



HAL
open science

Poly(oxyde d'éthylène)s fonctionnels à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité réversible pour la stabilisation de nanoparticules magnétiques

Thi Thanh Thuy Nguyen

► **To cite this version:**

Thi Thanh Thuy Nguyen. Poly(oxyde d'éthylène)s fonctionnels à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité réversible pour la stabilisation de nanoparticules magnétiques. Cristallographie. Le Mans Université, 2013. Français. NNT : 2013LEMA1012 . tel-00844750

HAL Id: tel-00844750

<https://theses.hal.science/tel-00844750>

Submitted on 15 Jul 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Thèse de Doctorat

Thi Thanh Thuy NGUYEN

*Mémoire présenté en vue de l'obtention du
grade de Docteur de l'Université du Maine
sous le label de L'Université Nantes Angers Le Mans*

École doctorale : 3MPL

Discipline : Chimie des Matériaux, CNU 33
Spécialité : Chimie et Physicochimie des Polymères
Unité de recherche : IMMM, UMR n°6283, CNRS
Soutenue le 9 juillet 2013

Poly(oxyde d'éthylène)s fonctionnels à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité réversible pour la stabilisation de nanoparticules magnétiques

JURY

Rapporteurs :	Mme. Valérie LANGLOIS , PU, CNRS, UMP 7182 – Institut de Chimie et des Matériaux de Paris Est(12) M. Bernard BOUTEVIN , PU, Université Montpellier II
Examineurs :	M. Gilles DUJARDIN , DR, Université du Maine, IMMM, UMR n°6283, CNRS M. Jérôme FRESNAIS , CR, Laboratoire de Physico-Chimie des Electrolytes, Colloïdes et Sciences analytiques
Directeur de Thèse :	M. Laurent FONTAINE , PU, Université du Maine, IMMM, UMR n°6283, CNRS
Co-directeur de Thèse :	Mme. Véronique MONTEBAULT , MCF-HDR, Université du Maine, IMMM, UMR n°6283, CNRS

Ce travail de recherche a été réalisé au sein de l'équipe de Méthodologie et Synthèse des Polymères de l'Institut des Molécules et Matériaux du Mans (IMM) 6283 CNRS à l'Université du Maine, au Mans. Je tiens à exprimer ma sincère gratitude à mon directeur de thèse, le Professeur Laurent Fontaine pour m'avoir accueillie dans son équipe, pour m'avoir confié ce sujet de thèse, pour avoir dirigé ce travail, pour ses conseils et sa disponibilité. Je l'en remercie sincèrement.

Je tiens à remercier du fond du cœur le Docteur Véronique Montebault pour ses conseils, sa disponibilité, pour sa gentillesse, pour son sourire qui m'a donné de la motivation. Je ne peux pas trouver les mots suffisants pour lui exprimer mon immense gratitude et mes remerciements. Je la remercie pour tout.

Je suis très honoré que Madame le Professeur Valérie Langlois et Monsieur le Professeur Bernard Boudevin aient accepté de juger ce mémoire en tant que rapporteurs, je les en remercie vivement.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance au Directeur de recherche Gilles Dujardin non seulement pour avoir accepté de présider ce jury de thèse, mais aussi pour les discussions que nous avons eu avant la soutenance.

Je remercie également Monsieur le Docteur Jérôme Fresnais, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de participer à mon jury de thèse.

Je remercie très particulièrement le Docteur Michael R. Whittaker pour m'avoir accueillie dans son laboratoire à l'Université de New South Wales en Australie, pour son aide précieuse ainsi que ses bons conseils.

Je remercie également le Docteur Cyrille Boyer pour m'avoir donné l'opportunité de travailler au laboratoire à l'Université de New South Wales à Sydney.

Je tiens aussi à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur le Docteur Jean-Claude Soutif pour m'avoir donné de jolis spectres de masse Maldi-Tof, pour toutes les explications précieuses qu'il m'a apportées avec patience et pédagogie sur l'analyse Maldi-Tof.

Je remercie très particulièrement Madame le Docteur Sagrario Pascual, Monsieur le Docteur Guillaume Brotons et Madame le Docteur Sandie Piogé pour leur disponibilité et leur gentillesse.

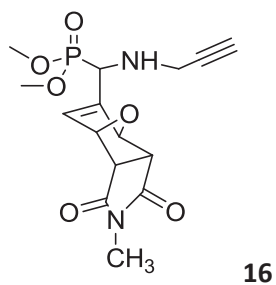
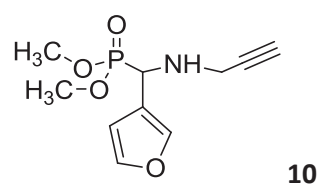
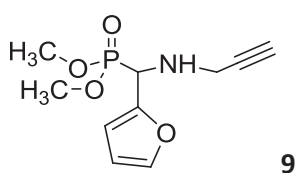
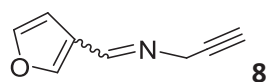
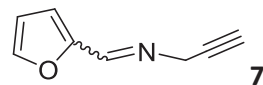
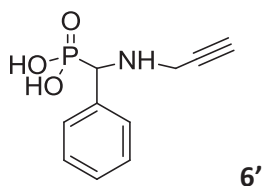
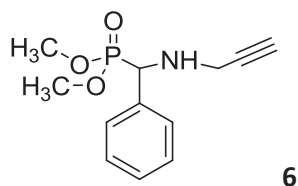
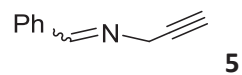
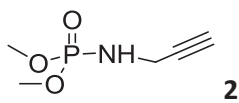
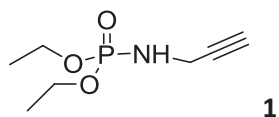
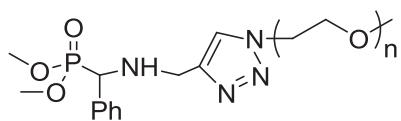
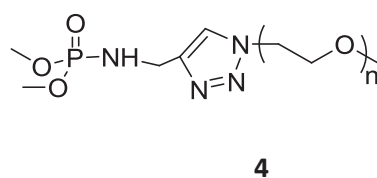
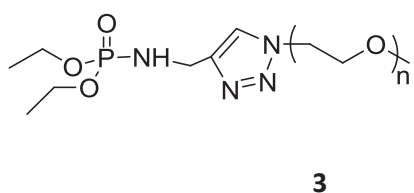
Je voudrais associer à ces remerciements Madame Anita Loiseau, Madame Amélie Durand, Madame Emmanuelle Mebold, Madame Aline Lambert, pour la disponibilité qu'ils m'ont toujours manifestée.

Je remercie également le Docteur Kien Duong et Jonhan Basuki pour leur aide au laboratoire à Sydney.

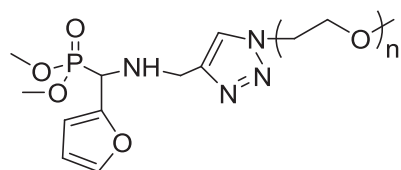
Merci à Marie pour sa disponibilité et son aide au quotidien au laboratoire.

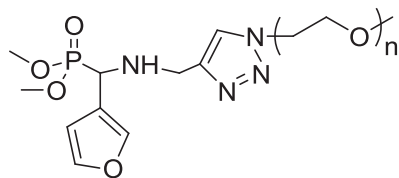
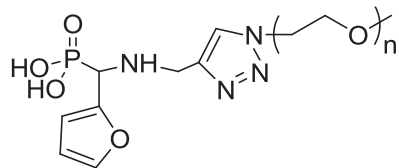
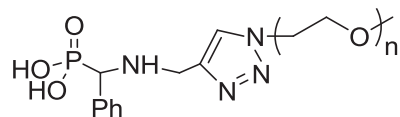
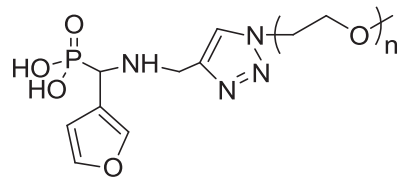
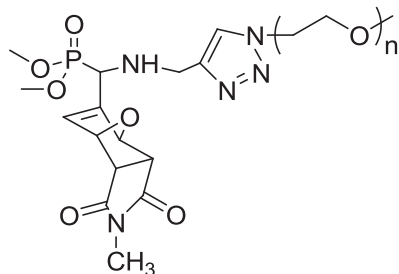
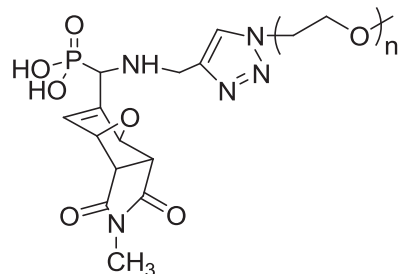
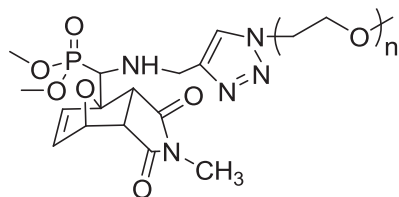
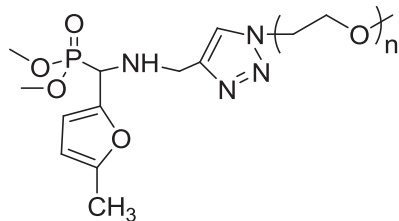
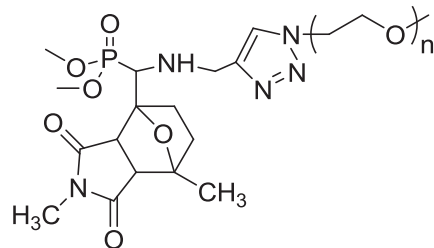
Je remercie également l'ensemble du personnel du laboratoire, chercheurs, thésards, stagiaires, post-docs, permanents pour leur disponibilité et leur sympathie. Merci à mes collègues du laboratoire Kien, Dao, Nhung, Flavien, Charles, Ying-rak, Khrisna, Julien, Sunat, Anh, Alexandre, Alice pour l'ambiance amicale.

Un grand merci à ma famille, mes parents, mes beaux-parents qui m'ont toujours soutenue. Et Loi, merci d'avoir été à mes côtés et de partager les bons moments ou les moments difficiles, pour ta patience. Merci à mes enfants Hue Nam et Hoang Nam, mes forces motrices qui, malgré leur jeune âge, ont su surmonter mon absence en croyant à leur maman, avide de savoir.

Molécules organiques**Macromolécules**

11b ($\overline{M}_n = 5000 \text{ g.mol}^{-1}$)



Macromolécules***13a** ($\overline{M}_n = 2000 \text{ g.mol}^{-1}$)**13b** ($\overline{M}_n = 5000 \text{ g.mol}^{-1}$)**12a'** ($\overline{M}_n = 2000 \text{ g.mol}^{-1}$)**11a'** ($\overline{M}_n = 2000 \text{ g.mol}^{-1}$)**11b'** ($\overline{M}_n = 5000 \text{ g.mol}^{-1}$)**13a'** ($\overline{M}_n = 2000 \text{ g.mol}^{-1}$)**13a'** ($\overline{M}_n = 5000 \text{ g.mol}^{-1}$)**14a** ($\overline{M}_n = 2000 \text{ g.mol}^{-1}$)**14a'** ($\overline{M}_n = 2000 \text{ g.mol}^{-1}$)**15a** ($\overline{M}_n = 2000 \text{ g.mol}^{-1}$)**17a** ($\overline{M}_n = 2000 \text{ g.mol}^{-1}$)**18a** ($\overline{M}_n = 2000 \text{ g.mol}^{-1}$)

* Nomenclature :
 a pour \overline{M}_n (POE) = 2 000 g.mol^{-1}
 b pour \overline{M}_n (POE) = 5 000 g.mol^{-1}
 ' pour extrémité acide phosphonique

Liste des abréviations

acac	acétylacétonate
ACN	Acétonitrile
APS	γ -aminopropyl triéthoxysilane
ATG	Analyse thermogravimétrique
ATRP	Polymérisation radicalaire par transfert d'atome
BET	Méthode de Brunauer-Emmett-Teller
BIBB	Bromure de 2-bromoisobutyryle
BTPAm	2-bromo-2-méthyl- <i>N</i> -(3-(triéthoxysilyl)propyl)propanamide
BSA	Sérum albumine bovine
CDCl ₃	Chloroforme deutéré
DCM	Dichlorométhane
DCTB	<i>trans</i> -2-3-(4- <i>tert</i> -butylphényl)-2-méthyl-2-propénylidène
DLS	Diffusion dynamique de la lumière
DMF	<i>N,N</i> -diméthylformamide
DMSO-d ₆	Diméthylsulfoxyde deutéré
FA	Folate
FBS	Sérum de veau fœtal
FDA	Food and Drug Administration
γ -Fe ₂ O ₃	Maghémite
Fe ₃ O ₄	Magnétite
FeO	Wüstite
α -Fe ₂ O ₃	Hématite
FLIM	Microscopie de temps de vie de fluorescence
FT-IR	Infrarouge à transformée de Fourier
FTIR-ATR	Infrarouge à transformée de Fourier en réflexion totale atténuée
GNP	Nanoplaquettes de graphite
HCCA	Acide α -cyano-4-hydroxycinnamique
IRM	Imagerie par résonance magnétique
KTFA	Trifluoroacétate de potassium
MALDI-TOF	Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight
\overline{M}_n	Masse molaire moyenne en nombre
Me ₆ TREN	Tris[2-(diméthylamino)éthyl]amine
NaI	Iodure de sodium
NaTFA	Trifluoroacétate de sodium
NMP	Polymérisation contrôlée par les nitroxydes
PEG	Poly(éthylène glycol)

Liste des abréviations

PEI	Polyéthylène imine
PEGMA	Méthacrylate de poly(éthylène glycol) méthyl éther
PDMAEA	Poly(acrylate de diméthyle aminoéthyle)
PMDETA	<i>N,N,N',N''</i> -pentaméthyl-diéthylène-triamine
PMIDA	Acide phosphonométhyliminodiacétique
PNA	Acide nucléique peptidique
POE	Poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther
Poly(OEG-A)	Poly(oligoéthylène glycol acrylate)
PTX	Paclitaxel
PVA	Poly(alcool vinylique)
RAFT	Transfert de chaîne réversible par addition/fragmentation
RDRP	Polymérisation radicalaire par désactivation réversible
RITC	Rhodamine B isothiocyanate
RMN ¹ H	Résonance magnétique nucléaire du proton
RMN ¹³ C	Résonance magnétique nucléaire du carbone
RMN ³¹ P	Résonance magnétique nucléaire du phosphore
ROMP	Polymérisation par ouverture de cycle par métathèse
ROP	Polymérisation par ouverture de cycle
RX	Rayon X
siRNA	Petits acides ribonucléiques interférents
SM-HR	Spectrométrie de masse haute résolution
TA	Température ambiante
TEA	Triéthylamine
TCE-d ₂	1,1,1-trichlorométhane deutéré
TEM	Microscopie électronique en transmission
THF	Tétrahydrofurane
TMS	Tétraméthylsilane
TMSBr	Bromure de triméthylsilyle
USPIO	Nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques
UV-vis	Ultraviolet-visible
XPS	Photo émission X
VDM	2-vinyl-4,4-diméthylazlactone

INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I – Etude Bibliographique	
Introduction	5
I- Méthode de synthèse des nanoparticules magnétiques	7
I-1. La coprécipitation	7
I-2. La synthèse hydrothermale	8
I-3. La synthèse en microémulsion inverse	8
I-4. La décomposition thermique	9
II- Stabilisation de la surface des nanoparticules magnétiques	10
II-1. Phénomènes intervenant lors de la stabilisation	10
II-2. Stabilisation par des molécules organiques	12
II-2.1. <i>Ligands carboxylates</i>	14
II-2.2. <i>Ligands phosphonates</i>	15
II-3. Procédures utilisées pour la stabilisation et/ou fonctionnalisation	17
II-3.1. <i>Stabilisation de la surface des nanoparticules magnétiques nues</i>	18
II-3.2. <i>Stabilisation de la surface des nanoparticules magnétiques in situ</i>	22
II-3.3. <i>Stabilisation de la surface des nanoparticules magnétiques par échange de ligand</i>	23
III- Fonctionnalisation des nanoparticules magnétiques par des polymères	24
III-1. La stratégie ‘grafting from’	26
III-2. La stratégie ‘grafting onto’	31
Conclusion	36
Références	38

CHAPITRE II – Synthèse de POE fonctionnalisés à extrémité acide phosphonique

Introduction	43
I- Synthèse de poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité phosphonate par combinaison des réactions d'Atherton-Todd et de chimie 'click'	47
I-1. Rappels bibliographiques sur la réaction d'Atherton-Todd	47
I-2. Synthèse des N-di(m)éthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amines	50
I-3. Réaction de chimie 'click' entre l'azoture de poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 2 000 et la N-di(m)éthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine	51
I-4. Déalkylation du poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther à extrémité di(m)éthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine	55
II- Synthèse de poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité acide phosphonique par combinaison des réactions de Kabachnik-Fields et de chimie 'click'	58
II-1. Rappels bibliographiques sur la réaction de Kabachnik-Fields	59
II-2. Synthèse des α -aminophosphonates	62
II-2.1. Synthèse du phényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle	62
II-2.2. Synthèse des furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonates de diméthyle	65
II-3. Synthèse des poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité phosphonate par la réaction de chimie 'click'	68
II-4. Synthèse des poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité acide phosphonique par la réaction de déalkylation	72
II-4.1. Déalkylation du phényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle	72
II-4.2. Déalkylation des poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éthers à extrémité phosphonate de diméthyle	73
II-5. Synthèse des poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité acide phosphonique par hydrolyse	75
II-6. Conclusion	77
Conclusion	78
Références	79

CHAPITRE III – Réactivité du cycle furane des POE vis-à-vis d'une réaction de Diels-Alder

Introduction	83
I- Rappels bibliographiques sur la réaction de Diels-Alder en synthèse macromoléculaire	85
II- Etude de la réaction de Diels-Alder sur molécule modèle	88
III- Réactivité des POEs à extrémité phosphonate	91
III-1. Influence de la substitution du furane	91
III-2. Influence des conditions de réaction	95
III-3. Réaction de rétro Diels-Alder	97
III-4. Déalkylation du POE à extrémité phosphonate de diméthyle fonctionnalisé par un groupement oxanorbornènes	99
IV- Réactivité des POE à extrémité acide phosphonique	101
IV-1. Réaction de Diels-Alder	101
IV-2. Réaction de rétro Diels-Alder	103
Conclusion	106
Références	107

CHAPITRE IV – Stabilisation de la surface des nanoparticules par POEs à extrémité acide phosphonique

Introduction	109
I- Synthèse et caractérisation de nanoparticules d'oxyde de fer	114
I-1. Synthèse de nanoparticules d'oxyde de fer par la méthode de coprécipitation	114
I-2. Caractérisation des nanoparticules d'oxyde de fer nues	115
I.2.1. Détermination du diamètre et de la distribution en taille des nanoparticules d'oxyde de fer	115
I.2.2. Analyse structurale des nanoparticules d'oxyde de fer nues	117
II- Fonctionnalisation de la surface des nanoparticules d'oxyde de fer par les POEs à extrémité acide phosphonique	118
II-1. Greffage des POEs à extrémité acide phosphonique à la surface des nanoparticules nues par la méthode 'grafting onto'	118
II-2. Mise en évidence de la fonctionnalisation des nanoparticules	119
II-3. Calcul de la densité de greffage	122
II-4. Détermination de la taille et de la morphologie des nanoparticules fonctionnalisées	125
II-5. Etude de la stabilité des nanoparticules greffées	128
II-6. Cytotoxicité des nanoparticules greffées	132
III- Réactivité de la fonctionnalité furane ou oxanorbornène sur les nanoparticules greffées	134
III-1. Réactivité de la fonctionnalité furane des nanoparticules greffées	135
III-2. Réactivité de la fonctionnalité oxanorbornène des nanoparticules greffées	137
Conclusion	140
Références	141
CONCLUSION GENERALE	143
PARTIE EXPERIMENTAIRE	147

INTRODUCTION GENERALE

Les nanoparticules magnétiques suscitent aujourd'hui un intérêt considérable dans la communauté scientifique en raison de leurs propriétés magnétiques conduisant à un fort potentiel d'applications dans un large éventail de disciplines, que ce soit dans les domaines du stockage magnétique d'informations, de la catalyse, de l'environnement et médical (vectorisation, détection de maladies).¹ Parmi les nanoparticules magnétiques, un intérêt particulier s'est porté vers des particules superparamagnétiques d'oxyde de fer comme la maghémite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) et la magnétite (Fe_3O_4) qui sont aimantées sous champ extérieur mais qui ne présentent plus d'interactions magnétiques dès qu'elles ne sont plus soumises à ce champ extérieur.² Elles ont fait l'objet de nombreuses études ces dernières décennies et ont notamment apporté des innovations en tant qu'agents de contraste pour l'imagerie par résonance magnétique (IRM) et en thérapeutique pour le traitement du cancer par hyperthermie. Au regard du bénéfice qu'elles apportent pour le diagnostic de certaines pathologies, grâce au champ magnétique local qu'elles génèrent, les nanoparticules d'oxyde de fer sont approuvées par la *Food and Drug Administration* (FDA).

Néanmoins, pour être utilisées *in vivo*, ces nanoparticules doivent être recouvertes ou greffées avec des ligands (macro)moléculaires organiques tout en préservant les propriétés inhérentes aux nanoparticules d'oxyde de fer et aux (macro)molécules organiques. Ce recouvrement permet non seulement d'empêcher l'agglomération des nanoparticules dans un environnement physiologique, favorisant ainsi la biodistribution, mais il peut également permettre d'introduire d'autres groupements conférant des propriétés spécifiques et/ou qui peuvent être utilisés pour une fonctionnalisation ultérieure.³ Les polymères sont donc particulièrement adaptés par leur structure constituée de nombreuses unités de répétition qui favorisent la stabilisation par ancrage à la surface des nanoparticules et leur permettent d'être multifonctionnels.

Dans ce contexte, l'objectif de cette thèse concerne la synthèse de polymères hydrophiles biocompatibles et multifonctionnels pour la stabilisation et la fonctionnalisation des nanoparticules magnétiques d'oxyde de fer (Schéma 1). Le choix du polymère s'est porté sur le poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther (POE) en raison de ses propriétés d'hydrophilie, de sa biocompatibilité, de sa furtivité, de sa fonctionnalité et de sa disponibilité commerciale. Les polymères utilisés pour stabiliser des nanoparticules de fer peuvent être fonctionnalisés par des groupements hydroxy, amine ou acide carboxylique, dont les propriétés complexantes vis-à-vis

¹ Lu, A. H.; Salabas, E.; Schüth *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1222-1244.

² Mahmoudi, M.; Sant, S.; Wang, B.; Laurent, S.; Sen, T. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2011**, *63*, 24-46.

³ Nguyen, T. K. T. *Magnetic nanoparticles: from fabrication to clinical applications*, CRC Press, Taylor & Francis group, **2012**.

des nanoparticules peuvent s'avérer insuffisantes, entraînant un phénomène de "lessivage", et qui sont peu sélectifs pour une bio-fonctionnalisation. A l'opposé, le groupement acide phosphonique possède une forte affinité avec la surface des nanoparticules d'oxyde de fer pour former des complexes dont la stabilité augmente avec la température.³ De plus, ce groupement permet d'obtenir une grande densité de greffage sur la surface des nanoparticules et présente une biocompatibilité acceptable en vue de son utilisation dans le domaine médical.⁴

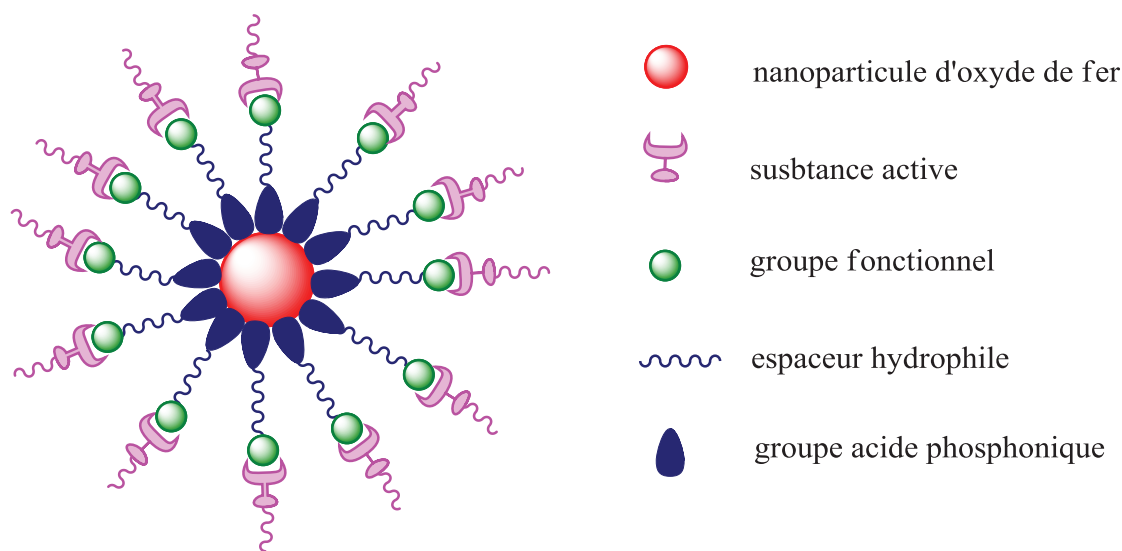


Schéma 1. Représentation schématique d'un polymère multifonctionnel pour la stabilisation et la fonctionnalisation de nanoparticules d'oxyde de fer.

L'objectif est de fonctionnaliser le POE par un groupement acide phosphonique, d'une part, qui permet d'immobiliser le polymère sur les nanoparticules d'oxyde de fer, et par une fonctionnalité furane, d'autre part, qui est susceptible de réagir avec des (bio)molécules à fonctionnalité maléimide. Le choix de la fonctionnalité permettant d'introduire une (bio)molécule s'est porté sur le groupement furane car il réagit, dans des conditions compatibles avec le milieu physiologique, avec des (bio)molécules à fonctionnalité maléimide, facilement accessibles, selon une réaction de Diels-Alder thermoréversible⁵ autorisant son utilisation pour la vectorisation et une libération par hyperthermie.⁶

⁴ Sahoo, Y.; Pizem, H.; Fried, T.; Golodnitsky, D.; Burstein, L.; Sukenik, C. N.; Markovich, G. *Langmuir* **2001**, *17*, 7907-7911.

⁵ Ghoneim, R.; Perez-Berumen, C.; Gandini, A. *Macromolecules* **2002**, *35*, 7246-7253.

⁶ Sabramani, C.; Cengiz, N.; Saha, K.; Gevrek, T. N.; Yu, X.; Jeong, Y.; Bajaj, A.; Sanyal, A.; Rotello, V. M. *Adv. Mater.* **2011**, *23*, 3165-3169.

La stratégie retenue consiste donc à synthétiser des polymères à partir d'une molécule possédant un groupement précurseur d'acide phosphonique pour l'ancrage sur la nanoparticule, ainsi que deux fonctions orthogonales réactives selon une réaction de chimie 'click'. La première fonction réactive est un groupe alcyne permettant d'ancrer un polymère selon une réaction de cycloaddition [3+2] 1,3-dipolaire. La seconde est un cycle furane susceptible d'ancrer une (bio)molécule à fonctionnalité maléimide selon une réaction de cycloaddition [4+2] de Diels-Alder réversible (Schéma 2). Cette stratégie revêt un caractère universel puisqu'elle est susceptible d'être étendue à d'autres polymères que le POE et à des fonctionnalités autres que le furane.

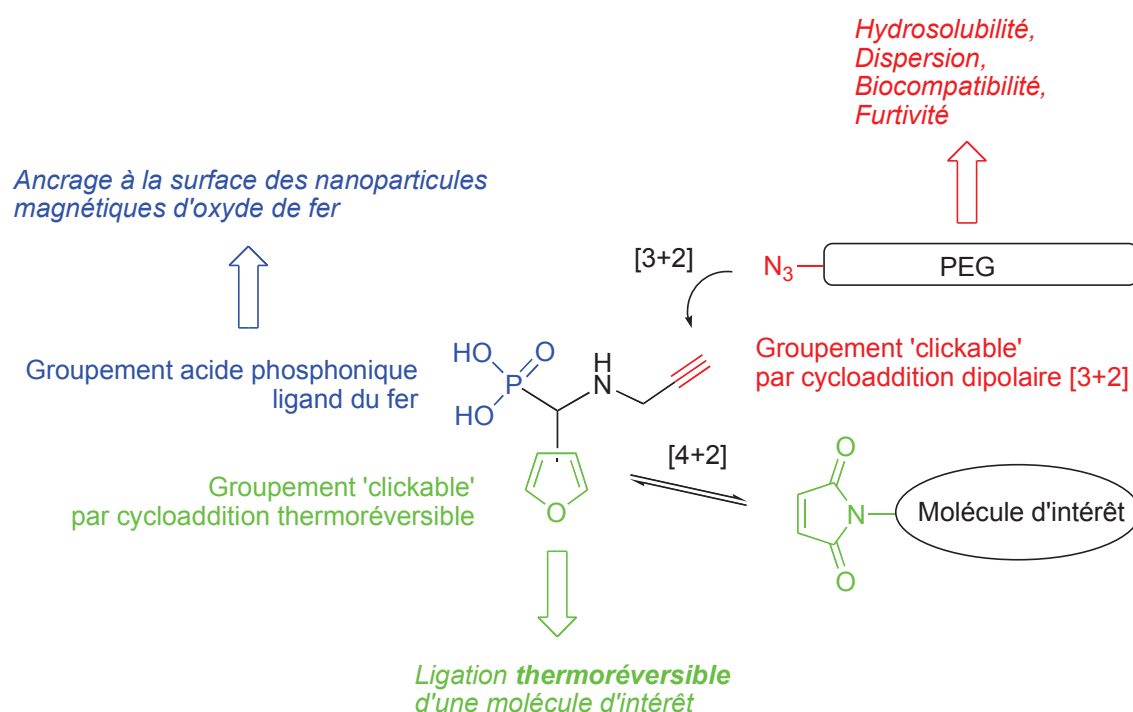


Schéma 2. Structure générale du précurseur de ligands POEs à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane.

