *80*, 1011-1022.
- [9] C. Laure, D. Karamessini, O. Milenkovic, L. Charles, J. F. Lutz, *Angewandte Chemie International Edition* **2016**, *55*, 10722-10725.
- [10] N. Zydziak, W. Konrad, F. Feist, S. Afonin, S. Weidner, C. Barner-Kowollik, *Nature Communications* **2016**, *7*, 13672.
- [11] P. Edman, G. Begg, *European Journal of Biochemistry* **1967**, *1*, 80-91.
- [12] P. W. K. Rothemund, *Nature* **2006**, *440*, 297.
- [13] G. M. Church, Y. Gao, S. Kosuri, *Science* **2012**, *337*, 1628.
- [14] S. Kosuri, G. M. Church, *Nature methods* **2014**, *11*, 499.
- [15] V. R. Pattabiraman, J. W. Bode, *Nature* **2011**, *480*, 471.
- [16] T. Lindahl, *Nature* **1993**, *362*, 709-715.
- [17] J.-F. Lutz, *Nature Chemistry* **2010**, *2*, 84.
- [18] S. C. Solleder, R. V. Schneider, K. S. Wetzel, A. C. Boukis, M. A. R. Meier, *Macromolecular Rapid Communications* **2017**, *38*, 1600711.
- [19] Y. Brudno, D. R. Liu, *Chemistry & Biology* **2009**, *16*, 265-276.
- [20] J.-F. Lutz, J.-M. Lehn, E. W. Meijer, K. Matyjaszewski, *Nature Reviews Materials* **2016**, *1*, 16024.
- [21] M. M. C. David L. Nelson, *Principles of Biochemistry*, fifth ed., Lehninger, **2008**.
- [22] J.-F. Lutz, M. Ouchi, D. R. Liu, M. Sawamoto, *Science* **2013**, *341*, 1238149.
- [23] R. B. Grubbs, R. H. Grubbs, *Macromolecules* **2017**, *50*, 6979-6997.
- [24] M. Zamfir, J.-F. Lutz, *Nature Communications* **2012**, *3*, 1138.
- [25] J. C. Barnes, D. J. C. Ehrlich, A. X. Gao, F. A. Leibfarth, Y. Jiang, E. Zhou, T. F. Jamison, J. A. Johnson, *Nature Chemistry* **2015**, *7*, 810.
- [26] E. Abbasi, S. F. Aval, A. Akbarzadeh, M. Milani, H. T. Nasrabadi, S. W. Joo, Y. Hanifehpour, K. Nejati-Koshki, R. Pashaei-Asl, *Nanoscale research letters* **2014**, *9*, 247.
- [27] C. J. Noren, S. J. Anthony-Cahill, M. C. Griffith, P. G. Schultz, *Science* **1989**, *244*, 182.
- [28] K. Josephson, M. C. T. Hartman, J. W. Szostak, *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 11727-11735.
- [29] M. Ohuchi, H. Murakami, H. Suga, *Current Opinion in Chemical Biology* **2007**, *11*, 537-542.
- [30] A. Ohta, H. Murakami, E. Higashimura, H. Suga, *Chemistry & Biology* **2007**, *14*, 1315-1322.
- [31] T. Fujino, Y. Goto, H. Suga, H. Murakami, *Journal of the American Chemical Society* **2016**, *138*, 1962-1969.
- [32] V. B. Pinheiro, P. Holliger, *Current Opinion in Chemical Biology* **2012**, *16*, 245-252.
- [33] G. F. Joyce, L. E. Orgel, *Journal of Molecular Biology* **1986**, *188*, 433-441.
- [34] M. K. Herrlein, J. S. Nelson, R. L. Letsinger, *Journal of the American Chemical Society* **1995**, *117*, 10151-10152.
- [35] R. K. Bruick, P. E. Dawson, S. B. H. Kent, N. Usman, G. F. Joyce, *Chemistry & Biology* **1996**, *3*, 49-56.