La synthèse des ligands POEs à extrémité acide phosphonique a été envisagée selon deux stratégies (Schéma 3). La 1^{ère} approche mise en œuvre consiste à combiner une réaction d'Atherton-Todd et une réaction de chimie 'click'. La 2^{ème} approche, combinant une réaction de Kabachnik-Fields et une réaction de chimie 'click', permet non seulement la fonctionnalisation du POE par une extrémité acide phosphonique, mais également une 2^{ème} fonctionnalisation avec l'introduction d'un groupement R en β de l'acide phosphonique. De plus, la liaison P-C dans

l'acide phosphonique présente une faible toxicité, une haute résistance au clivage enzymatique et est thermostable.⁷

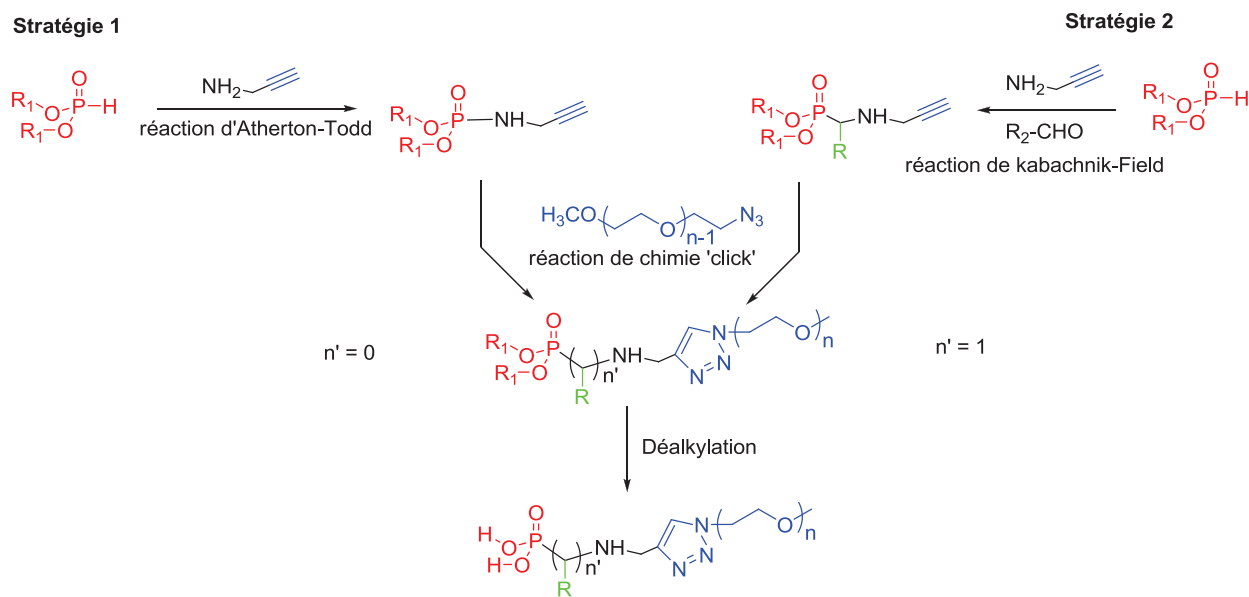


Schéma 3. Stratégie générale de la synthèse de POEs à extrémité acide phosphonique.

La réactivité du cycle furane des POEs à extrémité acide phosphonique vis-à-vis de la réaction de Diels-Alder puis de rétro Diels-Alder a tout d'abord été étudiée en solution avec des molécules dérivées du maléimide.

Les POEs à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane ont ensuite été ancrés selon la stratégie '*grafting onto*' sur des nanoparticules d'oxyde de fer. Après la caractérisation des nanoparticules nues et des nanoparticules greffées, l'aptitude des nanoparticules greffées à ancrer puis à libérer des molécules à fonctionnalité maléimide selon une réaction de (rétro) Diels-Alder a été étudiée.

Avant de développer ces différents points, le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique concernant la synthèse et la stabilisation et/ou la fonctionnalisation des nanoparticules d'oxyde de fer.

⁷ Lalatonne, Y.; Paris, C.; Serfaty, J. M.; Weinmann, P.; Lecouvey, M.; Motte, L. *Chem. Commun.* **2008**, 22, 2553-2555.

CHAPITRE I

Etude Bibliographique

Introduction

La recherche concernant les nanoparticules magnétiques a connu un essor considérable lors de la dernière décennie non seulement du point de vue fondamental mais également pour des applications (bio)technologiques¹ telles que le stockage d'informations sur bandes magnétiques,^{2,3,4} les encres magnétiques,⁵ la bio-détection.⁶ Néanmoins, c'est dans le domaine de la nanomédecine^{7,8} que l'apport des nanoparticules magnétiques, en raison de leur taille permettant de traverser la barrière cellulaire,⁹ suscite le plus d'engouement en vue de les utiliser pour la vectorisation^{10,11,12} et de la détection de maladies.¹³

Parmi les nanoparticules magnétiques, un intérêt particulier a été porté aux nanoparticules d'oxyde de fer qui peuvent être utilisées *in vivo*. En effet, elles sont considérées biocompatibles^{14,15} car l'oxyde de fer se dissout en milieu acide.¹⁶ La quantité d'ions Fe³⁺ formée et libérée dans le corps humain est inférieure au seuil de tolérance^{17,18} (3-5 g de fer pour un adulte) et leur utilisation a été approuvée par la Food and Drug Administration (FDA) en tant qu'agents de contraste en imagerie par résonance magnétique (IRM).^{19,20,21,22,23} Des agents de contraste commerciaux sont disponibles depuis une vingtaine d'années.²⁴

Pour être utilisées *in vivo*, les nanoparticules d'oxyde de fer doivent présenter une magnétisation élevée, une taille inférieure à 100 nm, une distribution de tailles étroite et se disperser en milieu aqueux et en milieu salin physiologique. Il est donc nécessaire de recouvrir les nanoparticules d'oxyde de fer avec des molécules organiques de type : molécule de faible masse molaire, tensioactif, polymère ou biomolécule.⁸ Ce recouvrement permet, de plus, de s'affranchir des phénomènes d'oxydation et de réactivité chimique de la nanoparticule d'oxyde de fer. En général, la molécule stabilise non seulement les nanoparticules d'oxyde de fer *via* un groupement fonctionnel mais elle peut également posséder d'autres groupements qui apportent une (ou des) propriété(s) spécifique(s) ou qui peuvent être utilisés pour une fonctionnalisation ultérieure.

L'utilisation de polymères pour stabiliser des nanoparticules d'oxyde de fer dans l'eau ou des solutions tampons semble particulièrement adaptée car ils peuvent être multifonctionnels par leur structure constituée de nombreuses unités de répétition sur chacune desquelles un ligand fonctionnel peut être introduit, qui, de plus, peut être différent dans les structures de type copolymère.²⁵ Alors que les petites molécules organiques doivent présenter une très forte affinité avec la surface des nanoparticules pour permettre leur stabilisation, le nombre de groupes fonctionnels sur une chaîne polymère permet l'utilisation de ligands moins efficaces.²⁶

L'épaisseur de la couche stabilisante, ainsi que l'accessibilité de la surface de la nanoparticule, peut être contrôlée par l'ajustement de la taille du polymère.²⁷ Enfin, la possibilité de réticulation entre des chaînes de polymère conduit à former une structure rigide à la surface des nanoparticules magnétiques.²⁸

Le développement de techniques de polymérisation radicalaires par désactivation réversible (RDRP) comme la polymérisation par transfert de chaîne réversible par addition/fragmentation (RAFT), la polymérisation radicalaire par transfert d'atome (ATRP), la polymérisation contrôlée par les nitroxydes (NMP), ainsi que de polymérisation par ouverture de cycle (ROP et ROMP : polymérisation par ouverture de cycle par métathèse) associée à la chimie "click" a permis le design de nouvelles structures polymères présentant à la fois une fonctionnalité nécessaire à l'ancrage du polymère sur la nanoparticule magnétique ainsi que d'autres fonctionnalités orthogonales permettant d'apporter de nouvelles propriétés à ces nanoparticules (Schéma I-1) pour des applications biomédicales notamment.²⁹

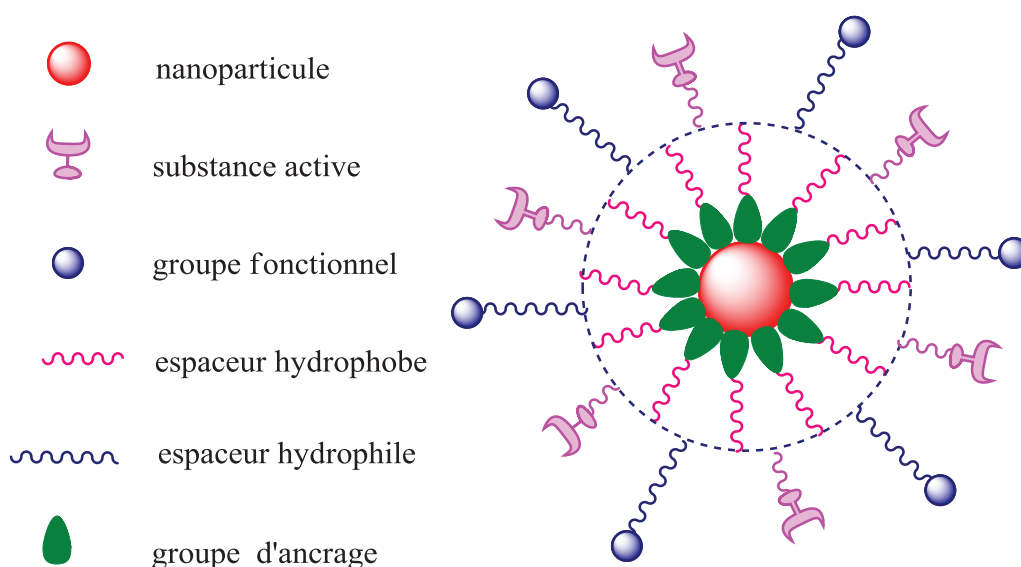


Schéma I-1. Représentation schématique d'une nanoparticule magnétique stabilisée et fonctionnalisée par un polymère multifonctionnel.

Après une présentation des différentes techniques de synthèse des nanoparticules d'oxyde de fer, ce chapitre bibliographique va être consacré aux différentes méthodes de stabilisation de ces nanoparticules par des polymères ainsi qu'aux développements récents concernant l'obtention de nanoparticules d'oxyde de fer stabilisées par des polymères présentant des fonctionnalités orthogonales.

I- Méthodes de synthèse des nanoparticules magnétiques

Parmi les nombreuses méthodes chimiques qui peuvent être utilisées pour synthétiser des nanoparticules d'oxyde de fer, la coprécipitation,⁷ la synthèse hydrothermale,³⁰ la synthèse en micelles inverses³¹ et la décomposition thermique et/ou réduction³² constituent les méthodes les plus utilisées actuellement. La synthèse de nanoparticules d'oxyde de fer est un procédé complexe en raison de leur nature colloïdale. Il est donc nécessaire de définir les conditions expérimentales permettant d'accéder à une population monodisperse de grains magnétiques de taille adaptée (1-100 nm).^{33,34,35}

I-1. La coprécipitation

La coprécipitation est la technique chimique la plus simple et la plus efficace pour obtenir des particules magnétiques. Elle consiste à mélanger des ions ferreux Fe^{2+} et ferriques Fe^{3+} (de type chlorure, sulfate, nitrate) en proportions molaires 2:1 dans une solution fortement basique à température ambiante ou élevée (Schéma I-2).^{36,37}



Schéma I-2. Réaction chimique de formation de Fe_3O_4 .

La taille, la forme et la composition des nanoparticules magnétiques dépendent beaucoup des sels utilisés, du rapport $\text{Fe}^{2+}:\text{Fe}^{3+}$, de la température de réaction, et du pH.⁷ Les nanoparticules de magnétite (Fe_3O_4) ne sont pas très stables et sont sensibles à l'oxydation. La magnétite est transformée en maghémite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) en présence d'oxygène (Schéma I-3).



Schéma I-3. Réaction chimique de transformation de Fe_3O_4 en $\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$.

Une meilleure dispersibilité dans l'eau peut être obtenue par l'acidification de la surface des nanoparticules avec l'acide nitrique, ou par addition d'ions tartrate, permettant une stabilisation des nanoparticules d'oxyde de fer en milieu acide et basique pendant une longue durée.³⁸

L'avantage majeur de cette méthode est sa simplicité, son faible coût, la possibilité de produire de grandes quantités de nanoparticules.³³ Par contre, cette méthode souffre d'un manque de contrôle de la distribution de la taille des nanoparticules. Il est possible d'améliorer ce contrôle

par ajout de stabilisants organiques tels que la poly(vinylpyrrolidone) ou le poly(alcool vinylique) ou de sels organiques tels que le citrate ou le tartrate de sodium. Néanmoins, l'acide oléique est actuellement la molécule la plus utilisée pour stabiliser les nanoparticules magnétiques.^{39,40}

I-2. La synthèse hydrothermale

De nombreux auteurs ont rapporté la synthèse de nanoparticules d'oxyde de fer par la méthode hydrothermale.^{41,42,43,44,45,46} La synthèse est réalisée en milieu aqueux dans des réacteurs ou autoclaves où la pression peut atteindre 0,3 - 4 MPa à des températures élevées (130 - 250°C). Cette synthèse peut être réalisée en présence de tensioactifs. Par rapport aux autres techniques, elle permet d'accéder à des nanoparticules d'oxyde de fer hautement cristallines. En 2003, Wang *et al.*⁴⁷ ont rapporté la synthèse hydrothermale en absence de tensioactifs en une seule étape de nanoparticules de Fe₃O₄ de cristallinité élevée. Les nanoparticules de Fe₃O₄ obtenues à 140°C pendant 6 h ont un diamètre de 40 nm et possèdent une magnétisation de saturation de 85,8 emu.g⁻¹ (magnétisation de saturation de Fe₃O₄ massique de 92 emu.g⁻¹). Pour leur part, Zheng *et al.*⁴⁸ ont utilisé la voie hydrothermale en présence d'un tensioactif, le 1,4-bis(2-éthylhexoxy)-1,4-dioxobutane-2-sulfonate de sodium, pour préparer des nanoparticules de Fe₃O₄ de diamètre 27 nm et présentant un comportement superparamagnétique à température ambiante. Dans ce procédé, les conditions de réaction, comme le solvant, la température et le temps de réaction ont un effet important sur la taille des nanoparticules.⁴¹ Ainsi, la taille des particules de Fe₃O₄ augmente avec le temps de réaction et la présence d'une quantité importante d'eau favorise la précipitation des particules de Fe₃O₄ présentant les diamètres les plus élevés. Cette technique permet, en outre, de synthétiser des nanostructures d'oxyde de fer originales comme les nanotubes ou les sphères creuses d'oxyde de fer.⁴⁹

I-3. La synthèse en microémulsion inverse

Une autre stratégie utilisée pour la synthèse de nanoparticules magnétiques consiste à utiliser des micelles en tant que "nanoréacteurs" dans des microémulsions inverses. La microémulsion est une dispersion isotropique thermodynamiquement stable de deux phases non miscibles (l'eau et l'huile) où chaque microdomaine est stabilisé par une monocouche de tensioactif.³³ Le système est constitué de nanogouttelettes aqueuses de taille définie dispersées par des molécules tensioactives dans une phase organique continue.⁵⁰ Les molécules

tensioactives les plus utilisées actuellement sont le 1,4-bis(2-éthylhexoxy)-1,4-dioxobutane-2-sulfonate de sodium^{51,52,7}, le dodécylsulfate de sodium⁵³ et le bromure de cetyltriméthylammonium.⁵⁴ Chin *et al.*⁵⁵ ont ainsi synthétisé des nanoparticules d'oxyde de fer de petite taille (moins de 10 nm) en microémulsion inverse en utilisant le bromure d'hexadécyltriméthylammonium comme tensioactif. Les particules obtenues présentent une magnétisation élevée.

Le principal avantage de cette technique est de pouvoir contrôler la taille des nanoparticules à partir de la taille des gouttelettes aqueuses. Ainsi, la variation de la température de réaction permet de moduler la taille des nanoparticules d'oxyde de fer de 3 à 12 nm. De même, les concentrations en métal et en base peuvent être modulées pour faire varier la taille des nanoparticules. Cependant, malgré la présence de tensioactifs, les nanoparticules ont tendance à s'agréger, ce qui nécessite un traitement qui consiste en des lavages successifs et en une stabilisation supplémentaire.⁴⁹

I-4. La décomposition thermique

Cette technique constitue la voie la plus efficace pour la synthèse reproductible de nanoparticules hautement cristallines avec une distribution de taille étroite. La synthèse est réalisée par décomposition d'un complexe métallique à température élevée.^{28,56} Cette méthode exige d'utiliser un complexe métallique et un tensioactif en présence d'un solvant organique de température d'ébullition élevée. La synthèse reproductible de nanoparticules magnétiques peut facilement être obtenue par un strict contrôle des conditions de réaction telles que la température, la vitesse de chauffage, le temps de réaction, les concentrations des précurseurs et des stabilisants.²⁸ Lors de la synthèse, les précurseurs sont, soit chauffés directement, soit additionnés par un processus d'injection à chaud.⁵⁷ Dans le processus d'injection à chaud, le complexe métallique est rapidement introduit dans une solution chaude en présence de stabilisants pour former des nuclei qui vont ensuite croître. Dans l'autre processus, tous les précurseurs sont mélangés et chauffés et des nanoparticules magnétiques sont formées par ajustement de la température de réaction et de la concentration en précurseurs. L'acide oléique et l'oléylamine sont communément utilisés pour stabiliser, contrôler la taille et la morphologie des nanoparticules magnétiques. Les précurseurs métalliques sont généralement : $\text{Fe}(\text{CO})_5$, $\text{Fe}(\text{oléate})_3$ (oléate : $\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{COO}^-$), $\text{Fe}(\text{acac})_3$ (acac : acétylacétonate), $\text{Fe}(\text{cup})_3$ (cup : $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}(\text{NO})\text{O}^-$). Ainsi, Hyeon *et al.*³² ont rapporté la synthèse de nanoparticules hautement cristallines et monodisperses directement par décomposition thermique de $\text{Fe}(\text{CO})_5$ en présence

d'acide oléique à 100°C. Les nanoparticules ont ensuite été transformées en nanocristallites de $\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$ monodisperses par oxydation contrôlée en utilisant l'oxyde de triméthylamine comme oxydant doux. La taille des particules peut être modulée de 4 à 16 nm par le contrôle des paramètres expérimentaux.

Bien que la décomposition thermique permette d'accéder à des nanoparticules d'oxyde de fer de distribution en taille étroite, elle présente le désavantage de produire des nanoparticules généralement exclusivement solubles dans les solvants non polaires.⁴⁹

II- Stabilisation de la surface des nanoparticules magnétiques

La stabilisation de la surface des nanoparticules magnétiques est indispensable pour conserver leur stabilité dans le temps afin d'éviter leur agrégation⁵⁸ et leur précipitation. Les nanoparticules magnétiques synthétisées doivent également conserver leurs propriétés magnétiques. Il est donc nécessaire de développer des stratégies efficaces pour améliorer la stabilité chimique des nanoparticules magnétiques.

II-1. Phénomènes intervenant lors de la stabilisation

La stabilisation des particules d'oxyde de fer est indispensable pour obtenir les ferrofluides qui ne s'agrègent pas lorsqu'elles sont soumises à un champ magnétique ou utilisées en milieu biologique. La stabilisation de la suspension colloïdale magnétique est réalisée par ajout d'une (macro)molécule organique *via* un groupement fonctionnel présentant une affinité avec la nanoparticule magnétique et dépend essentiellement de deux forces répulsives : la répulsion électrostatique et la répulsion stérique (Schéma I-4).⁵⁹

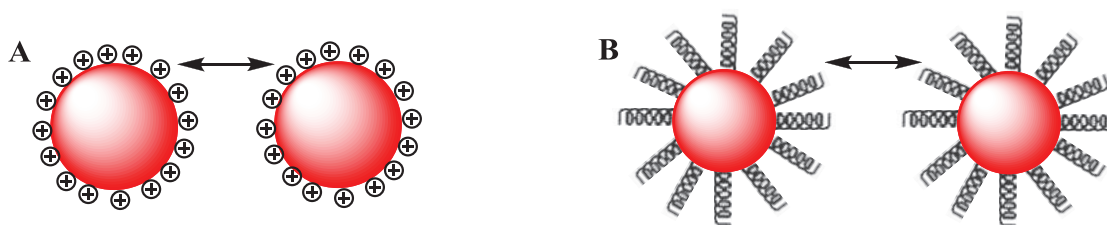


Schéma I-4. Stabilisation des particules par (A) une couche électrostatique ; (B) répulsion stérique.

Le contrôle de l'intensité de ces forces est un paramètre clé pour élaborer des particules de bonne stabilité. La répulsion stérique est difficile à prévoir et à quantifier car elle dépend des paramètres liés à la molécule utilisée lors de la stabilisation. Ainsi, dans le cas de l'utilisation d'un stabilisant polymère, la répulsion stérique sera influencée par sa masse molaire et son indice de polymolécularité.^{60,61} La répulsion électrostatique peut, elle, être suivie par la diffusion potentielle, qui est très proche du potentiel zêta (ξ), et la longueur de Debye-Huckel qui dépend principalement de la force ionique et du pH de la solution.^{62,63} Le suivi cinétique de l'agrégation des suspensions colloïdales en fonction de la concentration en sel constitue une approche pour tester la stabilité électrostatique.^{64,65} Dans l'oxyde de fer, la surface des atomes de fer agit comme un acide de Lewis et se coordonne avec des molécules qui possèdent un doublet d'électrons libre. En solution aqueuse, l'atome de fer se coordonne donc avec l'eau, conduisant à l'existence de groupes hydroxyle -OH à la surface de l'oxyde de fer. Ces groupes hydroxyle sont amphotères, et peuvent donc réagir aussi bien avec des bases qu'avec des acides.⁶⁶ La surface des nanoparticules magnétiques sera positive ou négative en fonction du pH de la solution. Les stabilisations électrostatique et stérique sont toutes les deux indispensables pour obtenir des nanoparticules d'oxyde de fer stables dans le temps.

La stabilisation des nanoparticules est particulièrement indispensable pour leur utilisation dans le domaine médical. La stabilisation de leur surface peut être réalisée par des ligands fonctionnalisés de type moléculaire ou macromoléculaire. Le choix du ligand est particulièrement important car il régit la taille et la forme des nanoparticules stabilisées, ainsi que l'espacement entre nanoparticules. Il agit à la fois au niveau de l'interface : surface de la nanoparticule nue-ligand et de l'interface : nanoparticule stabilisée-environnement (Schéma I-5).

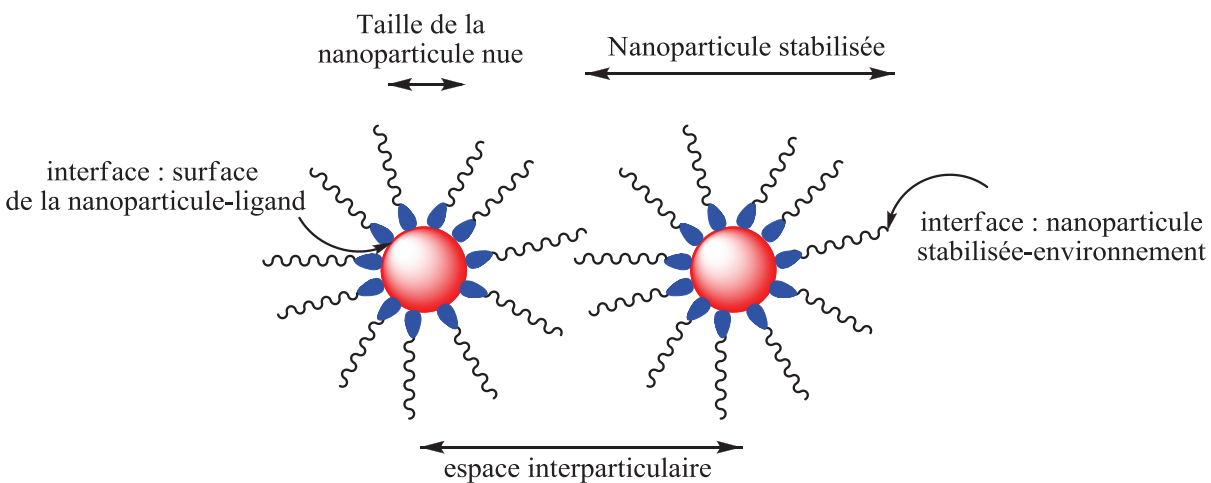


Schéma I-5. Interactions des ligands avec la surface des nanoparticules et leur environnement.

En général, si les nanoparticules d'oxyde de fer sont considérées comme un cœur, les nanoparticules d'oxyde de fer stabilisées par des molécules organiques peuvent présenter les trois structures suivantes : cœur-coquille (Schéma I-6A), matrice (Schéma I-6B) et coquille_a-cœur-coquille_b (Schéma I-6C). Dans ces structures, les cœurs peuvent être constitués de particules d'oxyde de fer comme la magnétite (Fe₃O₄) ou la maghémite (γ-Fe₂O₃). Les coquilles sont des matériaux organiques. La matrice (Schéma I-6B) consiste soit en une coquille de molécules organiques où sont dispersées des nanoparticules d'oxyde de fer appelée mosaïque, soit en une structure de type coquille-cœur qui contient un cœur constitué de composés organiques et une coquille de particules d'oxyde de fer. Dans la structure coquille_a-cœur-coquille_b (Schéma I-6C), une coquille_b de molécules organiques se greffe aux nanoparticules d'oxyde de fer de type coquille_a-cœur. La coquille_a peut être constituée de polymères ou de biomolécules ainsi que la coquille_b.

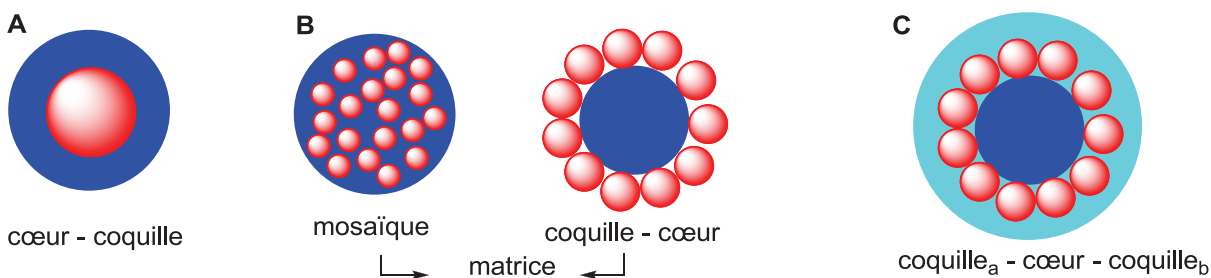


Schéma I-6. Représentation des différentes structures des nanoparticules d'oxyde de fer stabilisées et fonctionnalisées par des matériaux organiques.

L'obtention d'une dispersion colloïdale stable dépend non seulement de la nature du ligand (macro)moléculaire présentant une affinité avec la surface des nanoparticules mais également de la longueur de la chaîne et de la nature du solvant.⁶⁷ La stabilisation par un ligand permet, en outre, d'éviter l'oxydation de la surface des nanoparticules d'oxyde de fer ainsi que leur agglomération.

II-2. Stabilisation par des molécules organiques

D'après le concept des acides et des bases mous et durs de Pearson, les atomes de fer à la surface de l'oxyde de fer sont des acides de Lewis qui vont se coordonner avec des molécules qui peuvent céder un doublet d'électrons comme les ligands oxygénés.^{68,69} Ainsi, pour atteindre la stabilité colloïdale, les molécules qui contiennent des groupements tels que des fonctions

catéchol,⁷⁰ silane,⁷¹ acide hydroxamique,⁷² carboxylate⁷³ et phosphonate⁷⁴ ont été utilisées (Schéma I-7).