- [36] Z. J. Gartner, D. R. Liu, *Journal of the American Chemical Society* **2001**, *123*, 6961-6963.
- [37] D. M. Rosenbaum, D. R. Liu, *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 13924-13925.
- [38] J. Niu, R. Hili, D. R. Liu, *Nature Chemistry* **2013**, *5*, 282.
- [39] Y. He, D. R. Liu, *Journal of the American Chemical Society* **2011**, *133*, 9972-9975.
- [40] M. L. McKee, P. J. Milnes, J. Bath, E. Stulz, A. J. Turberfield, R. K. O'Reilly, *Angewandte Chemie* **2010**, *122*, 8120-8123.
- [41] P. J. Milnes, M. L. McKee, J. Bath, L. Song, E. Stulz, A. J. Turberfield, R. K. O'Reilly, *Chemical Communications* **2012**, *48*, 5614-5616.
- [42] Y. He, D. R. Liu, *Nature nanotechnology* **2010**, *5*, 778.
- [43] W. Meng, R. A. Muscat, M. L. McKee, P. J. Milnes, A. H. El-Sagheer, J. Bath, B. G. Davis, T. Brown, R. K. O'Reilly, A. J. Turberfield, *Nature Chemistry* **2016**, *8*, 542.
- [44] J.-F. Lutz, *Macromolecular Rapid Communications* **2017**, *38*, 1700582.
- [45] J. Holloway, K. Wetzel, S. Martens, F. Du Prez, M. A. R. Meier, *Polymer Chemistry* **2019**.
- [46] R. B. Merrifield, *Journal of the American Chemical Society* **1963**, *85*, 2149-2154.
- [47] B. J. Backes, J. A. Ellman, *Current Opinion in Chemical Biology* **1997**, *1*, 86-93.
- [48] S. P. Adams, K. S. Kavka, E. J. Wykes, S. B. Holder, G. R. Galluppi, *Journal of the American Chemical Society* **1983**, *105*, 661-663.
- [49] W. Li, B. Yan, *The Journal of Organic Chemistry* **1998**, *63*, 4092-4097.
- [50] C. Hyde, T. J. Johnson, D. Owen, M. Quibell, R. C. Sheppard, *International journal of peptide and protein research* **1994**, *43*, 431-440.
- [51] D. J. Gravert, K. D. Janda, *Chemical reviews* **1997**, *97*, 489-510.
- [52] W. Zhang, *Current opinion in drug discovery & development* **2004**, *7*, 784.
- [53] C. Alabi, in *Sequence-Controlled Polymers*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA Weinheim, Germany, **2018**, pp. 159-181.