Les groupements catéchol ont été largement utilisés pour stabiliser les nanoparticules d'oxyde de fer car ils peuvent facilement être introduits comme groupement fonctionnel d'extrémité de chaîne peptidique.⁷⁵ Cependant, Carpenter *et al.* ont montré que la liaison formée entre les groupements catéchol et la surface des nanoparticules d'oxyde de fer n'est pas durablement stable dans l'eau et les milieux biologiques.⁷⁶

La stabilisation des nanoparticules d'oxyde de fer a également été réalisée par l'ancrage de dérivés du silane présentant des groupes hydroxyle. Le silane est lié à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer par des liaisons covalentes de type Si-O-Fe (Schéma I-7).¹³ La fonctionnalisation des nanoparticules d'oxyde de fer par des dérivés du silane est très utilisée car de nombreux silanes fonctionnels présentant des fonctions de type alcool, amine, et thiol sont disponibles commercialement, qui peuvent s'avérer utiles pour une utilisation ultérieure, de bio-fonctionnalisation, par exemple.^{77,78}

La stabilisation par des molécules fonctionnalisées par un groupement acide hydroxamique a été utilisée pour l'ancrage des (bio)molécules organiques à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer^{74,79,80} car cette fonction peut former un chélate particulièrement stable pentacoordiné avec la surface de la nanoparticule d'oxyde de fer.

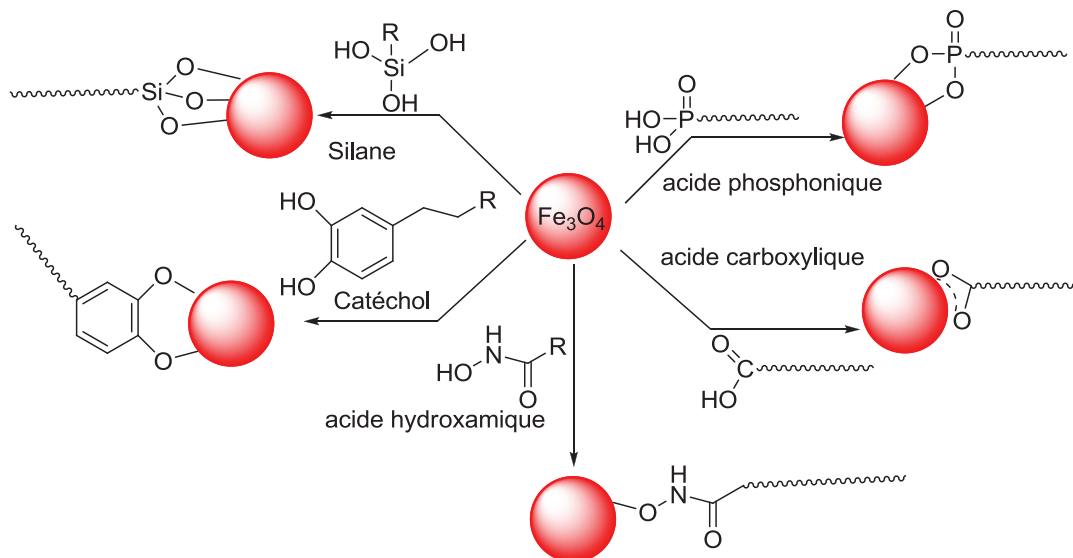


Schéma I-7. Nature des ligands permettant la stabilisation des nanoparticules d'oxyde de fer.

Néanmoins les travaux les plus importants ont concerné la stabilisation de nanoparticules d'oxyde de fer par des molécules à fonctionnalité acide carboxylique comme l'acide oléique,^{81,82,83,84} l'acide dodécanoïque⁸⁵ et l'acide lactobionique⁸⁶ et par des molécules à fonctionnalité acide phosphonique^{87,88,89} comme l'acide dodécylphosphonique et l'acide hexadécylphosphonique.

II-2.1. Ligands carboxylates

Les molécules fonctionnalisées par un groupement acide carboxylique les plus utilisées pour stabiliser des nanoparticules d'oxyde de fer, lors du processus de synthèse des nanoparticules, sont l'acide oléique et l'acide laurique. Cependant, la liaison qui s'établit entre le groupement acide carboxylique et la surface des nanoparticules d'oxyde de fer est labile et peut être facilement rompue par l'augmentation de température ou par un échange avec une autre molécule fonctionnalisée par un acide carboxylique.⁸ Cette aptitude à l'échange constitue d'ailleurs une méthode très utilisée pour synthétiser des nanoparticules stabilisées avec des (macro)molécules originales à partir de nanoparticules précédemment synthétisées et stabilisées par l'acide oléique. D'autres molécules fonctionnalisées par des groupements acide carboxylique ont été utilisées pour stabiliser les nanoparticules d'oxyde de fer telles que l'acide citrique,⁶⁷ l'acide gluconique,⁹⁰ l'acide dimercaptosuccinique⁹¹ ou des acides gras saturés.⁹²

Néanmoins, des études récentes démontrent que l'acide oléique est particulièrement adapté pour stabiliser des nanoparticules d'oxyde de fer.⁵¹ En 2005, l'équipe de O'Brien⁴⁰ a effectué la stabilisation des nanoparticules de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ par l'acide oléique *in situ* pendant la synthèse des particules à partir de $\text{Fe}(\text{CO})_5$ (Schéma I-8). La présence de l'oléate à la surface des nanoparticules conduit à des nanoparticules sphériques monodisperses, contrairement à ce qui a été observé pour d'autres ligands.

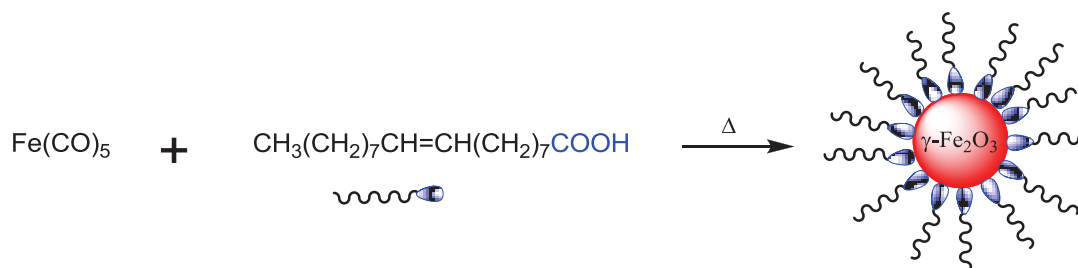


Schéma I-8. Stabilisation par l'acide oléique lors la synthèse des nanoparticules de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$.⁴⁰

De même, une étude a été réalisée sur l'influence de la longueur et de la nature de la chaîne alkyle du tensioactif sur l'aptitude à la stabilisation des nanoparticules d'oxyde de fer. Ainsi, il a été démontré que l'acide oléique permettait une stabilisation plus efficace que des acides à chaîne alkyle plus courte. En effet, le groupe acide carboxylique de l'acide oléique^{93,94} est fortement lié à la surface des nanoparticules magnétiques par une liaison de coordination tandis que la longueur de la chaîne alkyle de ces molécules crée une couche inerte. De plus, l'acide oléique s'est montré plus efficace que l'acide stéarique en raison de la présence d'une double liaison de configuration (Z) sur le carbone 9 de la chaîne hydrophobe de l'acide oléique qui conduit, d'après les auteurs, à la formation de 'nœuds'. Ces 'nœuds' ont été jugés indispensables à la stabilisation des particules.⁹⁵

II-2.2. Ligands phosphonates

Le groupement acide phosphonique a également montré qu'il possède une forte affinité avec la surface des nanoparticules d'oxyde de fer. Ces liaisons sont plus stables que celles obtenues par stabilisation avec des groupements acide carboxylique et sont capables de stabiliser des nanoparticules pendant plusieurs semaines à pH neutre. De plus, l'acide phosphonique permet une plus grande densité de greffage que le groupe acide carboxylique.⁸² Enfin, les ligands phosphonate et phosphate présentent une biocompatibilité acceptable permettant leur utilisation pour l'encapsulation des nanoparticules magnétiques à visée thérapeutique.⁸⁹

Bien que de nombreux travaux aient été menés pour étudier la nature des interactions entre les groupements phosphonate et la surface des nanoparticules d'hydr(oxyde) de fer, ce mécanisme n'est, à l'heure actuelle, pas clairement établi. Yee *et al.*⁹⁶ ont proposé que un ou deux atomes d'oxygène de l'anion phosphonate sont liés directement à un ou deux atomes de fer, respectivement (Schéma I-9A). Les complexes mono- et bidentate à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer ont pu être identifiés par des mesures du potentiel zêta, par des mesures d'absorption ainsi que par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR).^{97,98} Par contre, selon l'équipe de Mohapatra,⁹⁹ les trois atomes d'oxygène dans l'acide phosphonique ne peuvent plus être différenciés après la formation des interactions avec la surface des nanoparticules d'oxyde de fer, c'est-à-dire que tous les oxygènes phosphoryle ont été coordonnés à la surface des particules, ce qui entraîne une délocalisation des électrons et la formation d'un complexe tridentate à la surface des nanoparticules de magnétite (Schéma I-9B).

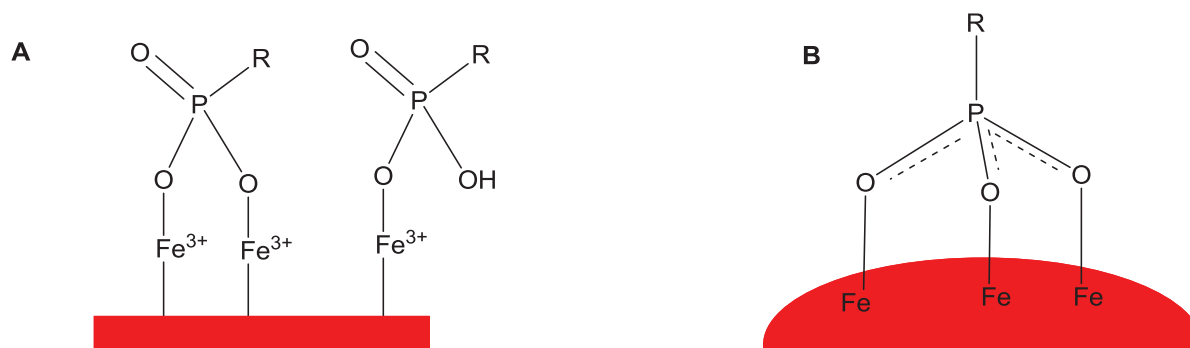


Schéma I-9. Propositions de natures d'interaction entre les groupements phosphonate et la surface des nanoparticules d'oxyde de fer.

Sahoo *et al.*¹⁰⁰ ont étudié l'efficacité du recouvrement de la surface des nanoparticules magnétiques avec un diamètre moyen de 6 - 8 nm en fonction de la nature du ligand à fonctionnalité acide carboxylique (acide oléique et acide laurique), acide phosphonique (acide dodécylphosphonique, acide hexadécylphosphonique) ou phosphate (dihexadécylphosphate). Cette étude démontre que les groupements phosphonate et phosphate se lient efficacement à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer. De même, la stabilisation des nanoparticules d'oxyde de fer par le stilbène à extrémité acide phosphonique ou le stilbène à extrémité acide carboxylique a été effectuée après la synthèse des particules (Schéma I-10).^{101,102} Les résultats obtenus montrent que la propriété magnétique des nanoparticules d'oxyde de fer n'a pas été modifiée par la fonctionnalisation par ces molécules et que le greffage *via* l'agent de couplage phosphonate permet d'obtenir un plus grand taux de greffage qu'avec l'agent de couplage carboxylate.

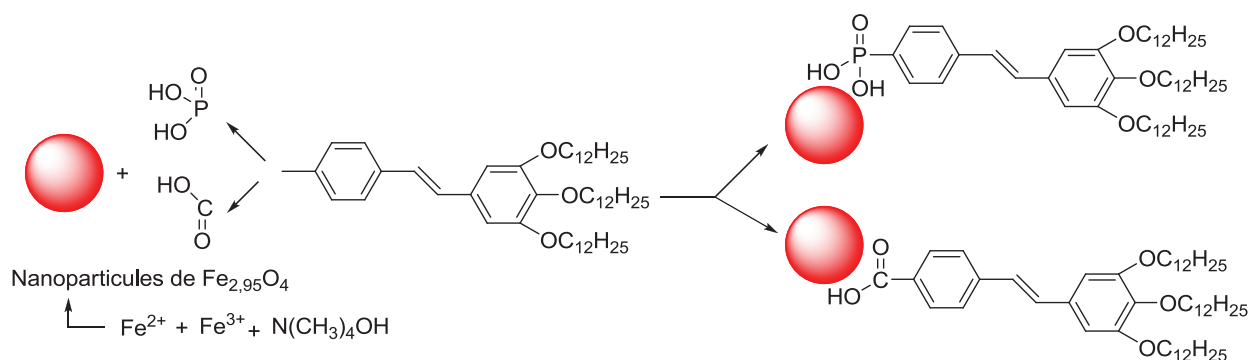


Schéma I-10. Stabilisation de la surface des nanoparticules d'oxyde de fer par le stilbène à extrémité soit acide phosphonique, soit acide carboxylique.¹⁰¹

De même, Daou *et al.*¹⁰³ ont réalisé la stabilisation des nanoparticules d'oxyde de fer de diamètres de 9 nm et 39 nm dans l'eau par un acide triéthylèneglycol phosphonique dendritique (Schéma I-11). Après greffage de l'acide triéthylèneglycol phosphonique à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer, la magnétisation de saturation des particules obtenues augmente par rapport à celle des nanoparticules *post-synthèse*, le potentiel zêta est environ de -20 mV à pH = 7 et la densité de greffage est de 0,67 molécule/nm² et de 0,88 molécule/nm² de particule pour les nanoparticules de diamètre 9 nm et 39 nm, respectivement. Les nanoparticules obtenues sont stables dans l'eau à pH physiologique.

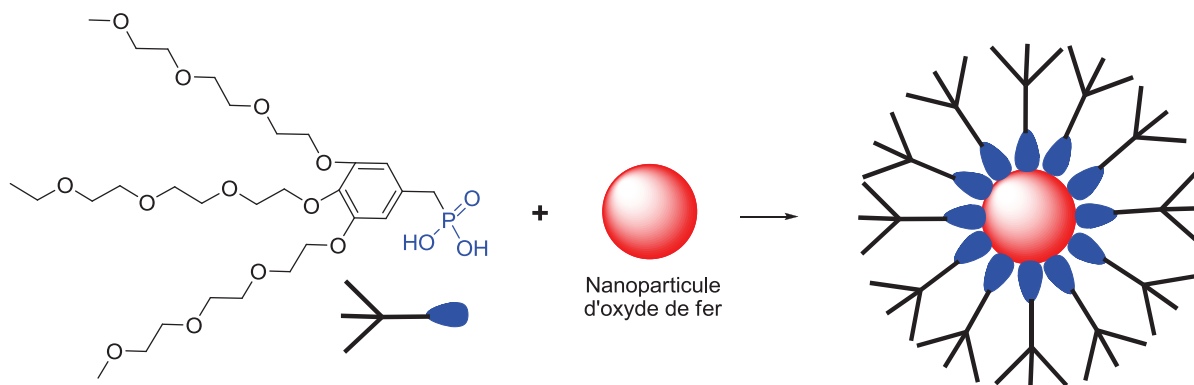


Schéma I-11. Stabilisation des nanoparticules d'oxyde de fer par l'acide triéthylèneglycol phosphonique.¹⁰³

II-3. Procédés utilisés pour la stabilisation et/ou fonctionnalisation

Trois approches ont été plus particulièrement développées pour stabiliser et/ou fonctionnaliser* les nanoparticules d'oxyde de fer qui consistent en :

- un recouvrement *post-synthèse* par ancrage des agents stabilisants à la surface des nanoparticules magnétiques nues précédemment synthétisées,
- un recouvrement *in situ* pendant la synthèse des nanoparticules magnétiques par des agents stabilisants,
- un échange de ligands à partir de nanoparticules précédemment stabilisées par des agents stabilisants.

* Dans les articles consacrés aux nanoparticules magnétiques, l'utilisation des termes 'stabilisation' et 'fonctionnalisation' lors du recouvrement des nanoparticules par un composé organique peut recouvrir plusieurs significations sans reconnaissance explicite de ces différences. En effet, les termes 'stabilisation' et 'fonctionnalisation' peuvent être indifféremment utilisés alors qu'ils peuvent décrire uniquement l'état de la stabilisation des nanoparticules au cours du temps par un composé organique ou décrire un recouvrement par un composé organique qui permet à la fois la stabilisation et la fonctionnalisation des nanoparticules.

II-3.1. Stabilisation de la surface des nanoparticules magnétiques nues

Les nanoparticules d'oxyde de fer nues ne sont pas stables et sont insolubles dans l'eau. Le greffage de stabilisants à la surface des nanoparticules nues précédemment synthétisées est donc indispensable pour éviter l'agrégation et l'oxydation. Selon la nature de la molécule choisie, celle-ci joue uniquement le rôle de stabilisant (Schéma I-12A) ou bien possède également un groupement fonctionnel susceptible d'être utilisé ultérieurement (Schéma I-12B).

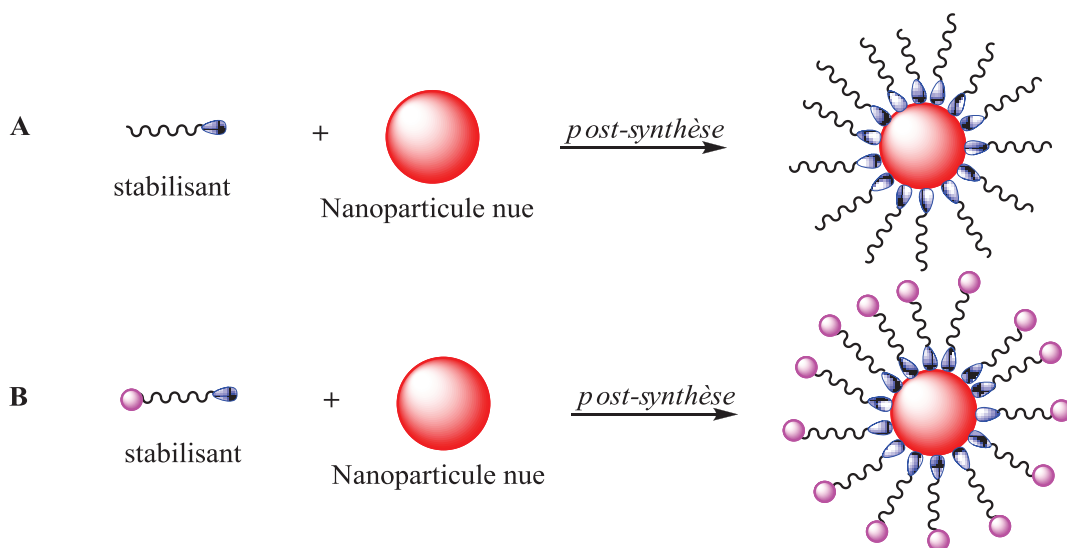


Schéma I-12. Stabilisation de la surface des nanoparticules *post-synthèse* par un stabilisant.

Mohapatra *et al.*⁹⁹ ont synthétisé des nanoparticules d'oxyde de fer à partir de sulfate ferreux (FeSO_4) et de chlorure ferrique (FeCl_3) par la méthode de coprécipitation. Ils ont ensuite effectué à la fois la stabilisation et la fonctionnalisation des nanoparticules de Fe_3O_4 *post-synthèse* par des acides alkylphosphoniques de type $\text{X}(\text{CH}_2)_n\text{PO}_3\text{H}$ avec $\text{X} = \text{COOH}$ ou NH_2 tels que l'acide phosphonoacétique, l'acide 2-carboxyéthylphosphonique, l'acide 3-aminopropylphosphonique, l'acide 4-aminophénylphosphonique, et l'acide 4-carboxyphénylphosphonique (Schéma I-13). La détermination de la surface spécifique par la méthode de Brunauer-Emmett-Teller (BET) et l'analyse de la teneur en phosphore par spectrophotométrie montrent que le recouvrement des nanoparticules d'oxyde de fer est plus élevé avec les acides phosphoniques à fonctionnalité acide carboxylique qu'avec les acides phosphoniques à fonctionnalité amine. Les nanoparticules stabilisées obtenues ont un diamètre de 12 - 18 nm et une densité de greffage de 2,9 - 6,5 molécules/nm² de particule et sont stables en phase aqueuse. Les fonctions COOH et NH_2 peuvent ensuite être utilisées pour réagir avec des biomolécules.

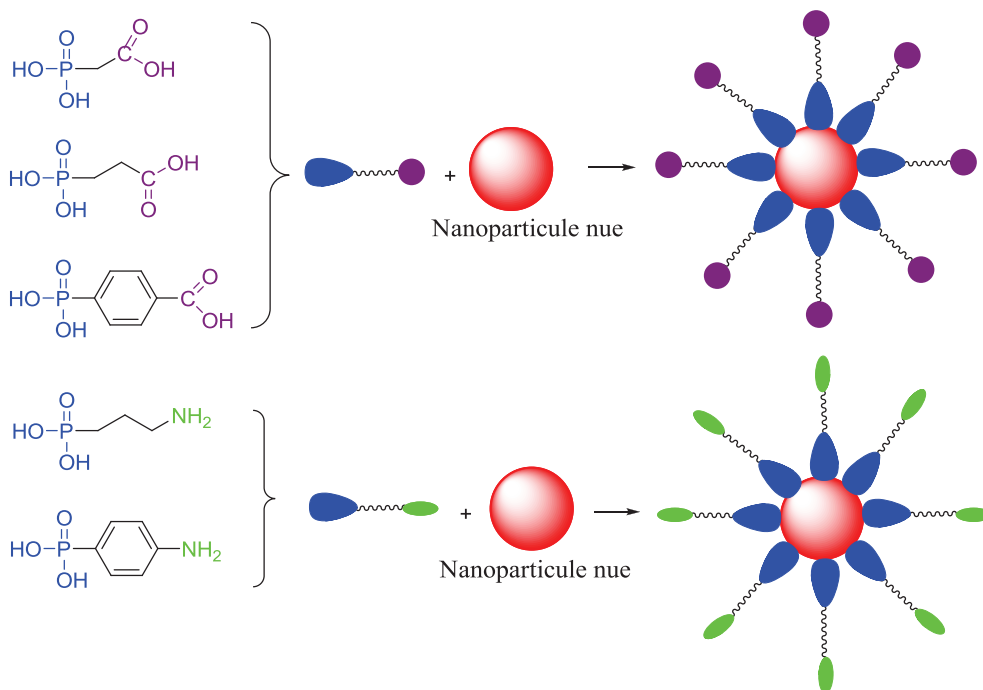


Schéma I-13. Stabilisation des nanoparticules de Fe_3O_4 nues par des acides alkylphosphoniques de type $\text{X}(\text{CH}_2)_n\text{PO}_3\text{H}$ avec $\text{X} = \text{COOH}$ ou NH_2 .⁹⁹

Tudisco *et al.*¹⁰⁴ ont utilisé la β -cyclodextrine pour fonctionnaliser la surface de nanoparticules d'oxyde de fer en deux étapes (Schéma I-14). La première étape a consisté à stabiliser des nanoparticules nues par l'acide 3-aminopropylphosphonique. Une liaison covalente a ensuite été créée par attaque nucléophile du groupement amine de l'acide 3-aminopropylphosphonique sur le tosylate de la β -cyclodextrine. Les analyses par photoémission X (XPS) et spectroscopie FT-IR montrent que l'acide phosphonique reste lié à la nanoparticule d'oxyde de fer pendant la réaction d'immobilisation de la β -cyclodextrine et que le greffage de la β -cyclodextrine n'est pas un simple processus de physisorption à la surface des particules. La taille de ces nanoparticules, mesurée dans un tampon phosphate (pH = 7,4) par diffusion dynamique de la lumière (DLS), est d'environ 20 nm et elles sont stables en milieu salin physiologique. Ces nanoparticules fonctionnalisées ont été chargées en diclofénac de sodium dans un tampon phosphate (pH = 7,4). L'aptitude à la libération de ce médicament a été étudiée et les tests ont montré que ces nanoparticules sont capables de libérer le diclofénac de sodium en 12 heures tout en conservant leurs propriétés magnétiques.

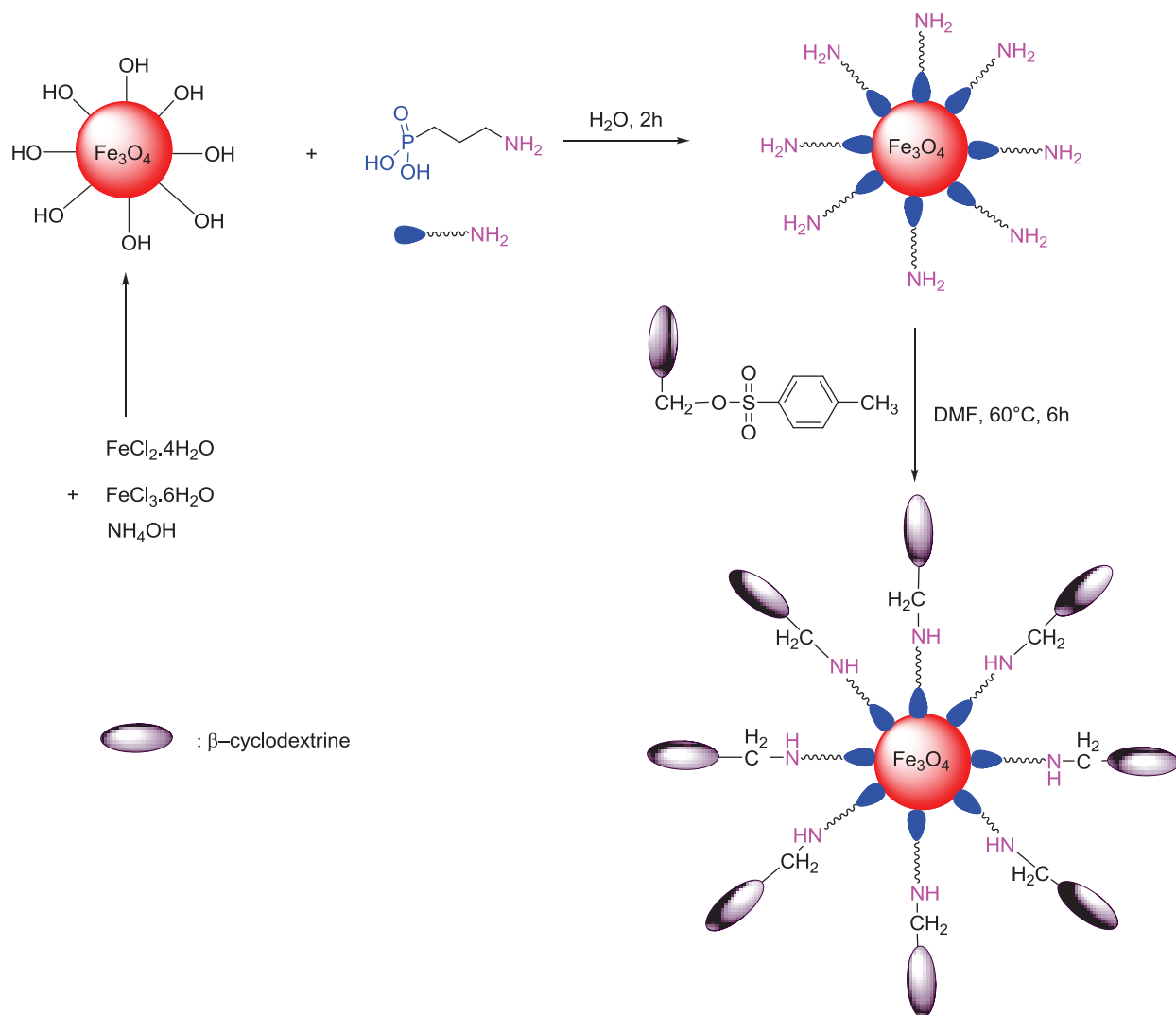


Schéma I-14. Synthèse des nanoparticules de Fe_3O_4 stabilisées par l'acide 3-aminopropylphosphonique et fonctionnalisées par la β -cyclodextrine.¹⁰⁴

La stabilisation et la fonctionnalisation de nanoparticules d'oxyde de fer par l'acide phosphonométhyliminodiacétique (PMIDA) a été effectuée (Schéma I-15).¹⁰⁵ Les nanoparticules d'oxyde de fer fonctionnalisées présentent un diamètre de 50 - 75 nm par DLS. Ces nanoparticules sont stables sans agrégation. Les fonctions acide du PMIDA ancré sur les nanoparticules ont ensuite été activées par le chlorhydrate de 1-[3-(diméthylamino)propyl]-3-éthylcarbodiimide pour permettre la conjugaison avec une enzyme, l'uréase (Schéma I-15). Le diamètre hydrodynamique des particules après immobilisation de l'uréase augmente (80 - 100 nm). L'uréase immobilisée présente une excellente activité catalytique, est recyclable 6 fois et ce, sur une importante gamme de pH.