- [54] V. d. Vigneaud, C. Ressler, C. J. M. Swan, C. W. Roberts, P. G. Katsoyannis, S. Gordon, *Journal of the American Chemical Society* **1953**, *75*, 4879-4880.
- [55] O. Brümmer, B. Clapham, K. D. Janda, *Tetrahedron Letters* **2001**, *42*, 2257-2259.
- [56] T. M. Fyles, H. Luong, *Organic & biomolecular chemistry* **2009**, *7*, 725-732.
- [57] K. Burgess, J. Ibarzo, D. S. Linthicum, D. H. Russell, H. Shin, A. Shitangkoon, R. Totani, A. J. Zhang, *Journal of the American Chemical Society* **1997**, *119*, 1556-1564.
- [58] A. Boeijen, R. M. J. Liskamp, *European journal of organic chemistry* **1999**, *1999*, 2127-2135.
- [59] J.-M. Kim, Y. Bi, S. J. Paikoff, P. G. Schultz, *Tetrahedron Letters* **1996**, *37*, 5305-5308.
- [60] C. Y. Cho, E. J. Moran, J. C. Stephans, S. P. Fodor, C. L. Adams, A. Sundaram, J. W. Jacobs, P. G. Schultz, *Science* **1993**, *261*, 1303-1305.
- [61] S. P. Fodor, J. L. Read, M. C. Pirrung, L. Stryer, A. T. Lu, D. Solas, *Science* **1991**, *251*, 767.
- [62] C. Y. Cho, R. S. Youngquist, S. J. Paikoff, M. H. Beresini, A. R. Hebert, L. T. Berleau, C. W. Liu, D. E. Wemmer, T. Keough, P. G. Schultz, *Journal of the American Chemical Society* **1998**, *120*, 7706-7718.
- [63] R. Warrass, P. Walden, K.-H. Wiesmüller, G. Jung, *Letters in Peptide Science* **1998**, *5*, 125-128.
- [64] H. G. Khorana, *Science* **1979**, *203*, 614.
- [65] S. L. Beaucage, M. H. Caruthers, *Tetrahedron Letters* **1981**, *22*, 1859-1862.
- [66] T. G. W. Edwardson, K. M. M. Carneiro, C. J. Serpell, H. F. Sleiman, *Angewandte Chemie International Edition* **2014**, *53*, 4567-4571.
- [67] A. Al Ouahabi, L. Charles, J.-F. Lutz, *Journal of the American Chemical Society* **2015**, *137*, 5629-5635.
- [68] A. Al Ouahabi, M. Kotera, L. Charles, J.-F. Lutz, *ACS Macro Letters* **2015**, *4*, 1077-1080.
- [69] M. Panza, S. G. Pistorio, K. J. Stine, A. V. Demchenko, *Chemical reviews* **2018**, *118*, 8105-8150.

- [70] G. Székely, M. Schaeperoens, P. R. J. Gaffney, A. G. Livingston, *Polymer Chemistry* **2014**, *5*, 694-697.
- [71] Y. Li, Q. Guo, X. Li, H. Zhang, F. Yu, W. Yu, G. Xia, M. Fu, Z. Yang, Z.-X. Jiang, *Tetrahedron Letters* **2014**, *55*, 2110-2113.
- [72] N. G. Angelo, P. S. Arora, *The Journal of Organic Chemistry* **2007**, *72*, 7963-7967.
- [73] X. Tong, B.-h. Guo, Y. Huang, *Chemical Communications* **2011**, *47*, 1455-1457.
- [74] F. Foarta, C. R. Landis, *The Journal of Organic Chemistry* **2016**, *81*, 11250-11255.
- [75] T. T. Trinh, Synthèse itérative supportée de macromolécules à séquences contrôlées **2015**.
- [76] S. Pfeifer, Z. Zarafshani, N. Badi, J.-F. Lutz, *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 9195-9197.
- [77] T. T. Trinh, L. Oswald, D. Chan-Seng, J. F. Lutz, *Macromolecular Rapid Communications* **2014**, *35*, 141-145.
- [78] R. K. Roy, C. Laure, D. Fischer-Krauser, L. Charles, J.-F. Lutz, *Chemical Communications* **2015**, *51*, 15677-15680.
- [79] R. K. Roy, A. Meszynska, C. Laure, L. Charles, C. Verchin, J.-F. Lutz, *Nature Communications* **2015**, *6*, 7237.
- [80] G. Cavallo, A. Al Ouahabi, L. Oswald, L. Charles, J.-F. Lutz, *Journal of the American Chemical Society* **2016**, *138*, 9417-9420.
- [81] S. Martens, J. Van den Begin, A. Madder, F. E. Du Prez, P. Espeel, *Journal of the American Chemical Society* **2016**, *138*, 14182-14185.
- [82] H. Jian, J. M. Tour, *The Journal of Organic Chemistry* **2005**, *70*, 3396-3424.
- [83] S. C. Solleder, M. A. R. Meier, *Angewandte Chemie International Edition* **2014**, *53*, 711-714.
- [84] S. C. Solleder, D. Zengel, K. S. Wetzel, M. A. R. Meier, *Angewandte Chemie International Edition* **2016**, *55*, 1204-1207.
- [85] S. C. Solleder, K. S. Wetzel, M. A. R. Meier, *Polymer Chemistry* **2015**, *6*, 3201-3204.
- [86] S. Wang, Y. Tao, J. Wang, Y. Tao, X. Wang, *Chemical science* **2019**, *10*, 1531-1538.
- [87] R. N. Zuckermann, J. M. Kerr, S. B. H. Kent, W. H. Moos, *Journal of the American Chemical Society* **1992**, *114*, 10646-10647.
- [88] L. Hartmann, E. Krause, M. Antonietti, H. G. Börner, *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 1239-1244.
- [89] M. Porel, C. A. Alabi, *Journal of the American Chemical Society* **2014**, *136*, 13162-13165.
- [90] J. W. Grate, K. F. Mo, M. D. Daily, *Angewandte Chemie International Edition* **2016**, *55*, 3925-3930.
- [91] W. S. Mungall, J. K. Kaiser, *The Journal of Organic Chemistry* **1977**, *42*, 703-706.
- [92] J. M. Coull, D. V. Carlson, H. L. Weith, *Tetrahedron Letters* **1987**, *28*, 745-748.
- [93] R. L. Kanasty, A. J. Vegas, L. M. Ceo, M. Maier, K. Charisse, J. K. Nair, R. Langer, D. G. Anderson, *Angewandte Chemie International Edition* **2016**, *55*, 9529-9533.
- [94] G. De Bo, S. Kuschel, D. A. Leigh, B. Lewandowski, M. Papmeyer, J. W. Ward, *Journal of the American Chemical Society* **2014**, *136*, 5811-5814.
- [95] Y. Hibi, M. Ouchi, M. Sawamoto, *Nature Communications* **2016**, *7*, 11064.
- [96] D. Oh, M. Ouchi, T. Nakanishi, H. Ono, M. Sawamoto, *ACS Macro Letters* **2016**, *5*, 745-749.
- [97] J. D. Watson, F. H. C. Crick, *Nature* **1953**, *171*, 737-738.
- [98] A. Fire, D. Albertson, S. W. Harrison, D. G. Moerman, *Development* **1991**, *113*, 503-514.
- [99] E. A. Doherty, J. A. Doudna, *Annual review of biochemistry* **2000**, *69*, 597-615.
- [100] N. Badi, J.-F. Lutz, *Chemical Society Reviews* **2009**, *38*, 3383-3390.
- [101] J. De Neve, J. J. Haven, L. Maes, T. Junkers, *Polymer Chemistry* **2018**, *9*, 4692-4705.
- [102] J. S. Nowick, D. M. Chung, K. Maitra, S. Maitra, K. D. Stigers, Y. Sun, *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122*, 7654-7661.