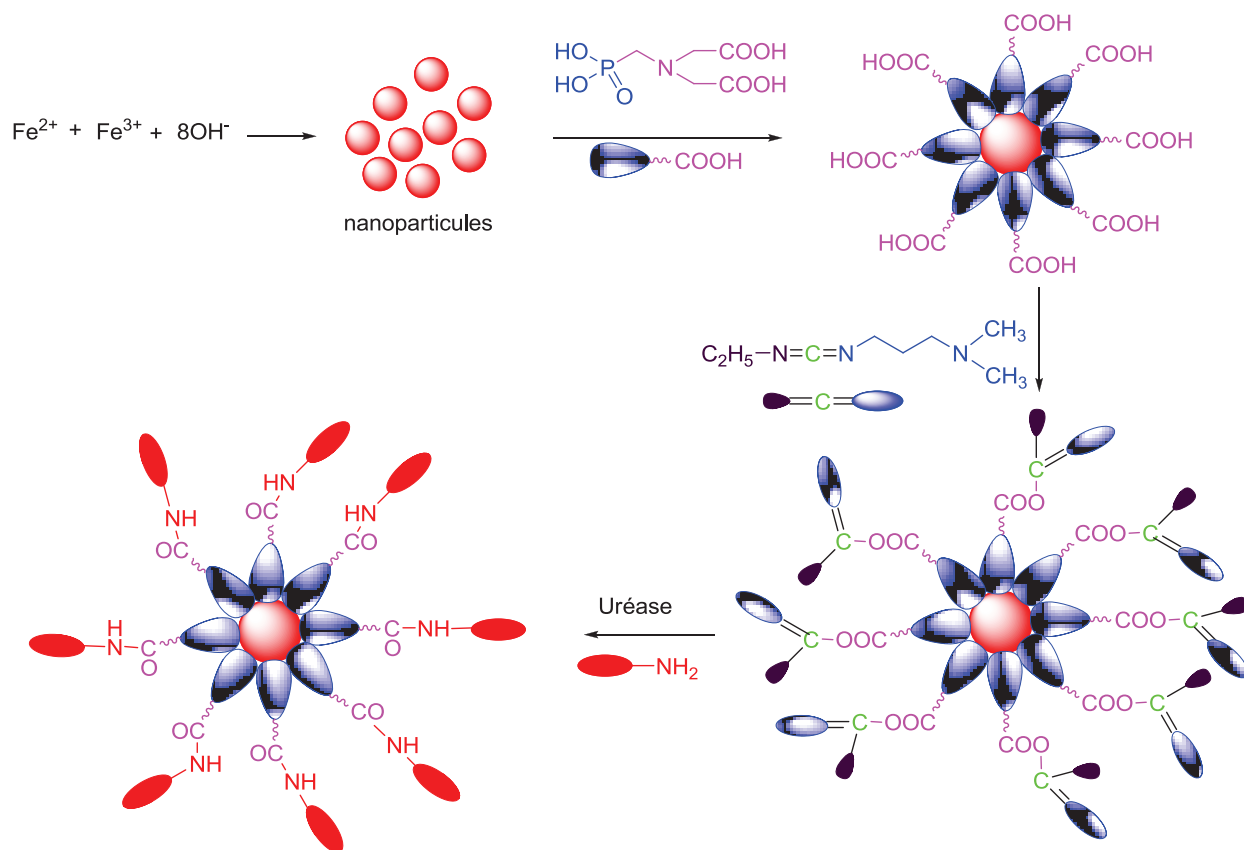


Schéma I-15. Procédure d'immobilisation de l'uréase sur des nanoparticules d'oxyde de fer stabilisées et fonctionnalisées par le PMIDA.¹⁰⁵

De même, l'équipe de Pramanik¹⁰⁶ a synthétisé des nanoparticules d'oxyde de fer multifonctionnalisées biocompatibles pour combiner une thérapie ciblée du cancer et d'imagerie multimodale en utilisant la méthode de ligation chimiosélective (Schéma I-16). Ils ont tout d'abord utilisé l'acide 2-aminoéthylphosphonique pour à la fois stabiliser des nanoparticules d'oxyde de fer et les fonctionnaliser par des groupements amine. Ces groupements amine ont ensuite été, soit directement utilisés pour ancrer la rhodamine B isothiocyanate (RITC), soit modifiés pour introduire les fonctionnalités nécessaires à l'ancrage du paclitaxel (PTX) par estérification et à l'ancrage du folate (FA) par chimie 'click'. Les nanoparticules obtenues de diamètre hydrodynamique dans l'eau de 91 ± 4 nm et de polydispersité $0,191 \pm 0,009$, déterminés par DLS, et de taille moyenne de 10 - 15 nm, déterminé par microscopie électronique en transmission (TEM), sont stables plus de 12 semaines dispersées en milieu aqueux ou en milieu salin physiologique. Ces nanoparticules ont été élaborées dans le but d'induire et de cibler sélectivement l'apoptose des récepteurs folates en surexprimant les cellules cancéreuses avec une efficacité supérieure au principe actif libre.

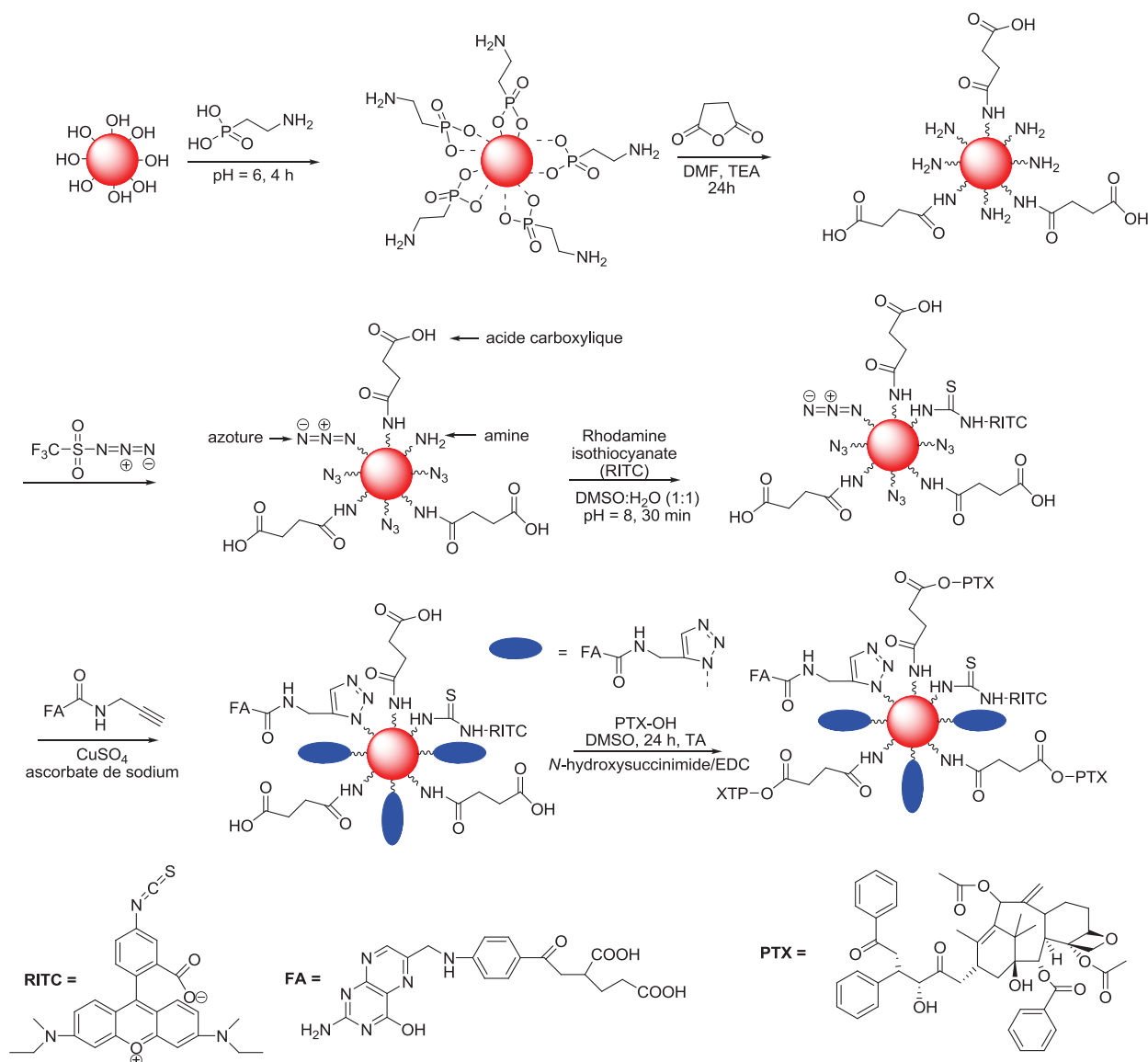


Schéma I-16. Synthèse de nanoparticules d'oxyde de fer multifonctionnalisées par des biomolécules selon la méthode de ligation chimiosélective.¹⁰⁶

II-3.2. Stabilisation de la surface des nanoparticules magnétiques *in situ*

Des composés organiques ont été utilisés pour passiver la surface des nanoparticules d'oxyde de fer *in situ* pendant la synthèse pour éviter l'agrégation et obtenir une bonne dispersion dans un liquide (Schéma I-17). Les molécules organiques les plus utilisées sont des petites molécules (acide aminé, acide citrique, cyclodextrine), des tensioactifs (acide oléique, oléamine, acide dodécylphosphonique, acide hexadécylphosphonique, et le dihexadécylphosphate), ou des polymères (dextrane, poly(oxyde d'éthylène), poly(alcool

vinyle), alginate, chitosane).⁶⁸ Les composés organiques utilisés pour stabiliser les nanoparticules d'oxyde de fer doivent permettre d'éviter leur agrégation et d'augmenter leur stabilité tout en conservant leurs propriétés magnétiques.

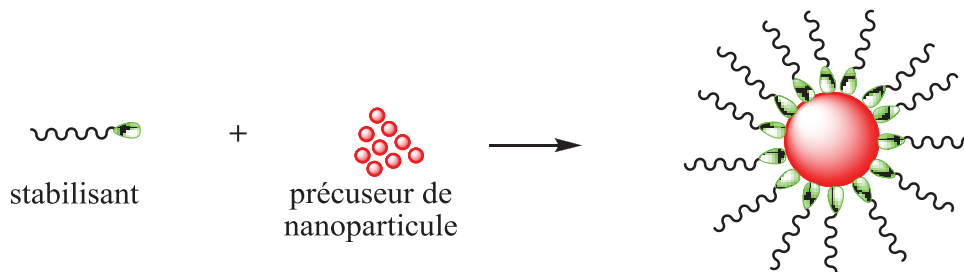


Schéma I-17. Stabilisation de la surface des nanoparticules *in situ* par un stabilisant.

II-3.3. Stabilisation de la surface des nanoparticules magnétiques par échange de ligand

Selon les procédés de synthèse utilisés, les nanoparticules magnétiques peuvent avoir été stabilisées par une couche organique lors la synthèse, conduisant à une surface hydrophobe. Il peut être nécessaire de disperser ces nanoparticules en phase aqueuse notamment en vue d'applications biologiques. L'échange de ligand est une méthode reconnue pour modifier les propriétés à la surface des nanoparticules magnétiques.⁴⁹ Elle consiste en l'addition d'un nouveau ligand en excès dans une solution de nanoparticules magnétiques pour remplacer le ligand originel sur la surface des nanoparticules (Schéma I-18). La méthode d'échange de ligand est très utilisée pour ancrer des molécules possédant, outre une fonction d'ancrage à la nanoparticule d'oxyde de fer, un (ou des) groupement(s) fonctionnel(s) aptes à réagir avec des biomolécules, par exemple.²⁸

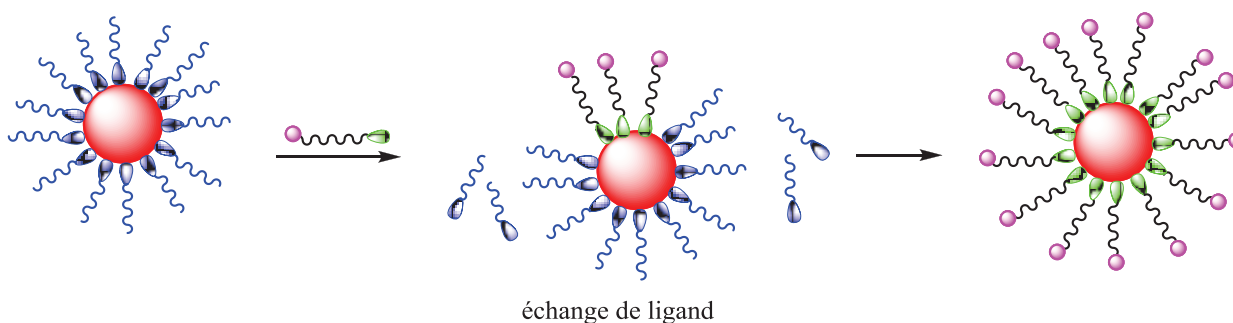


Schéma I-18. Modification de la surface des nanoparticules par la méthode d'échange de ligand.

Rotello *et al.*¹⁰⁷ ont rapporté la synthèse de nanoparticules de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ à partir du *N*-nitrosophénylhydroxylamine ferrique par la méthode de décomposition thermique en utilisant un mélange octylamine-trioctylamine pour stabiliser *in situ* les nanoparticules. Ces

nanoparticules sont solubles dans les solvants organiques non polaires tels que le chloroforme et le toluène et peuvent être précipitées immédiatement dans un solvant polaire. Les auteurs ont ensuite introduit des alcools pour remplacer la monocouche d'alkylamines des nanoparticules de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ par la méthode d'échange de ligand (Schéma I-19). Après l'échange des ligands, il a été démontré que la nature du cœur des nanoparticules de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ n'a pas été modifiée. Selon ces auteurs, cette méthode peut permettre d'introduire des molécules multifonctionnelles et avoir des applications potentielles dans le domaine biologique.

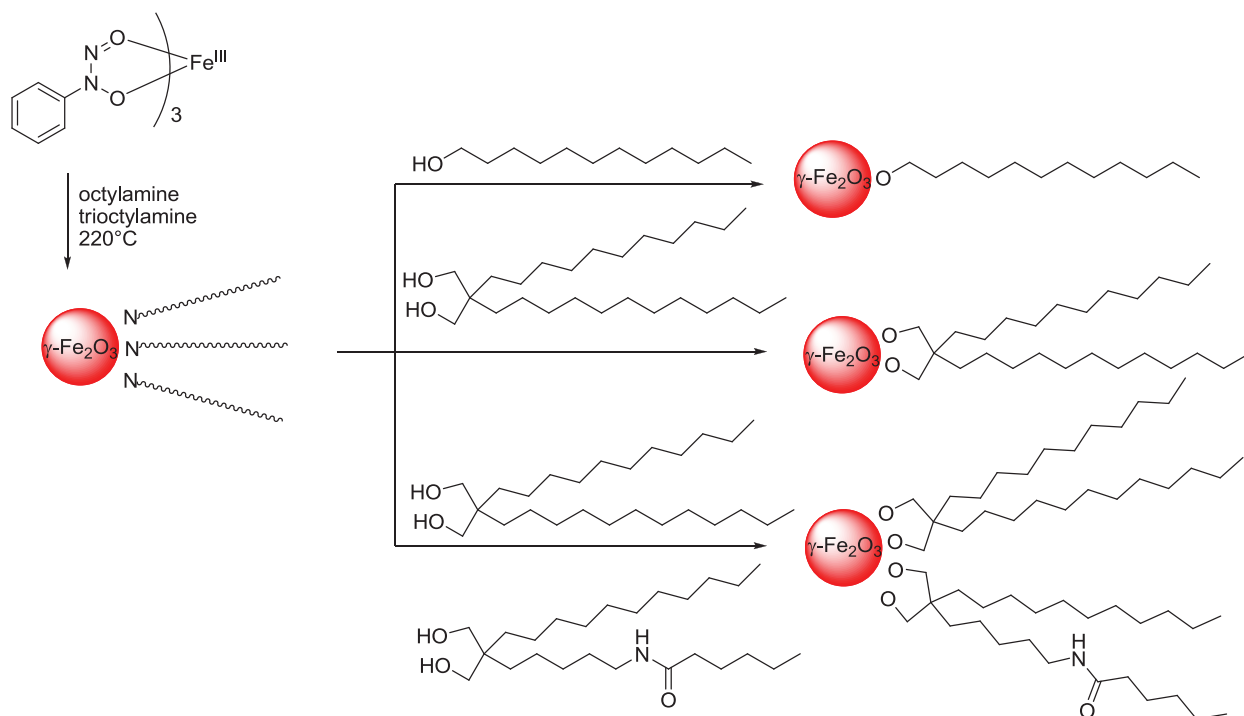


Schéma I-19. Stabilisation de nanoparticules de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ par la méthode d'échange de ligand.¹⁰⁷

Fan *et al.*¹⁰⁸ ont également synthétisé des nanoparticules de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ dispersées dans l'eau de diamètre 13 nm *via* une réaction d'échange entre l'acide oléique et les bromure et iodure de *N*-méthyl-*N'*-(5-carboxyl-pentyl)-4,4'-bipyridinium. Ces nanoparticules sont superparamagnétiques et stables sans agrégation dans la gamme de pH = 3-9.

III- Fonctionnalisation des nanoparticules magnétiques par des polymères

Récemment, la stabilisation et/ou la fonctionnalisation des nanoparticules magnétiques par des polymères a connu un intérêt croissant car le recouvrement des nanoparticules par des

polymères permet d'augmenter la force répulsive entre les nanoparticules stabilisées (Schéma I-4) et ainsi favoriser l'équilibre entre forces répulsives et les forces attractives magnétiques et de Van der Waals,⁴⁹ qui est une interaction de faible intensité entre particules, dont la description théorique est connue sous le nom de théorie de Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek.^{109,110} En effet, l'utilisation de stabilisants polymères confère une protection stérique qui a un rôle barrière contre les interactions entre les particules.¹¹¹ Le choix des polymères passivant et activant et/ou des conditions réactionnelles peut produire des nanoparticules magnétiques avec des propriétés spécifiques. De nombreux polymères naturels : l'alginate,¹¹² le dextrane,¹¹³ le chitosane,¹¹⁴ la gélatine,¹¹⁵ le pullulane,¹¹⁶ et synthétiques : poly(éthylène glycol) (PEG),¹¹⁷ poly(alcool vinylique) (PVA),¹¹⁸ polyéthylène imine (PEI),¹¹⁹ ont été étudiés (Schéma I-20).

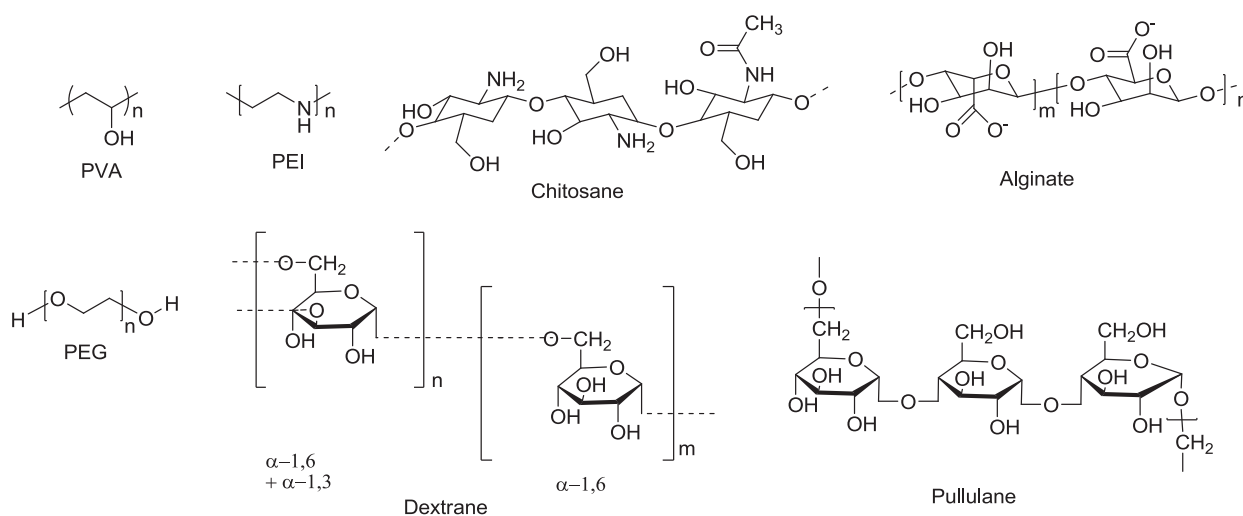


Schéma I-20. Structures des polymères les plus utilisés pour stabiliser les nanoparticules d'oxyde de fer.

Actuellement, la fonctionnalisation des nanoparticules magnétiques par des polymères est réalisée pour étendre la gamme d'applications des nanoparticules métalliques. Par exemple, Gupta *et al.*¹²⁰ ont rapporté un processus de polymérisation en microémulsion pour préparer des nanoparticules d'oxyde de fer stabilisées par le poly(éthylène glycol) (PEG) avec un cœur magnétique et une coquille hydrophile polymère. La taille moyenne des nanoparticules d'oxyde de fer stabilisées par le PEG, déterminée par TEM, est d'environ 40-50 nm avec une distribution de tailles étroite. Ces nanoparticules sont non toxiques et peuvent être utilisées *in vivo* et *in vitro*. De même, il est possible de moduler les propriétés des nanoparticules en jouant sur la masse molaire du (co)polymère, sa structure chimique, la densité de greffage et le mécanisme de greffage à la surface des particules. Enfin, l'utilisation de polymère permet d'introduire d'autres fonctionnalités pour des applications dans le domaine de la vectorisation de principes actifs.²⁸

Les méthodes de polymérisation contrôlée (RDRP, RO(M)P) ont été utilisées pour fonctionnaliser des nanoparticules magnétiques par des polymères d'architecture contrôlée afin d'accéder à des nanoparticules monodisperses de structure cœur-coquille bien définie. Ces stratégies de synthèse donnant accès à des structures polymères parfaitement définies permettent de contrôler l'épaisseur de la coquille en polymère, la taille et la distribution des nanoparticules d'oxyde de fer fonctionnalisées.⁴⁹ Par ailleurs, la protection est plus efficace en utilisant des copolymères amphiphiles qui contiennent un segment hydrophile compatible avec la phase aqueuse et un segment hydrophobe qui se lie à la surface des nanoparticules.²⁸

Il existe deux stratégies de greffage des polymères à la surface des nanoparticules magnétiques : la méthode 'grafting onto' et la méthode 'grafting from'.

III-1. La stratégie 'grafting from'

La méthode 'grafting from' consiste à ancrer, dans un premier temps, un amorceur de polymérisation ou un agent de transfert à la surface des nanoparticules et la polymérisation est ensuite conduite à partir de la surface des nanoparticules fonctionnalisées (Schéma I-21). Des polymères peuvent être synthétisés par RDRP, comme la polymérisation RAFT, l'ATRP, la NMP, par ROP et par ROMP. La méthode 'grafting from' permet d'accéder à une plus grande densité de greffage car la croissance des chaînes polymères se fait à partir de la surface des nanoparticules magnétiques.

La stabilisation et la fonctionnalisation des nanoparticules d'oxyde de fer par des polymères selon la stratégie 'grafting from' peuvent être effectuées selon trois voies :

- La voie A, qui consiste à ancrer tout d'abord un amorceur ou un agent de transfert à la surface des nanoparticules nues, puis la polymérisation est conduite à partir de la surface des nanoparticules fonctionnalisées (Schéma I-21A).
- La voie B, où l'on effectue dans un premier temps la stabilisation des nanoparticules nues par un stabilisant, puis l'amorceur ou l'agent de transfert est introduit par échange de ligand, et la polymérisation est ensuite réalisée à partir de la surface des nanoparticules fonctionnalisées (Schéma I-21B).
- La voie C, qui consiste à stabiliser des nanoparticules d'oxyde de fer nues par un stabilisant fonctionnalisé sur lequel va ensuite se greffer un amorceur ou un agent de

transfert, puis la polymérisation est effectuée à partir de la surface des nanoparticules fonctionnalisées (Schéma I-21C).

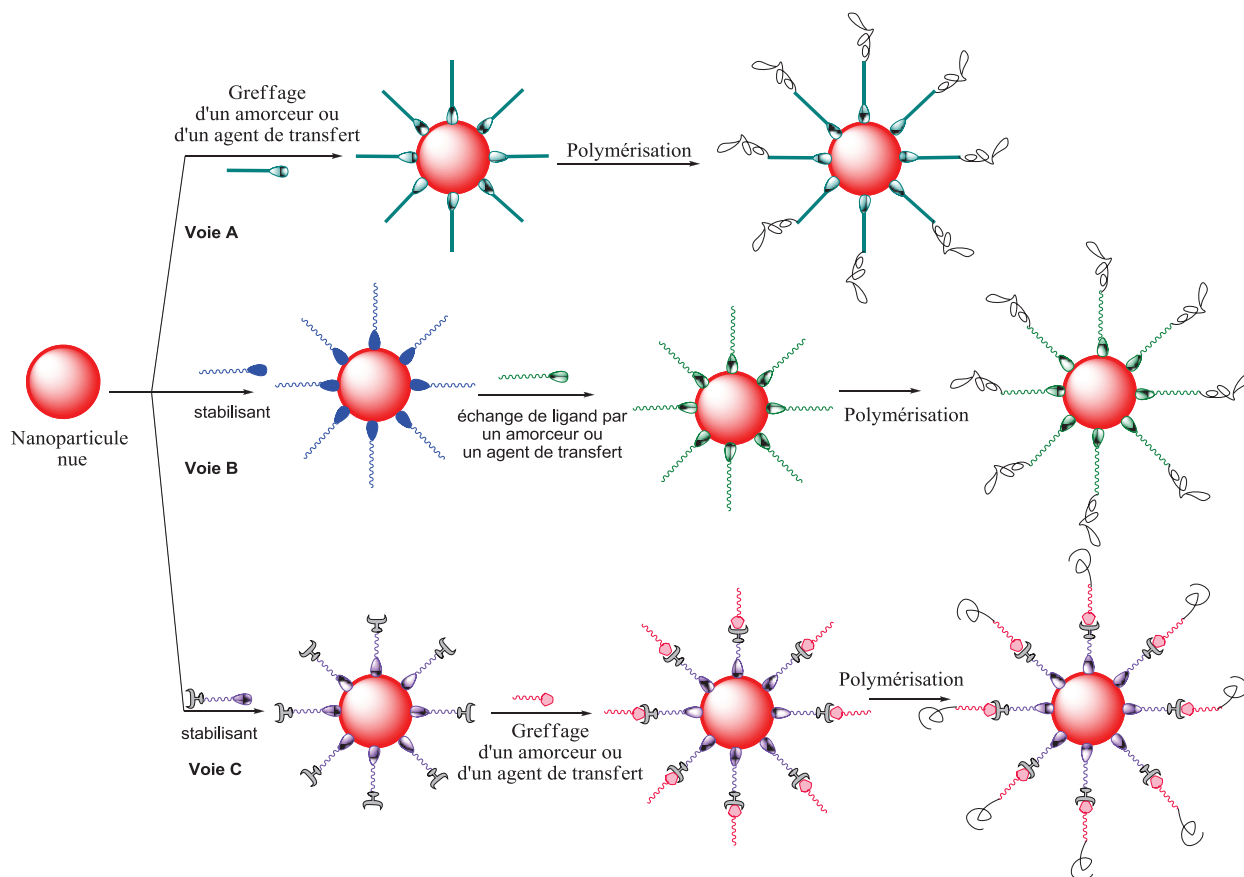


Schéma I-21. Stabilisation et fonctionnalisation de nanoparticules d'oxyde de fer par la stratégie 'grafting from'.

A titre d'exemple, Prai-in *et al.*¹²¹ ont synthétisé des nanoparticules préalablement stabilisées par l'acide oléique, qui ont subi un échange de ligand avec un amorceur d'ATRP : le 2-bromo-2-méthyl-*N*-(3-(triéthoxysilyl)propyl)propanamide (BTPAm), lui-même synthétisé par réaction entre le bromure de 2-bromoisobutyryle (BIBB) et le γ -aminopropyl triéthoxysilane (APS) (Schéma I-22). La copolymérisation statistique par ATRP du méthacrylate de poly(éthylène glycol) méthyl éther (PEGMA) et de la 2-vinyl-4,4-diméthylazlactone (VDM) a, par la suite, été conduite en présence du système catalytique CuBr/tris[2-(diméthylamino)éthyl]amine (Me₆TREN) à partir des nanoparticules d'oxyde de fer fonctionnalisées. Les clichés TEM montrent la couronne de polymère recouvrant chaque nanoparticule d'oxyde de fer.