- [103] H. Zeng, H. Ickes, R. A. Flowers, B. Gong, *The Journal of Organic Chemistry* **2001**, *66*, 3574-3583.
- [104] X. Yang, B. Gong, *Angewandte Chemie International Edition* **2005**, *44*, 1352-1356.
- [105] M. Li, K. Yamato, J. S. Ferguson, K. K. Singarapu, T. Szyperski, B. Gong, *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 491-500.
- [106] S. H. Gellman, *Accounts of chemical research* **1998**, *31*, 173-180.
- [107] G. Guichard, I. Huc, *Chemical Communications* **2011**, *47*, 5933-5941.
- [108] N. Chandramouli, Y. Ferrand, G. Lautrette, B. Kauffmann, C. D. Mackereth, M. Laguerre, D. Dubreuil, I. Huc, *Nature Chemistry* **2015**, *7*, 334.
- [109] J. Gante, *Angewandte Chemie International Edition in English* **1994**, *33*, 1699-1720.
- [110] J. A. Patch, A. E. Barron, *Current Opinion in Chemical Biology* **2002**, *6*, 872-877.
- [111] R. C. Milton, S. C. Milton, S. B. Kent, *Science* **1992**, *256*, 1445.
- [112] N. Tamilarasu, I. Huq, T. M. Rana, *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **2001**, *11*, 505-507.
- [113] V. B. Pinheiro, P. Holliger, *Current Opinion in Chemical Biology* **2012**, *16*, 245-252.
- [114] M. Egholm, O. Buchardt, L. Christensen, C. Behrens, S. M. Freier, D. A. Driver, R. H. Berg, S. K. Kim, B. Norden, P. E. Nielsen, *Nature* **1993**, *365*, 566.
- [115] P. E. Nielsen, *Chemistry & Biodiversity* **2010**, *7*, 786-804.
- [116] D. A. Malyshev, K. Dhami, T. Lavergne, T. Chen, N. Dai, J. M. Foster, I. R. Corrêa, F. E. Romesberg, *Nature* **2014**, *509*, 385.
- [117] J.-F. Lutz, *Macromolecules* **2015**, *48*, 4759-4767.
- [118] P. C. Wong, K.-K. Wong, H. Foote, *Communications of the ACM* **2003**, *46*, 95-98.
- [119] C. T. Clelland, V. Risca, C. Bancroft, *Nature* **1999**, *399*, 533.
- [120] Y. Erlich, D. Zielinski, *Science* **2017**, *355*, 950.
- [121] E. M. LeProust, B. J. Peck, K. Spirin, H. B. McCuen, B. Moore, E. Namsaraev, M. H. Caruthers, *Nucleic acids research* **2010**, *38*, 2522-2540.
- [122] R. N. Grass, R. Heckel, M. Puddu, D. Paunescu, W. J. Stark, *Angewandte Chemie International Edition* **2015**, *54*, 2552-2555.
- [123] M. Rutten, F. W. Vaandrager, J. Elemans, R. J. M. Nolte, *Nature Reviews Chemistry* **2018**, *2*, 365-381.
- [124] H. Colquhoun, J.-F. Lutz, *Nature Chemistry* **2014**, *6*, 455.
- [125] T. T. Trinh, L. Oswald, D. Chan-Seng, J.-F. Lutz, *Macromolecular Rapid Communications* **2014**, *35*, 141-145.
- [126] G. Cavallo, S. Poyer, J.-A. Amalian, F. Dufour, A. Burel, C. Carapito, L. Charles, J.-F. Lutz, *Angewandte Chemie International Edition* **2018**, *57*, 6266-6269.
- [127] S. Martens, A. Landuyt, P. Espeel, B. Devreese, P. Dawyndt, F. Du Prez, *Nature Communications* **2018**, *9*, 4451.
- [128] V. Zhirnov, R. M. Zadegan, G. S. Sandhu, G. M. Church, W. L. Hughes, *Nature Materials* **2016**, *15*, 366.
- [129] B. Zakeri, T. K. Lu, *Current Opinion in Chemical Biology* **2015**, *28*, 9-14.
- [130] J. P. L. Cox, *Trends in Biotechnology* **2001**, *19*, 247-250.
- [131] OCDE, E. U. I. P. Office, *Trade in Counterfeit and Pirated Goods*, **2016**.
- [132] K. Karunamoorthi, *Malaria journal* **2014**, *13*, 209.
- [133] P. Behner, M. L. Hecht, F. Wahl, *Retrieved December* **2017**, *12*, 2017.
- [134] R. Arppe, T. J. Sørensen, *Nature Reviews Chemistry* **2017**, *1*, 0031.
- [135] P. H. Kydd, US Patent 4,441,943, **1984**.
- [136] J. M. Heather, B. Chain, *Genomics* **2016**, *107*, 1-8.
- [137] M. Bergmann, L. Zervas, S. With the collaboration of Ferdinand, *Journal of Biological Chemistry* **1936**, *113*, 341-357.