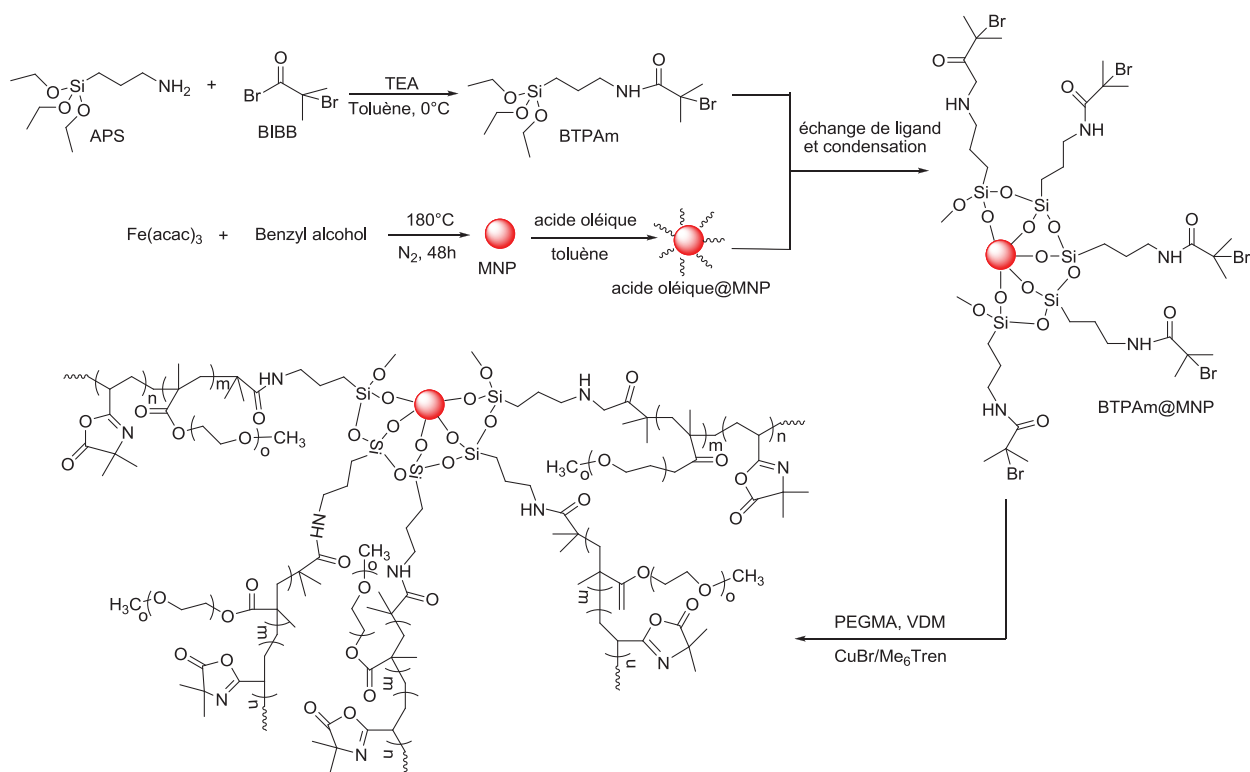


Schéma I-22. Stabilisation et fonctionnalisation de nanoparticules d'oxyde de fer selon la stratégie 'grafting from' par copolymérisation statistique par ATRP entre le méthacrylate de poly(éthylène glycol) méthyl éther et la 2-vinyl-4,4-diméthylazlactone.¹²¹

Les sites azlactone introduits à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer ont ensuite été utilisés pour immobiliser des monomères thymine de l'acide nucléique peptidique. Cette stratégie pourrait être étendue à l'immobilisation d'autres biomolécules nucléophiles comme des composés présentant des groupements hydroxyle ou thiol.

Takahara *et al.*¹²² ont ancré un amorceur de NMP à la surface de nanoparticules d'oxyde de fer, possédant à la fois un groupement acide phosphonique et une fonctionnalité alkoxyamine (Schéma I-23). La polymérisation contrôlée par NMP du styrène ou de la 3-vinylpyridine a ensuite été effectuée à partir des nanoparticules d'oxyde de fer fonctionnalisées. La dispersion et la stabilité des nanoparticules de Fe₃O₄ fonctionnalisées par du polystyrène à extrémité acide phosphonique et par de la poly(3-vinylpyridine) à extrémité acide phosphonique dépendent de la nature du solvant. Les nanoparticules d'oxyde de fer fonctionnalisées par du polystyrène à extrémité acide phosphonique sont bien dispersées et stables dans les solvants comme le chloroforme, le toluène, l'acétate d'éthyle, le tétrahydrofurane (THF) et elles ne sont pas dispersées et sont instables dans les solvants tels que l'hexane, le méthanol et l'acétone. Dans le

cas des nanoparticules d'oxyde de fer fonctionnalisées par de la poly(3-vinylpyridine) à extrémité acide phosphonique, elles sont dispersées et stables dans le chloroforme, les milieux aqueux à pH acide ainsi que dans l'eau. Les nanoparticules obtenues ont une densité de greffage de 0,12 à 0,2 chaîne/nm² de particule et le diamètre des particules est d'environ 10 nm. Ces nanoparticules présentent une réponse magnétique qui dépend de leur état de dispersion en solution.

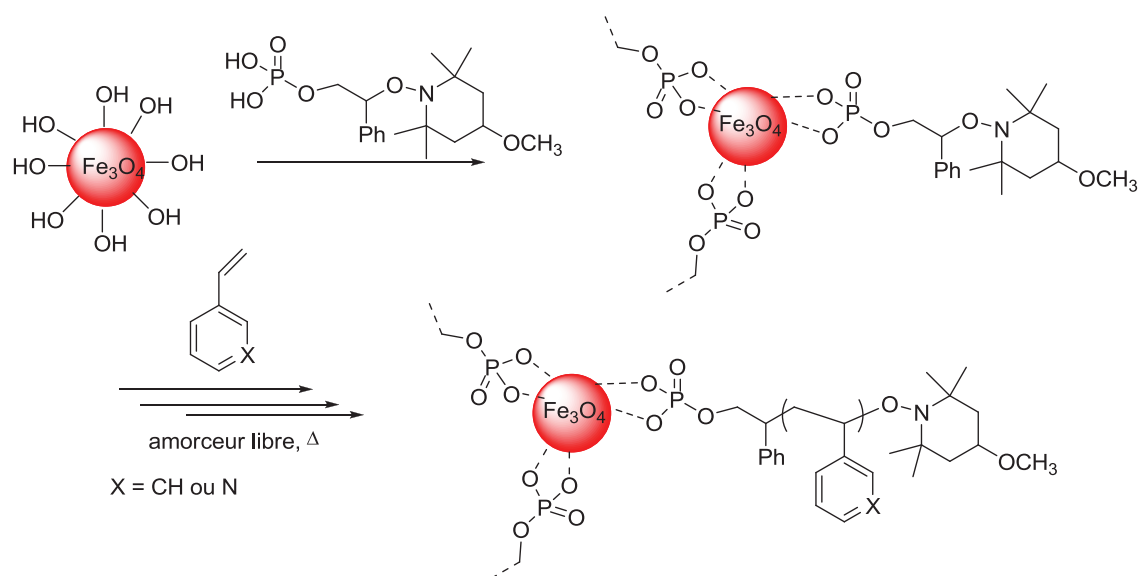


Schéma I-23. Stabilisation et fonctionnalisation de nanoparticules d'oxyde de fer par le polystyrène ou la poly(3-vinylpyridine) selon la stratégie 'grafting from' par NMP.¹²²

L'équipe de Wang¹²³ a synthétisé des polyglycérols hyper-ramifiés à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer par ROP du glycidol amorcée à partir de la surface avec l'amorceur acide 6-hydroxycaproïque (Schéma I-24). Les nanoparticules d'oxyde de fer obtenues sont superparamagnétiques avec une valeur de magnétisation de saturation de 30 emu.g⁻¹ et ont un diamètre hydrodynamique d'environ 24 nm. Elles sont stables dans l'eau et dans le milieu de culture cellulaire pendant plusieurs mois. Ces nanoparticules ont un grand potentiel en tant qu'agents de contraste en IRM.

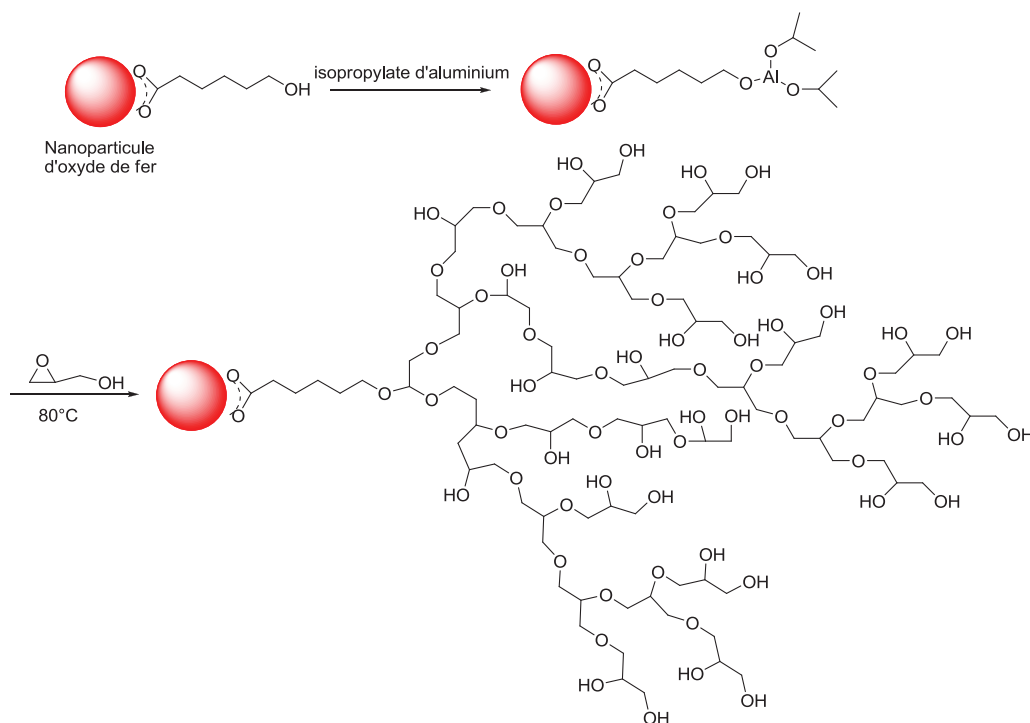


Schéma I-24. Greffage selon la stratégie 'grafting from' du polyglycérol hyper-ramifié à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer par ROP du glycidol.¹²³

Tian *et al.*¹²⁴ ont fonctionnalisé des nanoparticules de Fe_3O_4 par ROP du D,L-lactide (Schéma I-25). Des poly(D,L-lactide)s de masses molaires moyennes en nombre comprises entre 1 100 et 4 040 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, déterminées par spectroscopie par résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ^1H) après acidolyse, ont été greffés selon la stratégie 'grafting from' à la surface des nanoparticules. Ils ont montré que la densité de greffage augmente avec l'augmentation de la concentration en polymère et diminue avec l'augmentation de la masse molaire du polymère. Ces nanoparticules fonctionnalisées présentent un comportement superparamagnétique sous champ magnétique et la chaleur générée pourra être exploitée pour une application en hyperthermie.

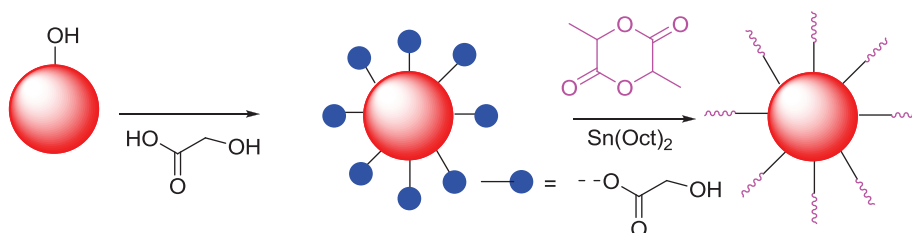


Schéma I-25. ROP du D,L-lactide à partir de nanoparticules stabilisées par l'acide glycolique possédant un site d'amorçage de la ROP.¹²⁴

III-2. La stratégie ‘grafting onto’

La stratégie ‘grafting onto’ consiste à ancrer des polymères possédant un (ou des) groupements aptes à former des interactions avec la surface des nanoparticules d’oxyde de fer (Schéma I-26). Les polymères peuvent être synthétisés par RDRP,¹²⁵ par ROP,¹²⁶ par ROMP,¹²⁷ ou par polymérisation anionique¹²⁸. Cette stratégie permet de contrôler l’architecture de la chaîne polymère ainsi que sa fonctionnalité. Il s'agit donc d'une méthode universelle. Toutefois, avec cette stratégie, la densité de greffage est généralement plus faible que celle obtenue selon la stratégie ‘grafting from’.

La stabilisation et la fonctionnalisation des nanoparticules d’oxyde de fer par des polymères selon la stratégie ‘grafting onto’ peuvent être réalisées selon trois voies :

- La voie A, où l’on peut effectuer directement la stabilisation des nanoparticules d’oxyde de fer nues par des polymères possédant un (ou des) groupement(s) apte(s) à former des interactions avec la surface des nanoparticules (Schéma I-26A). L'utilisation d'un polymère possédant à la fois un (ou des) groupement(s) d'ancrage et un (ou des) groupement(s) fonctionnel(s) permet une stabilisation et une fonctionnalisation simultanées.
- La voie B, qui consiste à effectuer dans un premier temps la stabilisation des nanoparticules nues par un stabilisant, puis une réaction d’échange entre le ligand d'origine et un nouveau ligand polymère possédant un (ou des) groupement(s) d'ancrage et éventuellement un (ou des) groupement(s) fonctionnel(s) (Schéma I-26B).
- La voie C, qui consiste tout d’abord à fonctionnaliser la surface des nanoparticules d’oxyde de fer nues par un stabilisant contenant un groupement d'ancrage de la surface des nanoparticules et un autre groupement fonctionnel susceptible de réagir avec un (ou des) groupements antagonistes présent(s) sur un polymère (Schéma I-26C).

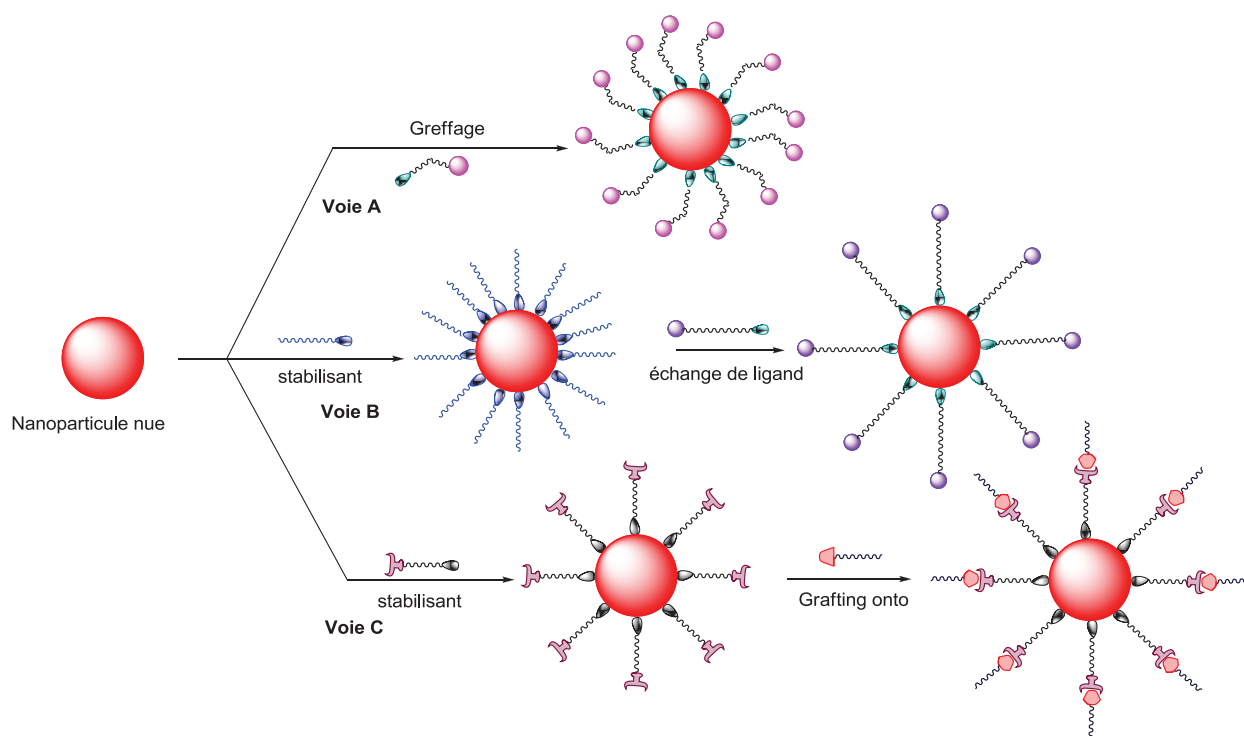


Schéma I-26. Stabilisation et fonctionnalisation de nanoparticules d'oxyde de fer par la stratégie 'grafting onto'.

Boyer *et al.*⁷⁴ ont réalisé la stabilisation et la bio-fonctionnalisation efficace de nanoparticules d'oxyde de fer en utilisant des polymères hétéro-télechéliques, préalablement obtenus par polymérisation RAFT. Ils ont synthétisé des poly(oligoéthylène glycol acrylate)s (poly(OEG-A)) à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité ω -dithiopyridine qui ont été greffés selon la stratégie 'grafting onto' à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer nues (Schéma I-27). Les nanoparticules sont stables en phase aqueuse grâce à la fonctionnalité ω -dithiopyridine tandis que le groupement acide phosphonique fournit le site d'ancrage nécessaire pour la stabilisation des particules d'oxyde de fer. La densité de greffage des chaînes polymères à la surface des nanoparticules est de 0,12 - 0,23 chaîne/nm² de particule et dépend directement de la masse molaire du polymère. Les mesures par DLS montrent que les nanoparticules recouvertes par le poly(OEG-A) de masse molaire supérieure à 10 000 g.mol⁻¹ sont stables dans l'eau pendant plusieurs jours et leur diamètre hydrodynamique est compris entre 40 et 130 nm. De plus, les nanoparticules stabilisées par le poly(OEG-A) de masse molaire de 62 000 g.mol⁻¹ sont stables dans le tampon phosphate (pH = 6,5, 0,1M) contenant des concentrations variables de sérum albumine bovine (BSA). Ces nanoparticules stabilisées sont également résistantes à l'adsorption des protéines.

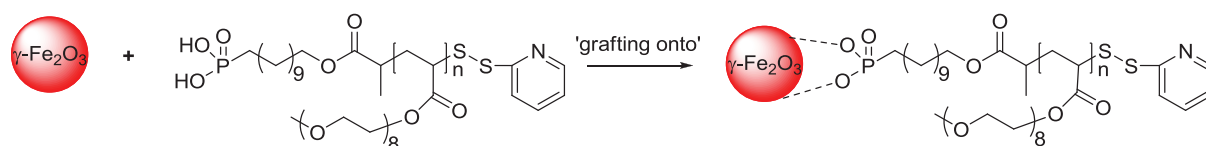


Schéma I-27. Stabilisation et fonctionnalisation de nanoparticules de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ par des poly(OEG-A)s à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité ω -dithiopyridine selon la stratégie 'grafting onto'.⁷⁴

Cet auteur a également synthétisé et modifié des nanoparticules de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ par la méthode 'grafting onto' en utilisant, soit un mélange de polymères à extrémité acide phosphonique poly(acrylate de diméthyle aminoéthyle) (PDMAEA) et poly(OEG-A), soit le copolymère à blocs poly(DMAEA-*b*-OEG-A) à extrémité acide phosphonique (Schéma I-28).¹²⁹ La fonctionnalisation par le mélange d'homopolymères a permis d'accéder à de hautes densités de greffage. Ces nanoparticules sont stables dans l'eau ainsi que dans le sérum de veau fœtal (FBS) à 50 vol% pendant quelques heures. Il a également montré que les nanoparticules sont non toxiques vis-à-vis des cellules du neuroblastome humain. La présence de charges positives dans la couche du polymère facilite la complexation avec des petits acides ribonucléiques interférents (siRNA) et le complexe ainsi formé montre une stabilité excellente dans le FBS et est efficace en transfection *in vitro*.

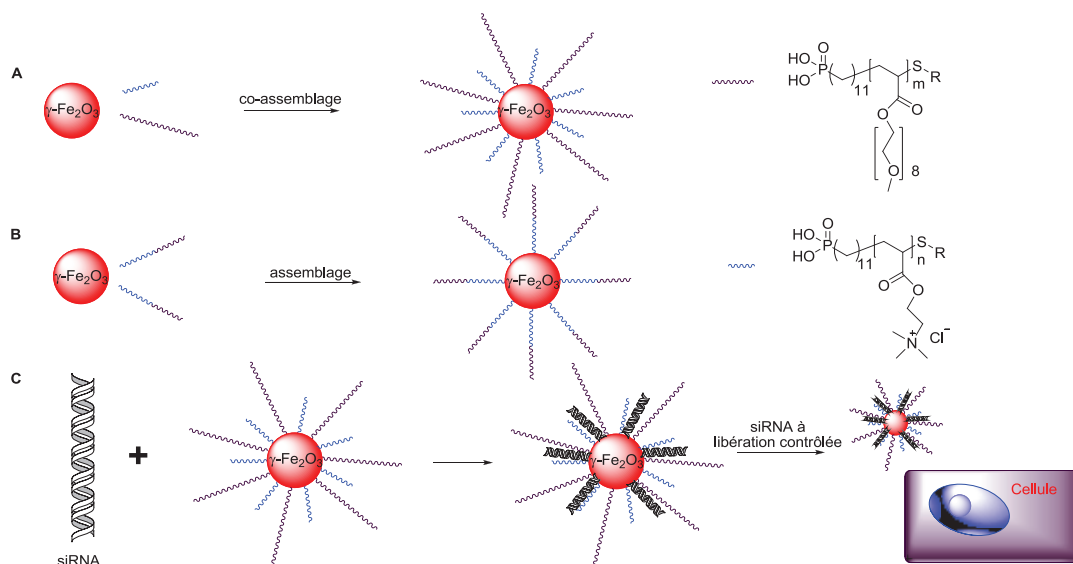


Schéma I-28. Stabilisation et fonctionnalisation de nanoparticules de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ selon la stratégie 'grafting onto' par (A) un mélange des polymères à extrémité acide phosphonique poly(DMAEA) et poly(OEG-A), (B) un copolymère à blocs poly(DMAEA-*b*-OEG-A) à extrémité acide phosphonique, et (C) réaction entre les nanoparticules fonctionnalisées poly(DMAEA) et poly(OEG-A) et siRNA puis libération de siRNA pour une transfection *in vitro*.¹²⁹

Pothayee *et al.*¹³⁰ ont utilisé l'ATRP pour synthétiser des poly(*N*-isopropylacrylamide)s à extrémité acide bisphosphonique qui ont été greffés à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer selon la méthode 'grafting onto' (Schéma I-29). Le greffage d'un polymère thermosensible à la surface des nanoparticules a permis d'obtenir des nanoparticules stimuli-sensibles en vue de leur utilisation dans le domaine biomédical.

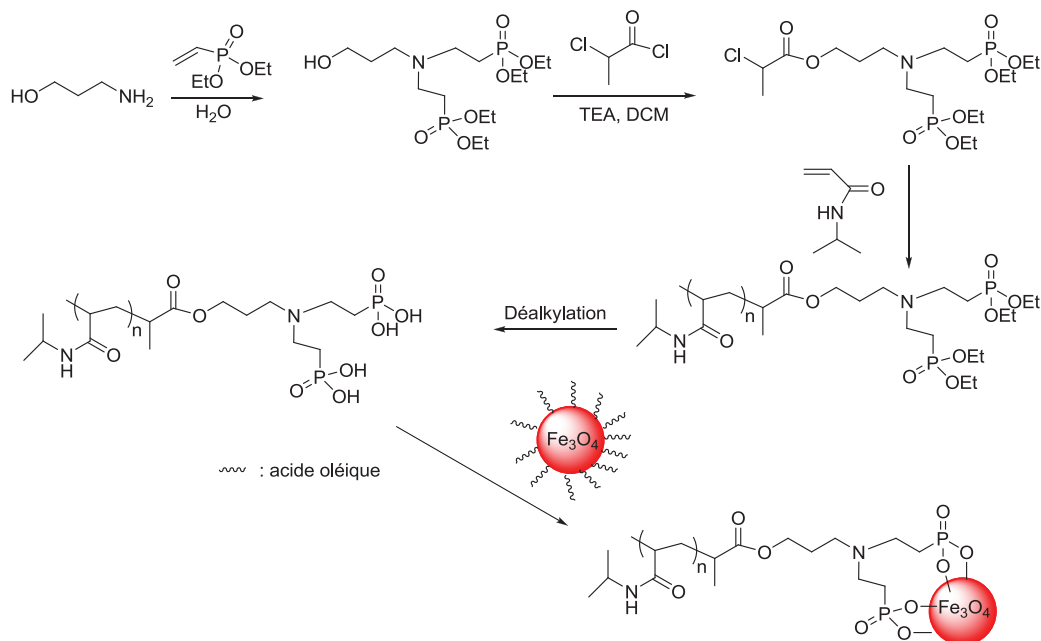


Schéma I-29. Synthèse de poly (*N*-isopropylacrylamide)s à extrémité bisphosphonate utilisés pour stabiliser et fonctionnaliser des nanoparticules d'oxyde de fer selon la stratégie 'grafting onto'.¹³⁰

White *et al.*¹³¹ ont utilisé une stratégie de fonctionnalisation des nanoparticules d'oxyde de fer qui a consisté à ancrer un ligand contenant soit un groupe acide phosphonique, soit un groupe acide carboxylique à une extrémité, qui peut se lier fortement à la surface de γ -Fe₂O₃, et un groupe azoture ou alcyne à l'autre extrémité permettant de réaliser une réaction 'click' pour ancrer soit une molécule organique, soit un polymère possédant la fonction antagoniste alcyne ou azoture, respectivement (Schéma I-30).

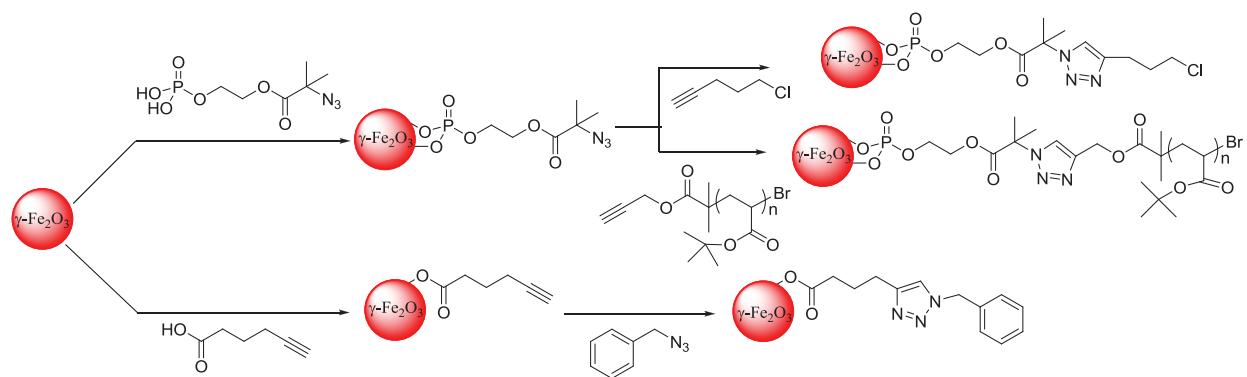


Schéma I-30. Fonctionnalisation de nanoparticules d'oxyde de fer stabilisées par une molécule organique possédant une fonction 'clickable' pour ancrer des (macro)molécules selon la stratégie 'grafting onto'.¹³¹

Conclusion

La stabilisation et la fonctionnalisation de nanoparticules magnétiques constituent des enjeux importants pour des applications dans le domaine médical comme la vectorisation de médicaments ou l'imagerie multimodale. Les nanoparticules magnétiques multifonctionnelles biocompatibles permettent la conjugaison de biomolécules et de principes actifs. Parmi les nanoparticules proposées comme médiateur pour des applications thérapeutiques, l'utilisation de nanoparticules d'oxyde de fer est une voie très prometteuse. Des développements récents dans la synthèse et la modification de surface des nanoparticules d'oxyde de fer pourraient permettre d'utiliser ces nanoparticules pour combiner le diagnostic et une thérapie plus efficace. En effet, pour leur utilisation *in vitro* et *in vivo*, la surface de nanoparticules d'oxyde de fer doit être modifiée non seulement pour augmenter leur biocompatibilité et diminuer leur toxicité, mais elle améliore également la stabilité colloïdale pour empêcher leur agrégation *in vivo*, leur dégradation chimique, et leur accumulation dans le corps humain. Les polymères sont particulièrement adaptés pour la stabilisation et la fonctionnalisation des nanoparticules d'oxyde de fer car ils peuvent simultanément contenir de nombreux groupes fonctionnels, soit identiques favorisant ainsi l'ancrage à la nanoparticule, soit orthogonaux, autorisant ainsi simultanément l'ancrage pour la stabilisation et une multifonctionnalisation. De plus, l'utilisation de techniques de polymérisation contrôlée a permis d'accéder à des nanoparticules stabilisées et/ou fonctionnalisées avec une magnétisation élevée, une taille bien définie inférieure à 100 nm, une distribution de tailles étroite et qui peuvent être dispersées en milieu aqueux et en milieu salin physiologique autorisant leur utilisation pour des applications médicales.

La fonctionnalisation des nanoparticules d'oxyde de fer par des polymères peut être effectuée selon deux stratégies : la stratégie 'grafting from' et la stratégie 'grafting onto'.

- la stratégie 'grafting from' consiste à ancrer dans un premier temps un amorceur de polymérisation ou un agent de transfert à la surface des nanoparticules et la polymérisation est ensuite conduite à partir de la surface des nanoparticules fonctionnalisées.
- La stratégie 'grafting onto' consiste à ancrer des polymères préalablement synthétisés possédant un (ou des) groupement(s) apte(s) à former des interactions avec la surface des nanoparticules d'oxyde de fer.

La méthode 'grafting from' permet d'atteindre une plus grande densité de greffage car la croissance des chaînes polymères se fait à partir de la surface des nanoparticules. Par contre, la

polymérisation est effectuée en milieu solvant organique, ce qui peut avoir des conséquences sur l'intégrité de la nanoparticule. La stratégie 'grafting onto' peut être conduite en milieu aqueux, ce qui peut s'avérer très utile pour des applications (bio)technologiques. De plus, la méthode 'grafting onto' permet de contrôler l'architecture, la masse molaire et la fonctionnalité du polymère ancré sur la nanoparticule.

Pour notre part, nous avons choisi d'axer nos travaux sur le greffage de POEs à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane sur des nanoparticules d'oxyde de fer selon la stratégie 'grafting onto'. Le choix s'est porté sur le POE en raison de ses propriétés d'hydrophile, de biocompatibilité, de furtivité, de sa fonctionnalité et sa disponibilité commerciale. L'extrémité acide phosphonique va permettre l'immobilisation du polymère sur les nanoparticules d'oxyde de fer. La fonctionnalité furane est susceptible de réagir avec des (bio)molécules à fonctionnalité maléimide selon une réaction de Diels-Alder thermoréversible. La stratégie générale de synthèse de ces POEs fonctionnel met en jeu des réactions de chimie 'click' qui sont très efficaces, orthogonales et réalisées dans des conditions douces. Le comportement thermique de ces nanoparticules greffées à ancrer des (bio)molécules à fonctionnalité maléimide pourrait permettre leur utilisation dans les domaines de la vectorisation et de la libération par hyperthermie. La synthèse de poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éthers à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane fait l'objet du chapitre suivant.

Références

- ¹ Stephens, J. R.; Beveridge, J. S.; Williams, E. *Phys. Chem. Phys.* **2012**, *14*, 3280-3289.
- ² Sun, S.; Murray, C. B.; Weller, D.; Folks, L.; Moser, A. *Science* **2000**, *287*, 1989-1992.
- ³ Pankhurst, Q. A.; Connolly, J.; Jones, S. K.; Dobson, J. *J. Phys.: D: Appl. Phys.* **2003**, *36*, R167-R181.
- ⁴ Pankhurst, Q. A.; Thanh, N. T. K.; Jones, S. K.; Dobson, J. *J. Phys.: D: Appl. Phys.* **2009**, *42*, 224001-224015.
- ⁵ Charles, S. W.; Popplewell, J. *Endeavour* **1982**, *6*, 153-161.
- ⁶ Miller, M. M.; Prinz, G. A.; Cheng, S. F.; Bounnak, S. *Appl. Phys. Lett.* **2002**, *81*, 2211-2213.
- ⁷ Laurent, S.; Delphine, F.; Port, M.; Roch, A.; Robic, C.; Elst, L. V.; Muller, R. N. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2064-2110.
- ⁸ Sun, C.; Lee, J. S. H.; Zhang, M. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2008**, *60*, 1252-1265.
- ⁹ Verma, A. *Nat. Mater.* **2008**, *7*, 588 -595.
- ¹⁰ Samanta, B.; Yan, H.; Fischer, N. O.; Shi, J.; Jerry, D. J.; Rotello, V. M. *J. Mater. Chem.* **2008**, *18*, 1204-1208.
- ¹¹ Xu, Z. P.; Zeng, Q. H.; Lu, G. Q.; Yu A. B. *Chem. Eng. Sci.* **2006**, *61*, 1027-1040.
- ¹² Namdeo, M.; Saxena, S.; Tankhiwale, R.; Bajpai, M.; Mohan, Y. M.; Bajpai, S. K.; *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2008**, *8*, 3247-3271.
- ¹³ Lee, H.; Yu, M. K.; Park, S.; Moon, S.; Min, J. J.; Jeong, Y. Y.; Kang, H. -W.; Jon, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12739-12745.
- ¹⁴ McCarthy, J. R.; Weissleder, R. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2008**, *60*, 1241-1251.
- ¹⁵ Gupta, A. K.; Gupta M. *Biomaterials* **2005**, *26*, 3995-4021.
- ¹⁶ Amstad, E.; Textor, M.; Reimhult, E. *Nanoscale* **2011**, *3*, 2819-2843.
- ¹⁷ Boyer, C.; Whittaker, M. R.; Bulmus, V.; Liu, J.; Davis, T. P. *NPG Asia Mater.* **2010**, *2*, 23-30.
- ¹⁸ Duguet E.; Vasseur, S.; Mornet, S.; Devoisselle, J.-M. *Nanomedicine* **2006**, *1*, 157-168.
- ¹⁹ Lattuada, M.; Hatton, T. A. *Langmuir* **2007**, *23*, 2158-2168.
- ²⁰ Huh, Y. M.; Jun, Y. W.; Song, H. T.; Kim, S.; Choi, J. S.; Lee, J. H.; Yoon, S.; Kim, K. S.; Shin, J. S.; Suh, J. S.; Cheon, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12387-12391.
- ²¹ Song, H. T.; Choi, J. S.; Huh, Y. M.; Kim, S.; Jun, Y. W.; Suh, J. S.; Cheon, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9992-9993.
- ²² Weissleder, R.; Hahn, P. F.; Stark, D. D.; Rummeny, E.; Saini, S.; Wittenberg, J.; Ferrucci, J. T.; *Am. J. Roentgenol.* **1987**, *149*, 723-726.
- ²³ Weissleder, R.; Elizondo, G.; Wittenberg, J.; Rabito, C. A.; Bengel H. H.; Josephson, L. *Radiology* **1990**, *175*, 489-493.
- ²⁴ Jung, C. W.; Jacobs, P. *Magn. Reson. Imaging* **1995**, *13*, 661-674.
- ²⁵ Grubbs, R. B. *Polym. Rev.* **2007**, *47*, 197-215.
- ²⁶ Mössmer, S.; Spatz, J. P.; Möller, M.; Aberle, T. Schmidt, J.; Burchard, W. *Macromolecules* **2000**, *33*, 4791-4798.
- ²⁷ Bockstaller, M. R.; Mickiewicz, R. A.; Thomas, E. L. *Adv. Mater.* **2005**, *17*, 1331-1349.
- ²⁸ Schladt, D. T.; Schneider, K.; Schild, H.; Tremel, W. *Dalton Trans. Mater.* **2011**, *40*, 6315-6344.
- ²⁹ Shukoor, M. I.; Natalio, F.; Tahir, M. N.; Ksenofontov, V.; Therese, H. A.; Theato, P.; Schroder, H.C.; Müller, W. E. G.; Tremel, W. *Chem. Commun.* **2007**, 4677-4679.
- ³⁰ Chen, D.; Xu, R. *Mater. Res. Bull.* **1998**, *33*, 1015-1021.

- ³¹ Deng, Y.; Wang, W.; Yang, W.; Fu, S.; Elaissari, A. *J. Magn. Mater.* **2003**, *257*, 69-78.
- ³² Hyeon, T.; Lee, S. S.; Park, J.; Chung, Y.; Na, H. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12798-12801.
- ³³ Lu, A. H.; Salabas, E.; Schüth. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1222-1244.
- ³⁴ Hyeon, T. *Chem. Commun.* **2003**, 927-934.
- ³⁵ Park, J.; Joo, J.; Kwon, S. G.; Jang, Y.; Hyeon, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4630-4660.
- ³⁶ Kang, Y. S.; Risbud, S.; Rabolt, J. F.; Stroeve, P. *Chem. Mater.* **1996**, *8*, 2209-2211.
- ³⁷ Cheon, J.; Kang, N. J.; Lee, S. M.; Lee, J. H.; Yoon, J. H.; Oh, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 1950-1951.
- ³⁸ Neveu, S.; Bee, A.; Robineau, M.; Talbot, D. *J. Colloid Interf. Sci.* **2002**, *255*, 293-298.
- ³⁹ Cushing, B. L.; Kolesnichenko, V. L.; O'Connor, C. J. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 3893-3946.
- ⁴⁰ Willis, A. L.; Turro, N. J.; O'Brien, S. *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 5970-5975.
- ⁴¹ Lu, J.; Jiao, X.; Chen, D.; Li, W. *J. Phys. Chem. C.* **2009**, *113*, 4012-4017.
- ⁴² Zhang, W.; Yang, Z.; Liu, Y.; Tang, S.; Han, X.; Chen, M. *J. Cryst. Growth* **2004**, *263*, 394-399.
- ⁴³ Baruwati, B.; Nadagouda, M. N.; Varna, R. S. *J. Phys. Chem. C.* **2008**, *112*, 18399-18404.
- ⁴⁴ Cansell, F.; Chevalier, B.; Demourgues, A.; Etourneau, J.; Even, C.; Pessey, V.; Petit, S.; Tressaud, A.; Weill, F. *J. Mater. Chem.* **1999**, *9*, 67-75.
- ⁴⁵ Gautam, U. K.; Ghosh, M.; Rajamathi, M.; Seshadri, R. *Pure Appl. Chem.* **2002**, *74*, 1643-1649.
- ⁴⁶ Daou, T.; Pourroy, G.; Bégin-Colin, S.; Grenèche, J.; Ulhaq-Bouillet, C.; Legaré, P.; Bernhardt, P.; Leuvrey, C.; Rogez, G. *Chem. Mater.* **2006**, *18*, 4399-4404.
- ⁴⁷ Wang, J.; Sun, J.; Sun, Q.; Chen, Q. *Mater. Res. Bull.* **2003**, *38*, 1113-1118.
- ⁴⁸ Zheng, Y.; Cheng, Y.; Bao, F.; Wang, Y. *Mater. Res. Bull.* **2006**, *41*, 525-529.
- ⁴⁹ Wu, W.; He, Q.; Jiang, C. *Nanoscale Res. Lett.* **2008**, *3*, 397-415.
- ⁵⁰ Ladj, R.; Bitar, A.; Elissa, M.; Mugnier, Y.; Le Dantec, R.; Fessi, H.; Elaissari, A. *J. Mater. Chem. B.* **2013**, *1*, 1381-1396.
- ⁵¹ Chhabra, V.; Ayyub, P.; Chattopadhyay, S.; Maitra, A. N. *Mater. Lett.* **1996**, *26*, 21-26.
- ⁵² Nassar, N.; Husein, M. *Phys. Status Solidi A.* **2006**, *203*, 1324-1328.
- ⁵³ Stecker, M.; Fukuoka, M.; Ishikawa, T. *J. Phys. Chem.* **1984**, *88*, 6519-6544.
- ⁵⁴ Dresco, P. A.; Zaitsev, V. S.; Gambino, R. J.; Chu, B. *Langmuir* **1999**, *15*, 1945-1951.
- ⁵⁵ Chin, A. B.; Yaacob, I. I. *J. Mater. Process. Technol.* **2007**, *191*, 235-237.
- ⁵⁶ Kang, E.; Park, J.; Hwang, Y.; Kang, M.; Park, J. G.; Hyeon, T. *J. Phys. Chem. B.* **2004**, *108*, 13932-13935.
- ⁵⁷ Kwon, S. G.; Piao, Y.; Park, J.; Angappane, S.; Jo, Y.; Hwang, N. M.; Park, J. G.; Hyeon, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12571-12584.
- ⁵⁸ Ott, L. S.; Finke, R. G. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 8382-8393.
- ⁵⁹ Cornell, R. M.; Schertman, U. *Iron Oxides in the Laboratory: Preparation and Characterization*, VCH Publishers: Weinheim, Germany, **1991**.
- ⁶⁰ Napper, D. H. *J. Colloid Interf. Sci.* **1970**, *32*, 106-114.
- ⁶¹ Fritz, G.; Schadler, V.; Willenbacher, N.; Wagner, N. J. *Langmuir* **2002**, *18*, 6381-6390.
- ⁶² Ortega-Vinusea, J. L.; Martin-Rodríguez, A.; Hidalgo-Alvarez, R. *J. Colloid Interf. Sci.* **1996**, *184*, 259-267.
- ⁶³ Kobayashi, M.; Skarba, M.; Galletto, P.; Cakara, D.; Borbovec, M. *J. Colloid Interf. Sci.* **2005**, *292*, 139-147.

- ⁶⁴ Mylon, S. E.; Chen, K. L.; Elimelech, M. *Langmuir* **2004**, *20*, 9000-9006.
- ⁶⁵ Elimelech, J. H. *J. Colloid Interf. Sci.* **1992**, *154*, 1-7.
- ⁶⁶ Lefebure, S.; Dubois, E.; Cabuil, V.; Neveu, S.; Massart, R. *J. Mater. Res.* **1998**, *13*, 2975-2981.
- ⁶⁷ Sahoo, Y.; Goodarzi, A.; Swihart, M. T.; Ohulchanskyy, T. Y.; Kaur, N.; Furlani, E. P.; Prasad, P. N. *J. Phys. Chem. B.* **2005**, *109*, 3879-3885.
- ⁶⁸ Reddy, L. H.; Arias, J. L.; Nicolas, J.; Couvreur, P. *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 5818-5878.
- ⁶⁹ Pearson, R. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3533-3539.
- ⁷⁰ Xu, C. J.; Xu, K. M.; Gu, H. W.; Zheng, R. K.; Liu, H.; Zhang, X. X.; Guo, Z. H.; Xu, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9938-9939.
- ⁷¹ Larsen, E. K. U.; Nielsen, T.; Wittenborn, T.; Birkedal, H.; Vorup-Jensen, T.; Jakobsen, M. H.; Ostergaard, L.; Horsman, M. R.; Besenbacher, F.; Howard, K. A.; Kjems, J. *ACS Nano.* **2009**, *3*, 1947-1951.
- ⁷² Kim, M.; Chen, Y. F.; Liu, Y. C.; Peng, X. G. *Adv. Mater.* **2005**, *17*, 1429-1432.
- ⁷³ Xiao, Z. P.; Yang, K. M.; Liang, H.; Lu, J. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2010**, *48*, 542-550.
- ⁷⁴ Boyer, C.; Bulmus, V.; Priyanto, P.; Teoh, W. Y.; Amal, R.; Davis, T. P. *J. Mater. Chem.* **2009**, *19*, 111-123.
- ⁷⁵ Cheng, K.; Peng, S.; Xu, C.; Sun, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 10637-10644.
- ⁷⁶ Shultz, M. D.; Reveles, J. U.; Khanna, S. N.; Carpenter, E. E. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2482-2487.
- ⁷⁷ De Palma, R.; Peeters, S.; Van Bael, M. J.; Van den Rul, H.; Bonroy, K.; Laureyn, W.; Mullen, J.; Borghs, G.; Maes, G. *Chem. Mater.* **2007**, *19*, 1821-1831.
- ⁷⁸ El-Boubbou, K.; Gruden, C.; Huang, X. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 13392-13393.
- ⁷⁹ Baldi, G.; Bonacchi, D.; Franchini, M. C.; Gentili, D.; Lorenzi, G.; Ricci, A.; Ravagli, C. *Langmuir* **2007**, *23*, 4026-4028.
- ⁸⁰ Hofmann, A.; Thierbach, S.; Semisch, A.; Hartwig, A.; Taupitz, M.; Rühl, E.; Graf, C. *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 7842-7853.
- ⁸¹ Sun, S. H.; Zeng, H.; Robinson, D. B.; Raoux, S.; Rice, P. M.; Wang, S. X.; Li, G. X. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 273-279.
- ⁸² Sahoo, Y.; Pizem, H.; Fried, T.; Golodnitsky, D.; Burstein, L.; Sukenik, C. N.; Markovich, G. *Langmuir* **2001**, *17*, 7907-7911.
- ⁸³ Kim, E. H.; Lee, H. S.; Kwak, B. K.; Kim, B. K. *J. Magn. Magn. Mater.* **2005**, *289*, 328-330.
- ⁸⁴ Woo, K.; Hong, J.; Ahn, J. P. *J. Magn. Magn. Mater.* **2005**, *293*, 177-181.
- ⁸⁵ Hodenius, M.; De Cuyper, M.; Desender, L.; Muller-Schulte, D.; Steigel, A.; Lueken, H. *Chem. Phys. Lipids* **2002**, *120*, 75-85.
- ⁸⁶ Selim, K. M. K.; Ha, Y. S.; Kim, S. J.; Chang, Y.; Kim, T. J.; Lee, G. H.; Kang, I. K. *Biomaterials* **2007**, *28*, 710-716.
- ⁸⁷ Portet, D.; Denizot, B.; Rump, E.; Rump, E.; Lejeune, J. J.; Jallet, P. *J. Colloid Interf. Sci.* **2001**, *238*, 37-42.
- ⁸⁸ Kreller, D. I.; Gibson, G.; Novak, W.; Van Loon, G. W.; Horton, J. H. *Colloids Surf. A.* **2003**, *212*, 249-264.
- ⁸⁹ Roberts, D.; Zhu, W. L.; Fromenn, C. M.; Rosenzweig, Z. *J. Appl. Phys.* **2000**, *87*, 6208-6210.
- ⁹⁰ Fauconnier, N.; Bee, A.; Roger, J.; Pons, J. N. *Prog. Colloid Polym. Sci.* **1996**, *100*, 212-218.
- ⁹¹ Fauconnier, N.; Pons, J. N.; Roger, J.; Bee, A. *J. Colloid Interf. Sci.* **1997**, *194*, 427-433.

- ⁹² Shen, L. P.; Laibinis, E.; Hatton, T. A. *Langmuir* **1999**, *15*, 447-453.
- ⁹³ Qin, J.; Laurent, S.; Jo, Y.; Roch, A.; Mikhaylova, M.; Bhujwala, Z.; Muller, R.; Muhammed, M. *Adv. Mater.* **2007**, *19*, 1874-1878.
- ⁹⁴ Palma, R.; Peeters, S.; Van Bael, M. J.; Van Den Rul, H.; Bonroy, K.; Laureyn, W.; Mullens, J.; Borghs, G.; Maes, G. *Chem. Mater.* **2007**, *19*, 1821-1831.
- ⁹⁵ Tadmor, R.; Rosensweig, R. E.; Frey, J.; Klein, J. *Langmuir* **2000**, *16*, 9117-9120.
- ⁹⁶ Yee, C.; Kataby, G.; Ulman, G.; Prozorov, T.; White, H.; King, A.; Rafailovich, M.; Solokov, J.; Gedanken, A. *Langmuir* **1999**, *15*, 7111-7115.
- ⁹⁷ Tejedor-Tejedor, M. I.; Anderson, M. A. *Langmuir* **1990**, *6*, 602-611.
- ⁹⁸ Person, P.; Nilsson, N.; Sjöberg, S. *J. Colloid Interf. Sci.* **1996**, *177*, 263-275.
- ⁹⁹ Mohapatra, S.; Pramanik, P. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* **2009**, *339*, 35-42.
- ¹⁰⁰ Shoo, Y.; Pizem, H.; Fried, T.; Golodnitsky, D.; Burstein, L.; Sukenik, C. N.; Markovich, G. *Langmuir* **2001**, *17*, 7907-7911.
- ¹⁰¹ Daou, T. J.; Grenèche, J. M.; Pourroy, G.; Buathong, S.; Derory, A.; Ulhaq-Bouillet, C.; Donnio, B.; Guillon, D.; Begin-Colin, S. *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 5869-5875.
- ¹⁰² Daou, T. J.; Buathong, S.; Ung, D.; Donnio, B.; Pourroy, G.; Guillon, D.; Bégin, S. *Sens. Actuators* **2007**, *126*, 159-162.
- ¹⁰³ Daou, T. J.; Pourroy, G.; Greneche, J. M.; Bertin, A.; Felder-Flesch, D.; Begin-Colin, S. *Dalton's Trans.* **2009**, 4442-4449.
- ¹⁰⁴ Tudisco, C.; Oliveri, V.; Cantarella, M.; Vecchio, G.; Condorelli, G. C. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, *32*, 5323-5331.
- ¹⁰⁵ Sahoo, B.; Sahu, S. K.; Pranamik, P. *J. Mol. Catal. B: Enzymatic* **2011**, *69*, 95-102.
- ¹⁰⁶ Das, M.; Bandyopadhyay, D.; Mishra, D.; Datir, S.; Dhak, P.; Jain, S.; Maiti, T. K.; Basak, A.; Pramanik, P. *Bioconjugate Chem.* **2011**, *22*, 1181-1193.
- ¹⁰⁷ Boal, A. K.; Das, K.; Gray, M.; Rotello, V. M. *Chem. Mater.* **2002**, *14*, 2628-2636.
- ¹⁰⁸ Fan, J.; Lu, J.; Xu, R.; Jiang, R.; Gao, Y. *J. Colloid Interf. Sci.* **2003**, *266*, 215-218.
- ¹⁰⁹ Derjaguin, B. V.; Landau, L. *Acta Physicochim. URSS* **1941**, *14*, 633-662.
- ¹¹⁰ Verwey, E. J. W.; Overbeek, J. T. G. *Theory of the Stability of Lyophobic Colloids*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, **1948**.
- ¹¹¹ Duran, J. D. G.; Arias, J. L.; Gallardo, V.; Delgado, A. V. *J. Pharm. Sci.* **2008**, *97*, 2948-2983.
- ¹¹² Morales, M. A.; Fitonelli, P. V.; Coaquira, J. A. H.; Rocha-Leao, M. H. M.; Diaz-Aguila, C.; Baggio-Saitovitch, E. M.; Rossi, A. M. *Mater. Sci. Eng. C* **2008**, *28*, 253-257.
- ¹¹³ Bautista, M. C.; Bomati-Miguel, O.; Morales, M. D.; Serna, C. J.; Veintemillas-Verdaguer, S. *J. Magn. Magn. Mater.* **2005**, *293*, 20-27.
- ¹¹⁴ Jia, Z.; Yujun, W.; Yangcheng, L.; Jingyu, M.; Guangsheng, L. *React. Funct. Polym.* **2006**, *66*, 1552-1558.
- ¹¹⁵ Olsena, D.; Yanga, S.; Bodoa, M.; Changa, R.; Leigha, S.; Baeza, J.; Carmichael, D.; Perälä, M.; Hämäläinen, E. R.; Jarvinen, M.; Polarek, J. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2003**, *55*, 1547-1567.
- ¹¹⁶ Shinkai, M. S.; Suzuki, M.; Iijima, S.; Kobayashi, T. *Biotechnol. Appl. Biochem.* **1994**, *21*, 125-137.
- ¹¹⁷ Lutz, J. F.; Stiller, S.; Hoth, A.; Kaufner, L.; Pison, U.; Cartier, R. *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 3132-3138.
- ¹¹⁸ Liu, T. Y.; Hu, S. H.; Liu, K. H.; Liu, D. M.; Chen, S. Y. *J. Control. Release* **2008**, *126*, 228-236.

- ¹¹⁹ Huth, S.; Lausier, J.; Gersting, S. W.; Rudolph, C.; Plank, C.; Welsch, U.; Rosenecker, J. *J. Gene Med.* **2004**, *6*, 923-936.
- ¹²⁰ Gupta, A. K.; Wells, S. *IEEE Trans. Nanobioscience* **2004**, *3*, 66-74.
- ¹²¹ Prai-in, Y.; Tankanya, K.; Rutnakornpituk, B.; Wichai, U.; Montembault, V.; Pascual, S.; Fontaine, L.; Rutnakornpituk, M. *Polymer* **2012**, *53*, 113-120.
- ¹²² Matsuno, R.; Yamamoto, K.; Otsuka, H.; Takahara, A. *Macromolecules* **2004**, *37*, 2203-2209.
- ¹²³ Wang, L.; Neoh, K. G.; Kang, E. T.; Shuter, B.; Wang, S-C. *Adv. Funct. Mater.* **2009**, *19*, 2615-2622.
- ¹²⁴ Tian, J.; Feng, Y. K.; Xu, Y. S. *Macromol. Res.* **2006**, *14*, 209-213.
- ¹²⁵ Lowe, A. B.; Sumerlin, B. S.; Donovan, M. S.; McCormick, C. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11562-11563.
- ¹²⁶ Flesch, C.; Delaite, C.; Dumas, P.; Bourgeat-Lami, E.; Duguet, E. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2004**, *42*, 6011-6020.
- ¹²⁷ Cummins, C. C.; Schrock, R. R.; Cohen, R. E. *Chem. Mater.* **1992**, *4*, 27-30.
- ¹²⁸ Corbierre, M. K.; Cameron, N. S.; Lennox, R. B. *Langmuir.* **2004**, *20*, 2867-2873.
- ¹²⁹ Boyer, C.; Priyanto, P.; Davis, T. P.; Pissuwan, D.; Bulmus, V.; Maria, K.; Teoh, W. Y.; Amal, R.; Carroll, M.; Woodware, R.; Pierre, T. S. *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 255-265.
- ¹³⁰ Pothayee, N.; Balasubramaniam, S.; Davis, R. M.; Riffle, J. S.; Carroll, M. R. J.; Woodward, R. C.; Pierre, St. T. G. *Polymer* **2011**, *52*, 1356-1366.
- ¹³¹ White, M. A.; Johnson, J. A.; Koberstein, J. T.; Turro, N. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11356-11357.

CHAPITRE II

Synthèse de POEs fonctionnalisés à extrémité acide
phosphonique

Introduction

Le poly(oxyde d'éthylène) est l'un des polymères les plus utilisés pour le recouvrement de nanoparticules magnétiques en raison de sa faible toxicité, de son hydrosolubilité, et de son aptitude à masquer des substrats étrangers au système immunitaire.¹ De nombreux poly(oxyde d'éthylène)s fonctionnalisés par une extrémité organophosphorée^{2,3,4,5,6,7} ont été étudiés, en raison de leur aptitude à se lier à des surfaces d'oxydes métalliques.^{8,9,10,11} Ainsi, les poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité acide phosphonique sont utilisés comme ligands de nanoparticules magnétiques pour améliorer leur biocompatibilité, leur résistance à l'adsorption de protéines dans le corps humain.^{12,13} Néanmoins, peu de méthodes de synthèse de poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité phosphorylée ont été rapportées dans la littérature. La stratégie la plus utilisée consiste en une estérification du poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther (POE) par l'oxychlorure de phosphore, suivie d'une hydrolyse (Schéma II-1). Cette synthèse a été réalisée à partir de POEs de masse molaire moyenne en nombre (\overline{M}_n) comprises entre 350 et 20 000 g/mol. L'analyse par spectrométrie de masse Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight (MALDI-TOF) a montré l'obtention d'un mélange constitué du POE de départ et des composés à extrémité phosphorylée à une, deux et trois branches POE.⁶ Ces POE ont été utilisés pour stabiliser des nanoparticules d'oxyde de fer.⁴⁻⁶ Tromsdorf *et al.*⁴ ont montré l'influence de la longueur du POE sur l'aptitude à résister à l'adsorption d'une protéine plasmatique. Liu *et al.*⁵ ont démontré que l'augmentation de la longueur de la chaîne de POE (\overline{M}_n de 2 000 et 20 000 g/mol) améliore la stabilisation colloïdale des nanoparticules d'oxyde de fer.