- [138] P. Edman, *Acta Chemica Scandinavica* **1950**, 4, 283-293.
- [139] F. Sanger, *Biochemical Journal* **1945**, 39, 507.
- [140] F. Haque, J. Li, H.-C. Wu, X.-J. Liang, P. Guo, *Nano today* **2013**, 8, 56-74.
- [141] J. E. Reiner, J. J. Kasianowicz, B. J. Nablo, J. W. F. Robertson, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2010**, 107, 12080-12085.
- [142] J. Clarke, H.-C. Wu, L. Jayasinghe, A. Patel, S. Reid, H. Bayley, *Nature nanotechnology* **2009**, 4, 265.
- [143] N. F. König, A. Al Ouahabi, S. Poyer, L. Charles, J. F. Lutz, *Angewandte Chemie International Edition* **2017**, 56, 7297-7301.
- [144] M. G. Hinds, R. S. Norton, *Molecular biotechnology* **1997**, 7, 315-331.
- [145] K. Biemann, *International Journal of Mass Spectrometry* **2007**, 259, 1-7.
- [146] A. Mandelbaum, *Mass Spectrometry Reviews* **1983**, 2, 223-284.
- [147] C. M. Adams, R. A. Zubarev, *Analytical Chemistry* **2005**, 77, 4571-4580.
- [148] C. Boujard, N. Foray, J. C. Caudron, *Panorama du marché du polyuréthane et état de l'art de ses techniques de recyclages*, Report 1202C0079, ADEME, **2014**.
- [149] A. K. Ghosh, T. T. Duong, S. P. McKee, W. J. Thompson, *Tetrahedron Letters* **1992**, 33, 2781.
- [150] A. K. Ghosh, M. Brindisi, *Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, 58, 2895-2940.
- [151] R. Santini, M. C. Griffith, M. Qi, *Tetrahedron Letters* **1998**, 39, 8951-8954.
- [152] *Glen Report 19.14: Microarrays, Nanotechnology and Beyond*, Vol. 19, Glen Research, Sterling, **2007**.
- [153] J.-A. Amalian, S. Poyer, B. E. Petit, S. Telitel, V. Monnier, D. Karamessini, D. Gigmes, J.-F. Lutz, L. Charles, *International Journal of Mass Spectrometry* **2017**, 421, 271-278.
- [154] Ufuk S. Gunay, Benoît E. Petit, D. Karamessini, A. Al Ouahabi, J.-A. Amalian, C. Chendo, M. Bouquey, D. Gigmes, L. Charles, J.-F. Lutz, *Chem* **2016**, 1, 114-126.
- [155] D. Karamessini, B. E. Petit, M. Bouquey, L. Charles, J. F. Lutz, *Advanced Functional Materials* **2017**, 27, 1604595.
- [156] D. Karamessini, T. Simon-Yarza, S. Poyer, E. Konishcheva, L. Charles, D. Letourneur, J. F. Lutz, *Angewandte Chemie International Edition* **2018**, 57, 10574-10578.
- [157] V. Besse, F. Camara, F. Méchin, E. Fleury, S. Caillol, J.-P. Pascault, B. Boutevin, *European Polymer Journal* **2015**, 71, 1-11.
- [158] A. D. McNaught, *Compendium of chemical terminology*, Vol. 1669, Blackwell Science Oxford, **1997**.
- [159] P. H. Geil, *Journal of Polymer Science* **1960**, 44, 449-458.
- [160] C. E. Fernández, M. Bermúdez, S. Muñoz-Guerra, S. León, R. M. Versteegen, E. W. Meijer, *Macromolecules* **2010**, 43, 4161-4171.
- [161] B. Lotz, A. Brack, G. Spach, *Journal of Molecular Biology* **1974**, 87, 193-203.
- [162] K. Takizawa, C. Tang, C. J. Hawker, *Journal of the American Chemical Society* **2008**, 130, 1718-1726.
- [163] D. B. Williams, C. B. Carter, in *Transmission Electron Microscopy: A Textbook for Materials Science* (Eds.: D. B. Williams, C. B. Carter), Springer US, Boston, MA, **1996**, pp. 3-17.