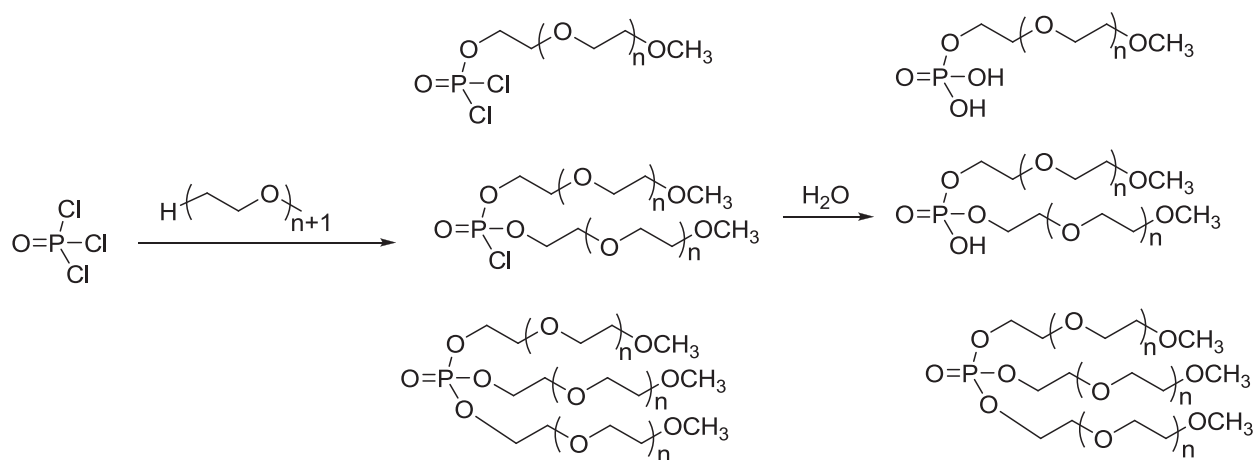


Schéma II-1. Synthèse de POEs à extrémité acide phosphonique par estérification puis hydrolyse.⁶

Des POEs à extrémité acide phosphonique ont également été synthétisés par addition radicalaire^{14,15} et addition de Michael.¹⁶ Essahli *et al.*¹⁴ ont synthétisé des POEs à extrémité acide phosphonique par télomérisation radicalaire à partir de POEs de \overline{M}_n de 400, 2 000 et 4 670 g/mol avec un taux de fonctionnalisation quantitatif pour le POE de $\overline{M}_n = 400$ g/mol (Schéma II-2), en vue de les utiliser en tant qu'additifs dans des formulations de ciment.

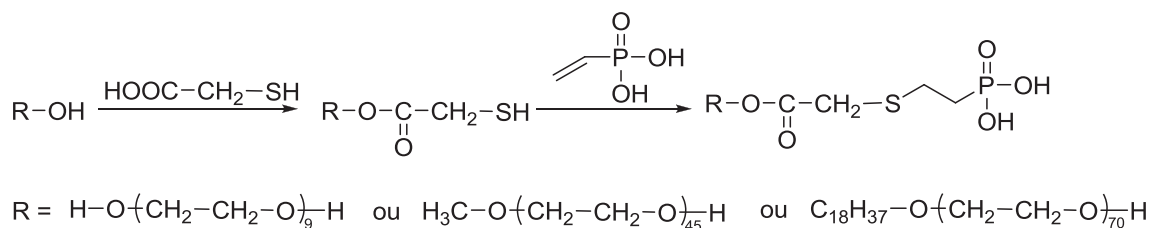


Schéma II-2. Synthèse de POEs à extrémité acide phosphonique par addition radicalaire.¹⁴

Traine *et al.*¹⁵ ont également utilisé l'addition radicalaire de l'hydrogénophosphonate de diméthyle sur un tétraoxyde d'éthylène préalablement fonctionnalisé par une extrémité alcène pour synthétiser un tétraoxyde d'éthylène à extrémité acide phosphonique après déalkylation, pour stabiliser des particules d'oxyde d'yttrium Y_2O_3 (Schéma II-3).

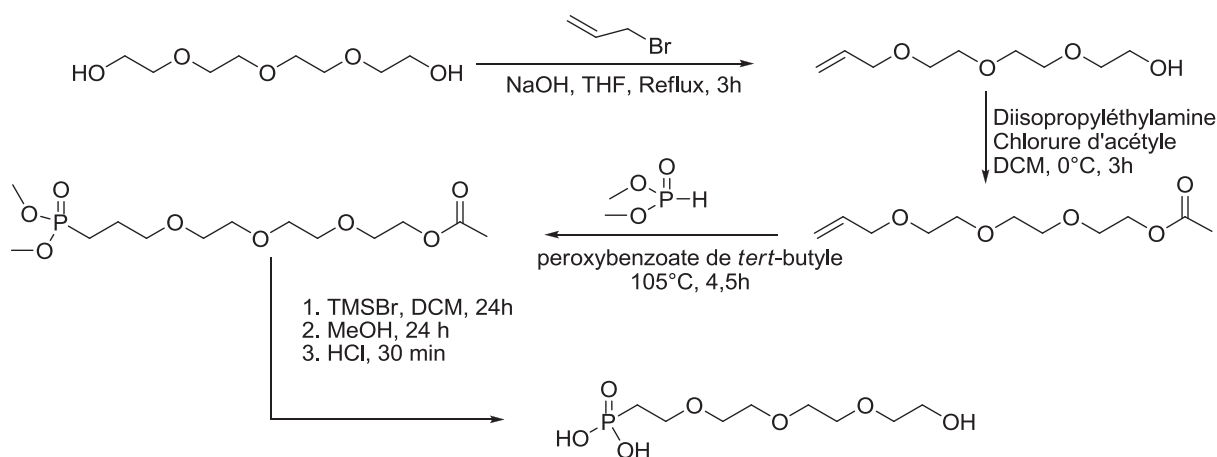


Schéma II-3. Synthèse d'un tétraoxyde d'éthylène à extrémité acide phosphonique par addition radicalaire.¹⁵

L'équipe de Riffle¹⁶ a proposé la synthèse d'un POE à extrémité acide phosphonique par addition de Michael entre un POE modifié par une extrémité chlorure d'ammonium de $\overline{M}_n = 8\ 300$ g/mole et un vinyl diéthyl phosphate (Schéma II-4). La conversion, calculée à partir de la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ^1H), est de 100%. Ils ont montré que ce

POE à extrémité acide phosphonique présentait une aptitude supérieure à la stabilisation de nanoparticules d'oxyde de fer dans le milieu physiologique que leurs homologues à extrémité carboxylate ou ammonium.

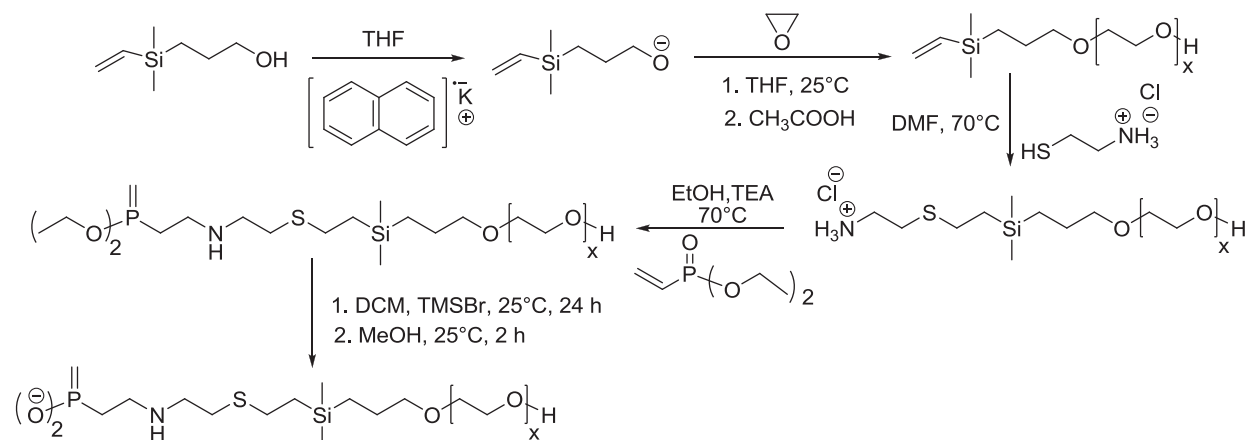


Schéma II-4. Synthèse d'un POE à extrémité acide phosphonique par addition de Michael.¹⁶

Mosquet *et al.*¹⁷ et Shephard *et al.*³ ont synthétisé des POEs à fonctionnalité phosphonate par la réaction de Moedritzer-Irani (Schéma II-5).¹⁸ Cette synthèse a été réalisée à partir d'un POE à extrémité amine de $\overline{M}_n = 550$ g/mol. Ces polymères ont été utilisés comme stabilisants stériques de suspensions colloïdales¹⁵ et pour le recouvrement de nanoparticules d'oxydes métalliques.^{2-4,14}

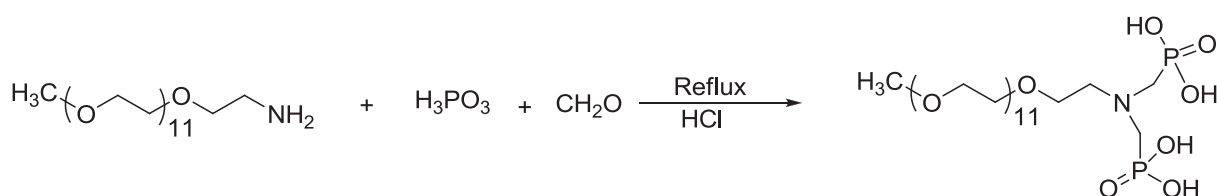


Schéma II-5. Synthèse d'un POE à extrémité acide phosphonique par réaction de Moedritzer-Irani.¹⁸

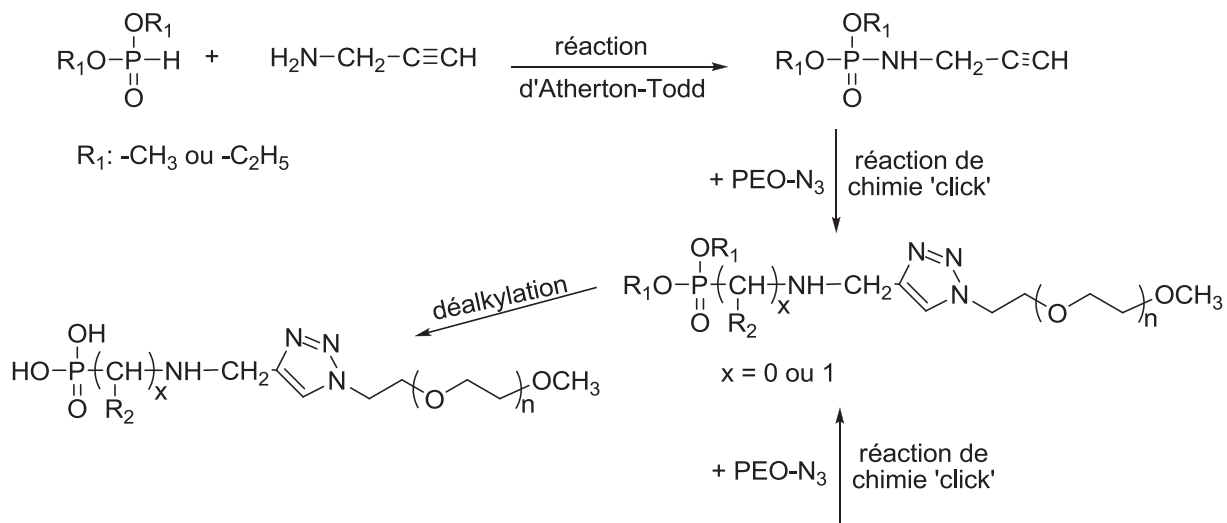
Pour notre part, nous avons étudié deux stratégies de synthèse de POEs à extrémité acide phosphonique* (Schéma II-6). La 1^{ère} approche a consisté à modifier l'hydrogénophosphate de di(m)éthyle pour ancrer un groupement alcyne par une réaction d'Atherton-Todd suivie d'une réaction de chimie 'click' pour ancrer un POE commercial (Schéma II-6, stratégie 1). Le POE commercial choisi dans un 1^{er} temps est un POE de masse $\overline{M}_n = 2\ 000$ g/mol, connu pour ses propriétés de furtivité.¹⁹

* Une partie de ce travail a été publiée dans *J. Polym. Sci.; Part A: Polym. Chem.* **2013**, *51*, 415-423.

La 2^{ème} approche combine les réactions de Kabachnik-Fields et de chimie 'click'. La réaction de Kabachnik-Fields conduit à un α -aminophosphonate à partir d'une amine, ici la *N*-propargylamine qui permet d'introduire le groupement alcyne, et d'un aldéhyde (Schéma II-6, stratégie 2). Selon la nature de l'aldéhyde, cette stratégie permet, outre l'ancrage d'une fonctionnalité alcyne, de pouvoir disposer d'un deuxième site fonctionnel orthogonal, réactif vis-à-vis de biomolécules. Le choix s'est porté sur la fonctionnalité furane en raison de son aptitude à réagir, selon une réaction de cycloaddition [4+2] de Diels-Alder, avec des biomolécules à extrémité maléimide.^{20,21} De plus, cette réaction a la particularité d'être thermoréversible,²² ce qui ouvre des perspectives pour la libération contrôlée de substances actives.²³

Cette 2^{ème} approche a tout d'abord été étudiée à partir du benzaldéhyde et d'un POE de masse $\overline{M}_n = 2\ 000$ g/mol puis a ensuite été étendue à des furaldéhydes : le 2- et le 3-carboxaldéhyde furane en vue d'étudier l'influence éventuelle de la position du site d'ancrage du groupement furane sur son aptitude à subir une réaction de Diels-Alder, qui fera l'objet du chapitre III. La dernière étape consiste en une déalkylation de l'extrémité phosphonate pour accéder à des POEs à fonctionnalité acide phosphonique (Schéma II-6).

Stratégie 1



Stratégie 2

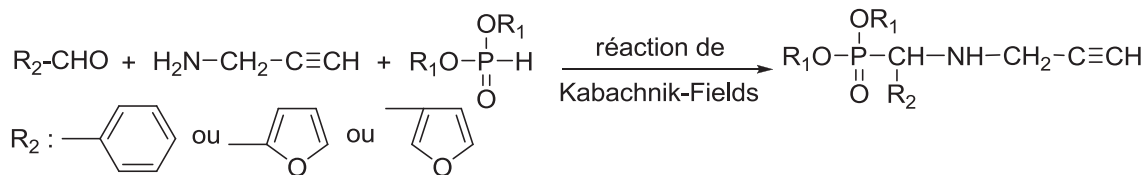


Schéma II-6. Stratégie générale de synthèse de POEs à extrémité acide phosphonique.

La synthèse de POEs à extrémité acide phosphonique a tout d'abord été réalisée par la combinaison des réactions d'Atherton-Todd et de chimie 'click'.

I- Synthèse de poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité phosphonate par combinaison des réactions d'Atherton-Todd et de chimie 'click'

La fonctionnalisation d'un POE par un groupement phosphonate a été réalisée en deux étapes. Dans un 1^{er} temps, les hydrogénophosphonates de diméthyle et de diéthyle ont été fonctionnalisés par un groupement alcyne par une réaction d'Atherton-Todd avec la *N*-propargylamine. Les *N*-di(m)éthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amines obtenues ont été couplées à un azoture de POE par une réaction de chimie 'click'.

I-1. Rappels bibliographiques sur la réaction d'Atherton-Todd

La réaction d'Atherton-Todd est une réaction classique de la chimie des composés organophosphorés.^{24,25} Cette réaction 'one pot'²⁶ a été décrite pour la première fois en 1945 par Atherton, Openshaw et Todd qui ont réalisé la transformation d'hydrogénophosphonates de dialkyle en phosphoramides par des amines en présence de tétrachlorure de carbone et d'une base, telle la triéthylamine (Schéma II-7).^{27,28}

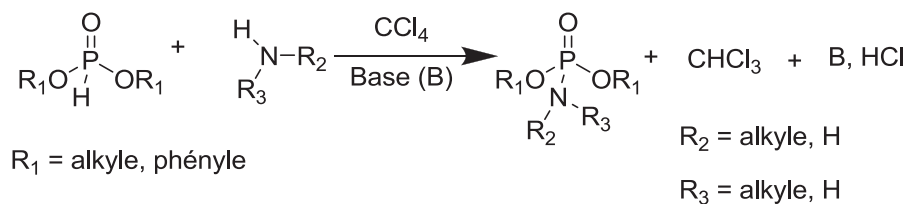


Schéma II-7. Schéma réactionnel général de la réaction d'Atherton-Todd.

Le tétrachlorure de carbone peut être remplacé par d'autres polyhalogénoalcanes tels que le bromotrichlorométhane ou l'iodotrichlorométhane. Parmi les composés polyhalogénés, le bromotrichlorométhane s'est avéré le plus efficace. Par contre, la substitution par du fluor dans les composés polyhalogénés conduit à un effet opposé.²⁷ Dans le cas des hydrogénophosphonates de dialkyle stériquement encombrés comme l'hydrogénophosphonate de di-*tert*-butyle, la phosphorylation n'est possible qu'en présence de tétrabromure de carbone.²⁹

Des études ont également montré la nécessité d'effectuer la réaction en milieu basique.³⁰ En effet, la réaction entre le tétrachlorure de carbone, la triéthylamine et l'hydrogénophosphonate de

dialkyle a conduit à l'intermédiaire chlorophosphate de dialkyle $(RO)_2P(O)-Cl$ très réactif,^{31,32} identifié par spectroscopie RMN du phosphore (^{31}P),³³ dont l'instabilité augmente en milieu acide.

Le mécanisme réactionnel, proposé par l'équipe d'Atherton²⁷, a été confirmé quelques années plus tard suite à une étude théorique *ab initio* (Schéma II-8) réalisée par Georgiev *et al.*³⁴

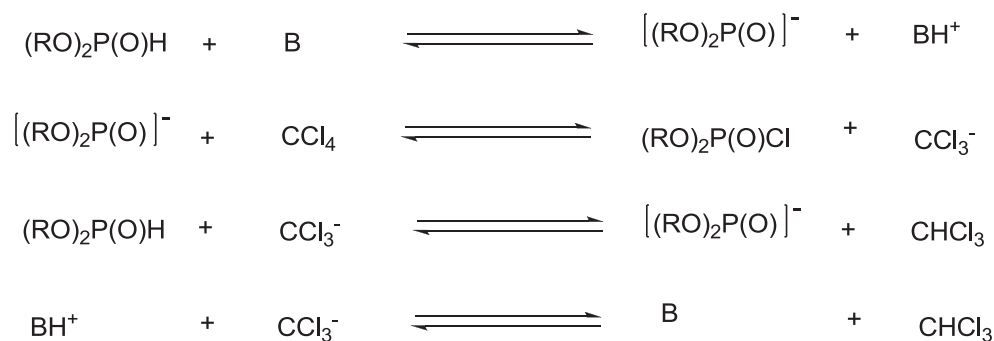


Schéma II-8. Mécanisme général de la réaction d'Atherton-Todd.²⁷

Des études complémentaires ont montré que la réaction d'Atherton-Todd pouvait être réalisée en système biphasique à l'aide d'un catalyseur de transfert de phase, tel que les sels d'ammonium.³² Wang *et al.*²⁵ ont indiqué que la réaction d'Atherton-Todd peut aussi avoir lieu en présence d'un alcool tel que le méthanol.

Cette réaction a également été utilisée dans le domaine de la chimie des polymères. Brosse *et al.*³⁵ ont été les premiers à rapporter la modification chimique *via* la réaction d'Atherton-Todd d'un poly(propylène H-phosphonate) pour fixer des amines pharmacologiquement actives. Cette stratégie³⁶ a également été appliquée pour fixer une amine pharmacologiquement active sur un polymère biodégradable, le poly(tétraoxyde d'éthylène H-phosphonate) avec un taux de fonctionnalisation de 78% (Schéma II-9).

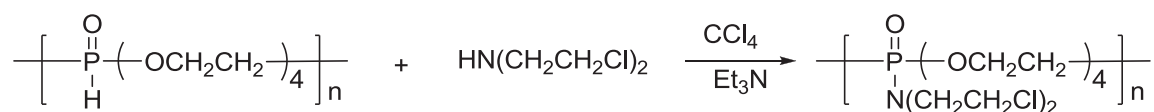


Schéma II-9. Réaction d'Atherton-Todd entre la bis(2-chloroéthyl)amine et le poly(tétraoxyde d'éthylène H-phosphonate).³⁶

En 2002, Georgieva *et al.*³⁷ ont synthétisé des polyphosphoesters à partir de poly(oxyde d'éthylène H-phosphonate)s de $\overline{M}_n = 1\ 900$ et $4\ 700$ g/mol par réaction d'Atherton-Todd avec le méthanol (Schéma II-10). Les groupements méthoxy ont ensuite subi une réaction de

déalkylation pour immobiliser la cystéamine par liaison ionique avec un taux de fonctionnalisation compris entre 24 et 99%. Leur efficacité en tant qu'agent de radioprotection a été démontrée et dépend à la fois de la longueur du squelette polymère et du taux de fonctionnalisation.

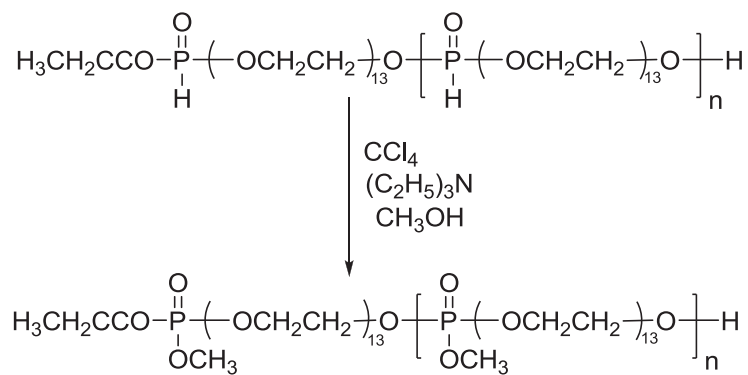


Schéma II-10. Réaction d'Atherton-Todd en présence de méthanol.³⁷

En 2011, Oussadi *et al.*³⁸ ont réalisé la synthèse d'un poly(oxyéthylène phosphonate)-g-poly(oxyde d'éthylène) selon la stratégie « grafting onto » par combinaison des réactions d'Atherton-Todd et de chimie 'click' (Schéma II-11). Un poly(tétraoxyéthylène H-phosphonate) a tout d'abord été fonctionnalisé par des groupements *N*-propargylamine par réaction d'Atherton-Todd avec une conversion de 96% puis les groupements alcyne du poly(oxyéthylène phosphonate) obtenu ont été engagés dans une réaction de chimie 'click' avec l'azoture de POE de masse $\overline{M}_n = 2\,000$ g/mol. La conversion, déterminée par RMN ¹H, a été estimée à 85%.

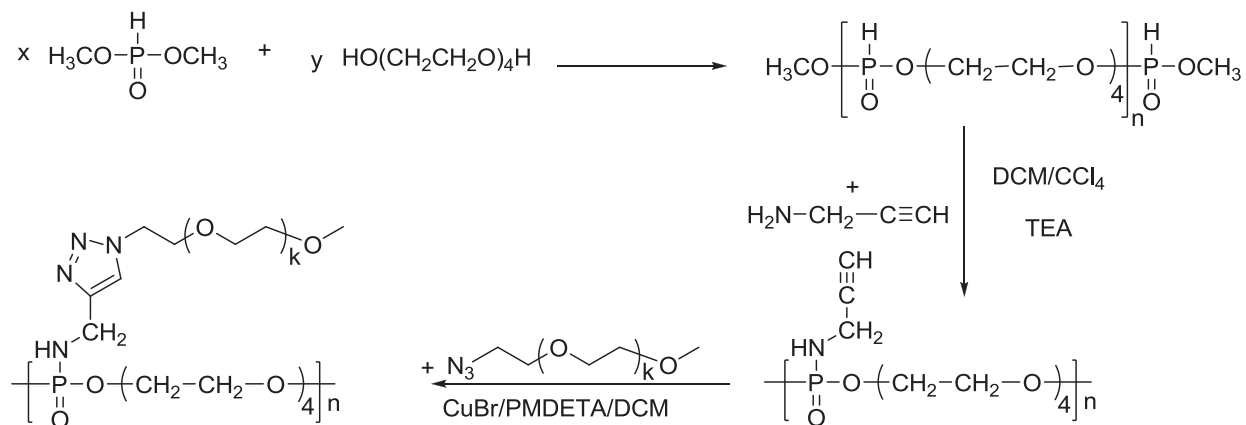


Schéma II-11. Synthèse d'un poly(oxyéthylène phosphonate)-g-poly(oxyde d'éthylène) selon la stratégie "grafting onto" par combinaison des réactions d'Atherton-Todd et de chimie "click".

I-2. Synthèse des *N*-di(m)éthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amines

La synthèse de la *N*-diéthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine **1**, décrite par Zwierzak³⁹, a été réalisée selon la méthode d'Atherton-Todd^{28,29} (Schéma II-12) en utilisant des conditions opératoires préalablement mises au point au Laboratoire.³⁸

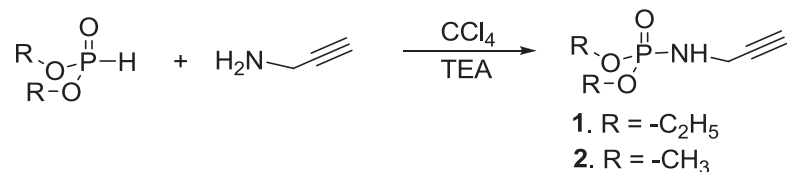


Schéma II-12. Synthèse des *N*-di(m)éthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amines.

En fin de réaction, **1** a été obtenu avec un rendement de 55% après distillation ($T_{\text{eb},0,2 \text{ Torr}} = 71^\circ\text{C}$; litt.³⁹ : $T_{\text{eb},0,3 \text{ Torr}} = 74 - 75^\circ\text{C}$). L'analyse du spectre RMN ¹H de **1** (Figure II-1) montre la disparition du signal caractéristique du groupement P-H de l'hydrogénophosphonate de diéthyle à 6,85 ppm et l'apparition du signal du groupement CH₂ en α de NH à 3,68 ppm. De plus, le rapport des intégrations entre le groupement méthyle (a, Figure II-1), le groupement CH₂ en α de NH (d, Figure II-1) et l'hydrogène de l'alcyne (e, Figure II-1) de 6,00:2,03:0,95 montre que la réaction est effective. Enfin, la spectrométrie de masse haute résolution (SM-HR) confirme l'obtention du produit pur ($[\text{M}+\text{H}^+]_{\text{obt.}} = 192,0790$; $[\text{M}+\text{H}^+]_{\text{calc.}} = 192,0790$).

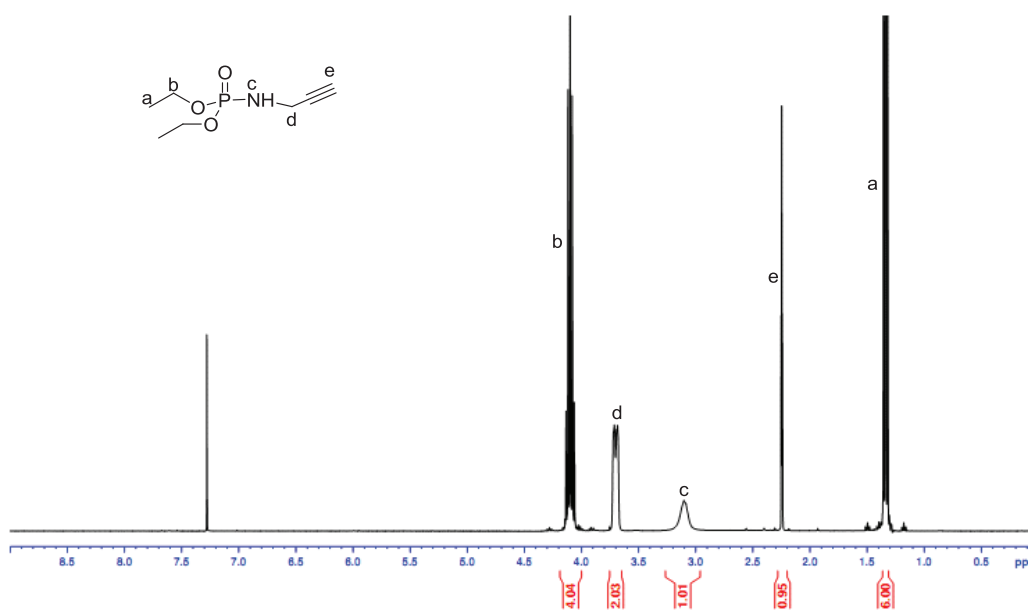


Figure II-1. Spectre RMN ¹H de la *N*-diéthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine **1** ; solvant : CDCl₃.

Cette procédure a également été utilisée pour synthétiser la *N*-diméthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine **2**, non décrite dans la littérature, car l'extrémité phosphonate de diméthyle est réputée plus sensible à l'hydrolyse que son homologue diéthyle.⁴⁰ En fin de réaction, le solide obtenu a été purifié par recristallisation dans le mélange de solvants dichlorométhane (DCM)/n-hexane (v/v 1/1), conduisant à une poudre beige avec un rendement final de 22%. Le spectre RMN ¹H de **2** (Figure II-2) montre la disparition totale du signal à 5,52 ppm caractéristique du proton du groupement P-H de l'hydrogénophosphonate de diméthyle et l'apparition des signaux à 3,33 ppm (b, Figure II-2) et à 2,29 ppm (d, Figure II-2) caractéristiques des protons N-H et ≡CH, respectivement, avec un rapport des intégrations de 1,01:1,00.