Liste des publications

Ufuk Saim Gunay, Benoît Eric Petit, Denise Karamessini, Abdelaziz Al Ouahabi, Jean-Arthur Amalian, Christophe Chendo, Michel Bouquey, Didier Gigmes, Laurence Charles, Jean-François Lutz.

Chemoselective Synthesis of Uniform Sequence-Coded Polyurethanes and Their Use as Molecular Tags

Chem, **2016**, *1* (1), 114-126.

[10.1016/j.chempr.2016.06.006](https://doi.org/10.1016/j.chempr.2016.06.006)

Denise Karamessini, Benoît Eric Petit, Michel Bouquey, Laurence Charles, Jean-François Lutz.

Identification-tagging of methacrylate-based intraocular implants using sequence defined polyurethane barcodes.

Advanced Functional Materials, **2017**, *27* (3), 1604595.

[10.1002/adfm.201604595](https://doi.org/10.1002/adfm.201604595)

Sofia Telitel, Benoît Eric Petit, Salomé Poyer, Laurence Charles, Jean-François Lutz.

Sequence-coded ATRP macroinitiators.

Polymer Chemistry, **2017**, *8* (34), 4988-4991.

[10.1039/C7PY00496F](https://doi.org/10.1039/C7PY00496F)

Jean-Arthur Amalian, Salomé Poyer, Benoît Eric Petit, Sofia Telitel, Valérie Monnier, Denise Karamessini, Didier Gigmes, Jean-François Lutz, Laurence Charles.

Negative mode MS/MS to read digital information encoded in sequence-defined oligo(urethane)s: a mechanistic study

International Journal of Mass Spectrometry, **2017**, *421*, 271-278.

[10.1016/j.ijms.2017.07.006](https://doi.org/10.1016/j.ijms.2017.07.006)

Benoît Eric Petit, Bernard Lotz, Jean-François Lutz.

About the Crystallization of Abiotic Coded Matter.

ACS Macro Letters, **2019**, *8*, 779-782.

[10.1021/acsmacrolett.9b00307](https://doi.org/10.1021/acsmacrolett.9b00307)

Tathagata Mondal, Vincent Greff, Benoît Eric Petit, Laurence Charles, Jean-François Lutz.

Efficient Protocol for the Synthesis of “N-Coded” Oligo- and Poly(N-Substituted Urethanes)

ACS Macro Letters, **2019**, *8* (XXX), 1002-1005.

[10.1021/acsmacrolett.9b00446](https://doi.org/10.1021/acsmacrolett.9b00446)



Benoit PETIT

Synthèse de polycarbamates à séquences définies pour le stockage d'information



Résumé

Cette thèse porte sur la synthèse et l'étude de polycarbamates à séquences définies. Ces molécules ont été synthétisées sur support solide par une méthode ne nécessitant pas de groupes protecteurs mais se basant sur la réactivité du carbonate de N,N'-disuccinimidyle. La répétition itérative de deux étapes d'addition/élimination chimiosélectives permet grâce à ce sous-monomère, de synthétiser des polycarbamates à séquences définies. Les monomères utilisés lors de la seconde étape ont été choisis afin d'introduire volontairement un code binaire dans les molécules. L'information contenue est particulièrement facile à lire grâce au séquençage par spectrométrie de masse en tandem. La dépolymérisation séquentielle de cette famille de molécule a par la suite été étudiée en solution sur des molécules modèles. Enfin, la structure cristalline de différents oligomères a été étudiée par diffraction des électrons. Ce travail a permis de déterminer la densité d'information dans les cristaux ainsi que d'identifier des relations séquence/structure.

Mots-clés : synthèse itérative, polymères à séquences définies, cristallisation, carbamates.

Résumé en anglais

This PhD thesis focuses on the synthesis and on the study of sequence-defined polycarbamates. The different oligomers were synthetized on a solid support *via* a sub-monomer approach based on the reactivity of N,N'-disuccinimidyl carbonate. Two iterative chemoselective addition/elimination steps yielded sequence-defined polycarbamates. Monomers of different chemical structures were used in the second step in order to introduce a binary code in the molecule. Tandem mass spectrometry permitted the easy readout of the encoded information. Sequential head to tail depolymerization of these oligomers was then investigated in solution on small molecules. Finally, data-density in crystals of different oligomers was investigated by electron diffraction. This last study also permitted to highlight sequence/structure relationships in this particular class of sequence defined polymers.

Key words : iterative synthesis, sequence-defined polymers, crystallization, carbamates.