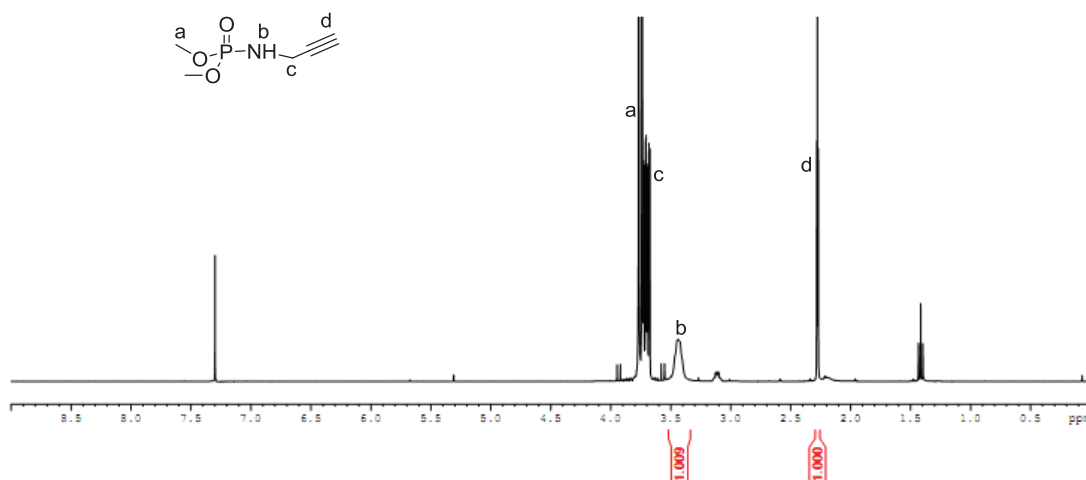


Figure II-2. Spectre RMN ¹H de la *N*-diméthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine **2** ; solvant : CDCl₃.

Par ailleurs, la SM-HR confirme l'obtention du produit **2** avec une masse obtenue [M+H⁺] de 164,0480 ([M+H⁺]_{calc.} = 164,0477).

I-3. Réaction de chimie 'click' entre l'azoture de poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 2 000 et la *N*-di(m)éthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine

L'ancrage de l'extrémité phosphonate a été réalisé entre les *N*-di(m)éthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amines **1** et **2** et l'azoture de POE de $\overline{M}_n = 2\,000$ g/mol par une réaction de chimie 'click' (Schéma II-13). L'azoture de POE de $\overline{M}_n = 2\,000$ g/mol a été synthétisé selon une procédure classique⁴¹ par mésylation du poly(oxyde d'éthylène)

monométhyl éther à extrémité hydroxyle, suivie d'une substitution nucléophile avec l'azoture de sodium. Sa pureté a été confirmée par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Partie expérimentale, Figure PE-1).

La réaction de chimie 'click' a été réalisée dans le *N,N*-diméthylformamide (DMF) à température ambiante (TA) en utilisant un rapport stœchiométrique entre l'azoture de POE et les groupements alcyne de **1** ou **2** en présence du système catalytique Cu(I)Br/*N,N,N',N',N''*-pentaméthyl-diéthyl-étri-amine (PMDETA) pendant 24 h.⁴² En fin de réaction, le cuivre a été éliminé par extraction avec une solution aqueuse de sel de sodium de l'acide éthylène diamine tétraacétique (0,03 mol/L). Le polymère pur, obtenu après précipitation dans l'éther diéthylique à froid, se présente sous forme d'un solide jaune qui a été analysé par analyse élémentaire pour déterminer la teneur en cuivre restant dans le produit final ($m_{Cu} < 50$ ppm).

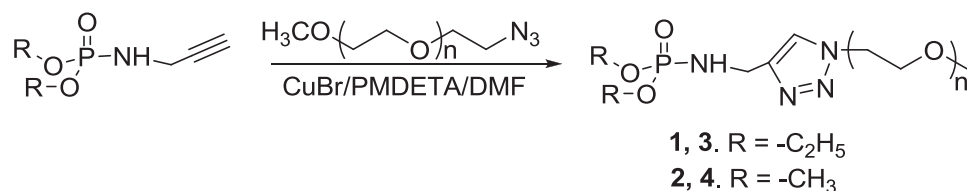


Schéma II-13. Réaction de chimie 'click' entre l'azoture de poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 2 000 et la di(m)éthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine.

La réaction a tout d'abord été réalisée à partir de **1**. Les spectres RMN ¹H de **1** (Figure II-1) et du POE à extrémité diéthylphosphoryle **3** obtenu (Figure II-3) montrent le déplacement du proton du groupement alcyne de 2,25 ppm (e, Figure II-1) à 7,70 ppm (e, Figure II-3) caractéristique du proton du cycle triazole ainsi que le déplacement du groupement méthylène directement lié à la fonctionnalité alcyne de 3,68 ppm (d, Figure II-1) à 4,22 ppm (d, Figure II-3) caractéristique des protons liés au cycle triazole, mettant en évidence que la réaction de chimie 'click' a eu lieu. Le rapport des intégrations du pic triazole (e, Figure II-3) et des protons du groupement méthyle de l'extrémité diéthylphosphoryle (a, Figure II-3) est de 6:0,96, ce qui atteste que la réaction de 'click' chemistry est quantitative. Le rendement global de la réaction est de 70%.

De plus, l'analyse par spectrométrie de masse MALDI-TOF du POE à fonctionnalité diéthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine **3** (Figure II-4) montre une seule série avec un écart moyen entre chaque pic de 44,04 caractéristique de l'unité constitutive du POE ($M_{calc.} = 44,0262$). D'autre part, le pic $m/z = 1900,15$ correspond au POE à extrémité phosphoramidate avec 37 unités oxyde d'éthylène contenant, outre l'atome de sodium responsable de l'ionisation, d'une

part, le groupement monométhyl éther et, d'autre part, l'extrémité diéthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine ($m/z_{\text{calc.}} = 1900,06$).

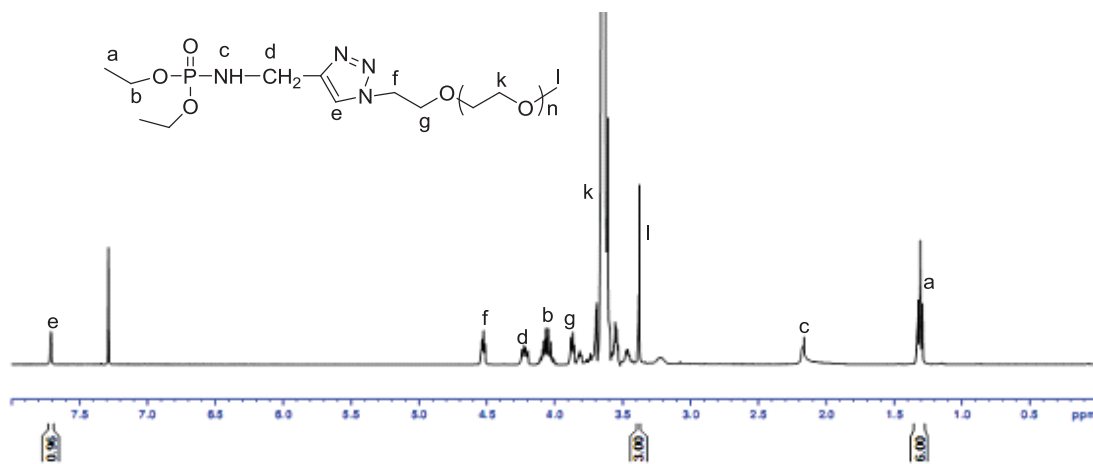


Figure II-3. Spectre RMN ^1H de la réaction de chimie 'click' entre l'azoture de POE 2 000 et la diéthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine **1** ; solvant : CDCl_3 .

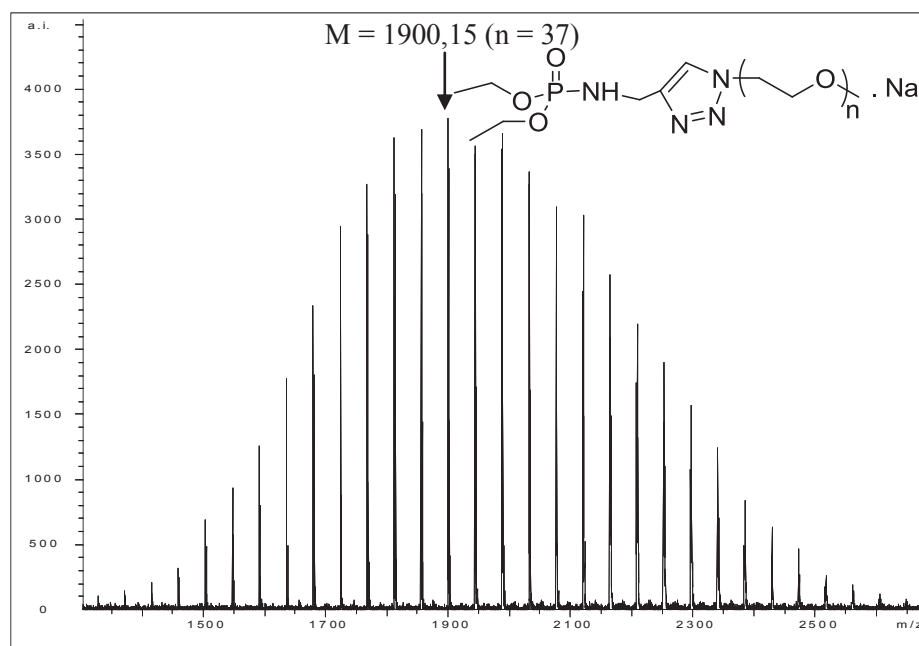


Figure II-4. Spectre de masse MALDI-TOF de la réaction de chimie 'click' entre l'azoture de POE 2 000 et la diéthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine **1** ; matrice : 2-[(2*E*)-3-(4-*tert*-butylphényl)-2-méthylprop-2-énylidène]malononitrile (DCTB), trifluoroacétate de sodium (NaTFA).

La réaction a ensuite été réalisée à partir de la *N*-diméthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine **2** dans les mêmes conditions opératoires que pour **1**. Le spectre RMN ^1H de **4** (Figure II-5) montre un singulet à 7,70 ppm caractéristique du proton du cycle triazole, mettant en évidence que la réaction a bien eu lieu. Par ailleurs, le rapport des intégrations entre les pics du proton du cycle triazole (e, Figure II-5) et des protons du groupement méthyle du POE (l, Figure II-5) de 3,00:0,96 conduit à une conversion de 96% pour un rendement de 72%.

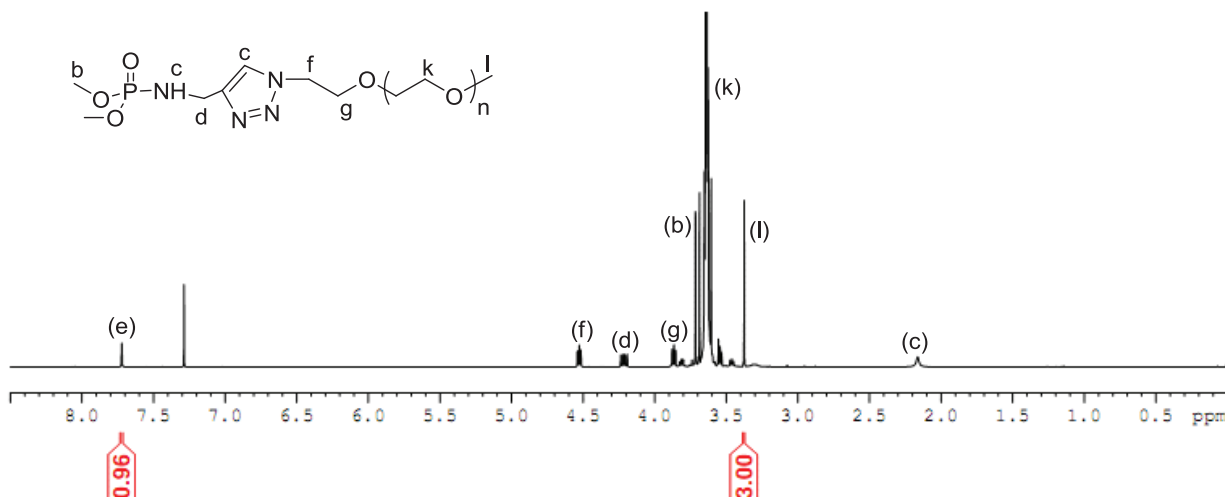


Figure II-5. Spectre RMN ^1H de la réaction de chimie ‘click’ entre l’azoture de POE 2000 et la diméthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine **2** ; solvant : CDCl_3 .

L’analyse par spectrométrie de masse MALDI-TOF du POE à fonctionnalité diméthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine **4** conduit à un spectre de masse (Figure II-6) avec un écart moyen entre chaque pic de 44,02 caractéristique de l’unité constitutive du poly(oxyde d’éthylène) ($M_{\text{calc.}} = 44,0262$). D’autre part, la valeur $m/z = 1828,13$ correspond au poly(oxyde d’éthylène) à extrémité phosphoramidate avec 36 unités oxyde d’éthylène contenant, outre l’atome de sodium responsable de l’ionisation, d’une part, le groupement monométhyl éther et, d’autre part, l’extrémité diméthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine ($m/z_{\text{calc.}} = 1828,00$).

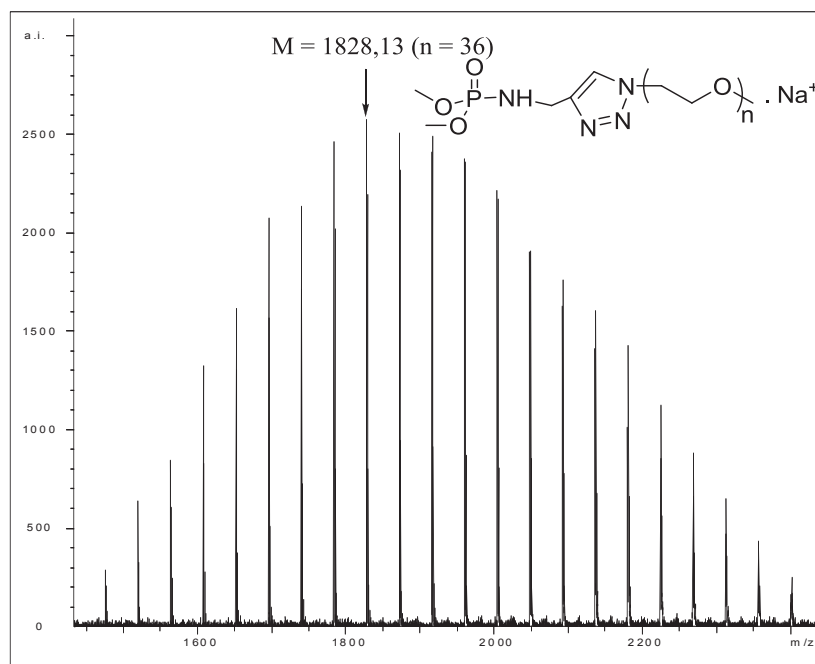


Figure II-6. Spectre de masse MALDI-TOF de la réaction de chimie «click» entre l'azoture de POE 2 000 et la diméthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine **2** ; matrice : DCTB, NaTFA.

I-4. Déalkylation du poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther à extrémité di(m)éthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine

La dernière étape pour obtenir un POE à extrémité acide phosphonique consiste à réaliser la déprotection de la fonction phosphonate. Elle a été réalisée par déalkylation, dont les conditions de réaction sont plus douces qu'une hydrolyse.⁴³ La déalkylation a été effectuée à partir de **3** et **4** en deux étapes sans isoler le produit intermédiaire.⁴³ La 1^{ère} étape se déroule à TA pendant 24 h en utilisant du bromure de triméthylsilyle (TMSBr) dans le DCM. La 2^{ème} étape consiste en une éthanolyse effectuée à TA pendant 24 h (Schéma II-14).



Schéma II-14. Réaction du POE à extrémité diméthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine avec TMSBr.

A titre d'exemple, l'analyse RMN ^{31}P montre le déplacement du signal à 10,86 ppm caractéristique du phosphore du POE à extrémité diméthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine **4** (Figure II-7A) à 1,22 ppm (Figure II-7B), ce qui est en accord avec les valeurs rapportées dans la littérature pour des acides α -aminophosphoniques.⁴⁴ La spectroscopie RMN ^1H confirme également la disparition totale du signal à 3,72 ppm caractéristique des CH_3 du groupement diméthylphosphonate et un déplacement du signal du groupement CH_2 lié au groupe phosphoramidate de 4,22 à 4,37 ppm.

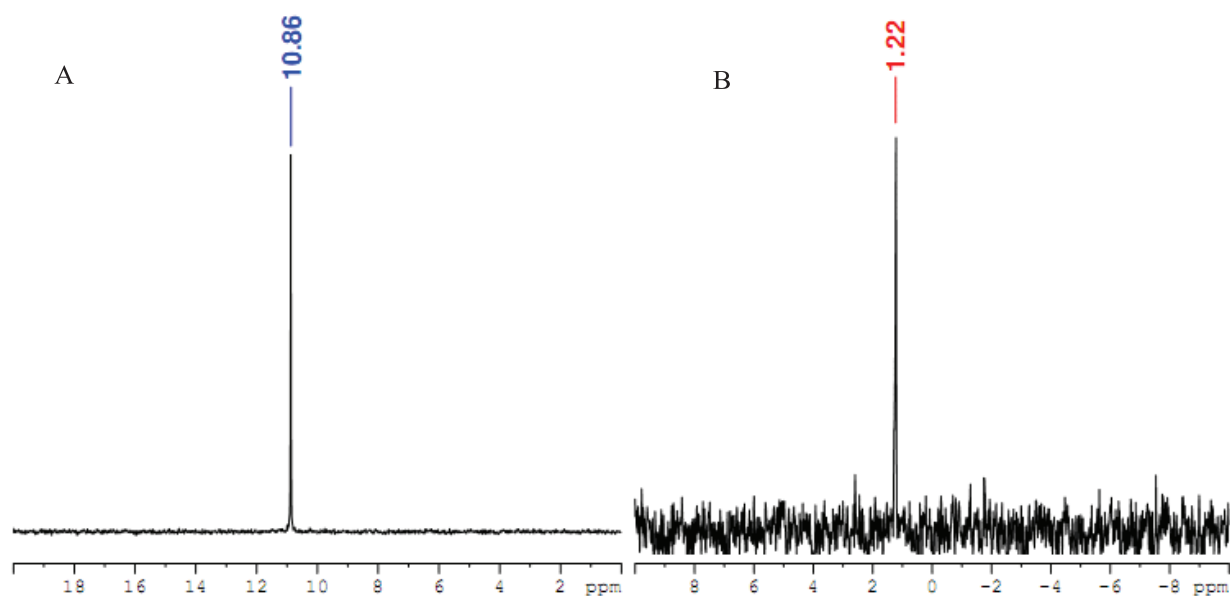


Figure II-7. Spectres RMN ^{31}P du POE à extrémité diméthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine **4** (A) avant déalkylation ; solvant : CDCl_3 , et (B) après déalkylation ; solvant : CD_3OD .

L'analyse MALDI-TOF de **4** (Figure II-8) montre une seule population avec un écart moyen entre chaque pic de 44,10 caractéristique de l'unité constitutive du poly(oxyde d'éthylène) ($M_{\text{calc.}} = 44,0262$). Toutefois, le pic à $m/z = 1956,28$ correspond au polymère avec 41 unités oxyde d'éthylène contenant, outre l'atome de potassium responsable de l'ionisation, d'une part, le groupement monométhyl éther et, d'autre part, l'extrémité triazole aminométhyle ($m/z_{\text{calc.}} = 1956,11$). La réaction de déalkylation, effectuée en présence de TMSBr , a donc entraîné la rupture de la liaison P-N du POE à extrémité diméthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine **4** (Schéma II-15). Ce phénomène a déjà été rapporté dans la littérature dans le cas de phosphoramidates obtenus à partir d'amines secondaires.⁴⁵



Schéma II-15. Réaction du POE à extrémité diméthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine avec TMSBr.

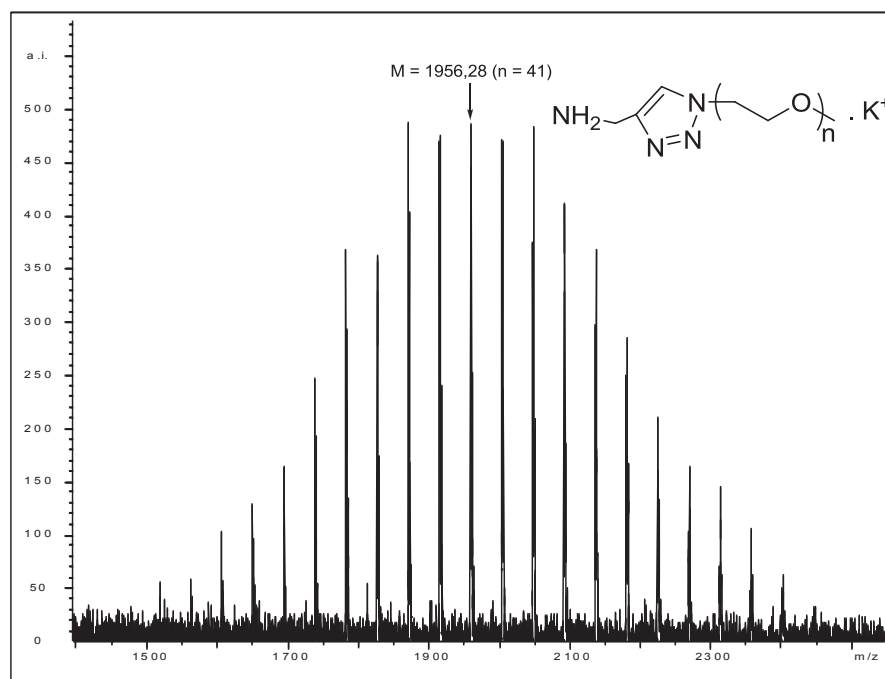


Figure II-8. Spectre de masse MALDI-TOF du POE 2 000 à extrémité diméthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine **4** après déalkylation ; matrice : acide α -cyano-4-hydroxycinnamique (HCCA), trifluoroacétate de potassium (KTFA).

I-5. Conclusion

La synthèse de poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité acide phosphonique a été étudiée selon une stratégie faisant intervenir :

- une réaction d'Atherton-Todd qui permet d'introduire la fonction alcyne entre un hydrogénophosphate de di(m)éthyle et la *N*-propargylamine,

- une réaction de chimie 'click' pour conjuguer le groupement alcyne de la di(m)éthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine et le groupement azoture du poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 2 000,
- une réaction de déalkylation.

Tout d'abord, la diéthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine et la diméthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine, non décrite dans la littérature, ont été synthétisées avec des rendements de 55 % et 22 %, respectivement. La réaction de chimie 'click' entre la di(m)éthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine et l'azoture du poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 2 000, réalisée en présence du système catalytique Cu(I)Br/PMDETA dans le DMF a permis d'accéder à des poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité phosphonate de di(m)éthyle, comme l'attestent les analyses MALDI-TOF. Par contre, la réaction de déalkylation pour générer l'extrémité acide phosphonique effectuée en présence de TMSBr a entraîné la rupture de la liaison P-N et a conduit à des poly(oxyde éthylène)s à extrémité triazole aminoalkyle. Ces résultats nous ont amené à proposer une nouvelle stratégie pour préparer des poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité acide phosphonique en introduisant une liaison P-C plus résistante entre l'extrémité phosphoryle et la chaîne poly(oxyde d'éthylène) en utilisant la réaction de Kabachnik-Fields.^{46,47}

II- Synthèse de poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité acide phosphonique par combinaison des réactions de Kabachnik-Fields et de chimie 'click'

La fonctionnalisation d'un POE commercial par un groupement acide phosphonique par combinaison d'une réaction de Kabachnik-Fields et d'une réaction de chimie 'click' permet de remplacer la liaison P-N sensible à la déalkylation par une liaison P-C plus résistante et d'introduire un groupement fonctionnel supplémentaire, site potentiel d'ancrage de biomolécules (Schéma II-16).

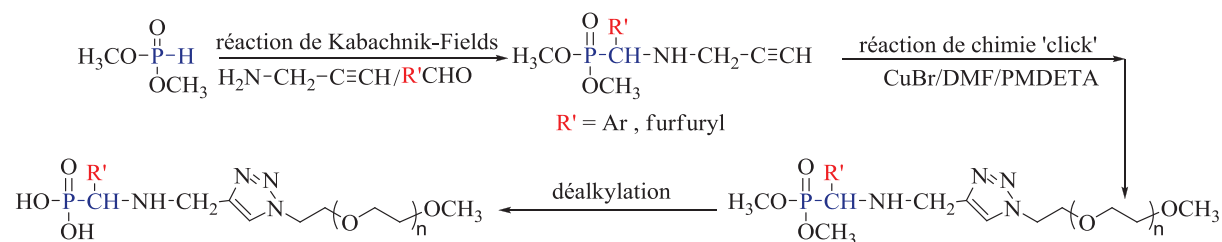


Schéma II-16. Stratégie générale de synthèse de POEs à extrémité acide phosphonique par combinaison des réactions de Kabachnik-Fields et de chimie 'click'.

La synthèse d' α -aminophosphonates a tout d'abord été étudiée à partir d'une molécule modèle, le benzaldéhyde, puis à partir de carboxaldéhyde furanes, dont la fonctionnalité furane pourra ensuite être mobilisée pour ancrer des (bio)molécules à extrémité maléimide selon la réaction de chimie 'click' de Diels-Alder.^{20,21} Les 2- et 3-carboxaldéhyde furanes ont été utilisés afin de déterminer l'influence de la position du site d'ancrage du POE sur l'aptitude du furane à subir une réaction de Diels-Alder.

II-1. Rappels bibliographiques sur la réaction de Kabachnik-Fields

La synthèse de dérivés α -aminophosphonate a suscité un intérêt croissant en chimie organique et médicinale en raison de leur activité biologique et pharmacologique.⁴⁸ De nombreuses stratégies ont été développées pour synthétiser des α -aminophosphonates.^{46,47,49,50,51} Parmi ces stratégies, la réaction de Kabachnik-Fields⁵¹ constitue une méthode de choix pour la synthèse d' α -aminophosphonates. Cette réaction, indépendamment découverte par Kabachnik et Medved⁴⁶ et par Fields⁴⁷ en 1952, est une réaction à trois composants s'effectuant en 'one pot' (Schéma II-17). Elle est réalisée à partir d'une amine, d'un dérivé carbonylé (aldéhyde ou cétone) et d'un dérivé hydrophosphoryle. Cette réaction peut être conduite en présence ou en absence de solvant et de catalyseur et le dérivé hydrophosphoryle le plus utilisé est un hydrogénophosphonate de dialkyle.^{46,47,52,53,54,55}

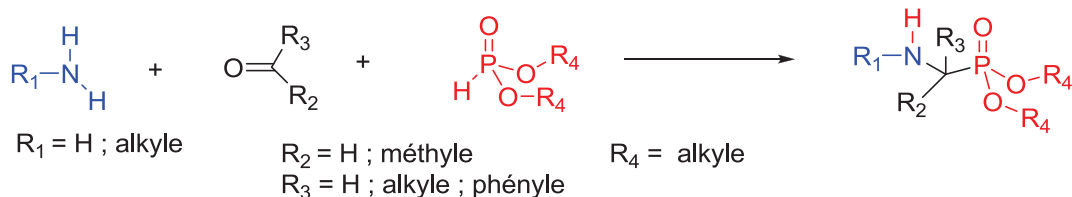


Schéma II-17. Schéma général de la réaction de Kabachnik-Fields.

Bien que plusieurs mécanismes aient été proposés, le mécanisme réactionnel de la réaction de Kabachnik-Fields n'est, à l'heure actuelle, pas complètement élucidé.⁵¹ Il semble que le mécanisme dépende de la nature des réactifs.^{49,56} Deux mécanismes généraux ont été proposés (Schéma II-18) qui se distinguent par l'ordre dans lequel se font les deux étapes. La proposition A (Schéma II-18) consiste en une condensation de l'amine sur le composé carbonyle suivie de l'hydrophosphorylation de l'imine intermédiaire pour obtenir l' α -aminophosphonate, cette deuxième étape correspondant à une réaction de Pudovik.⁵⁷ Dans la proposition B (Schéma II-18), l' α -aminophosphonate est formé par une hydroxyphosphorylation de

l'hydrogénophosphate de dialkyle sur le composé carbonylé, qui constitue une réaction d'Abramov,⁵⁸ suivie de l'amination de l'hydroxyphosphonate intermédiaire.

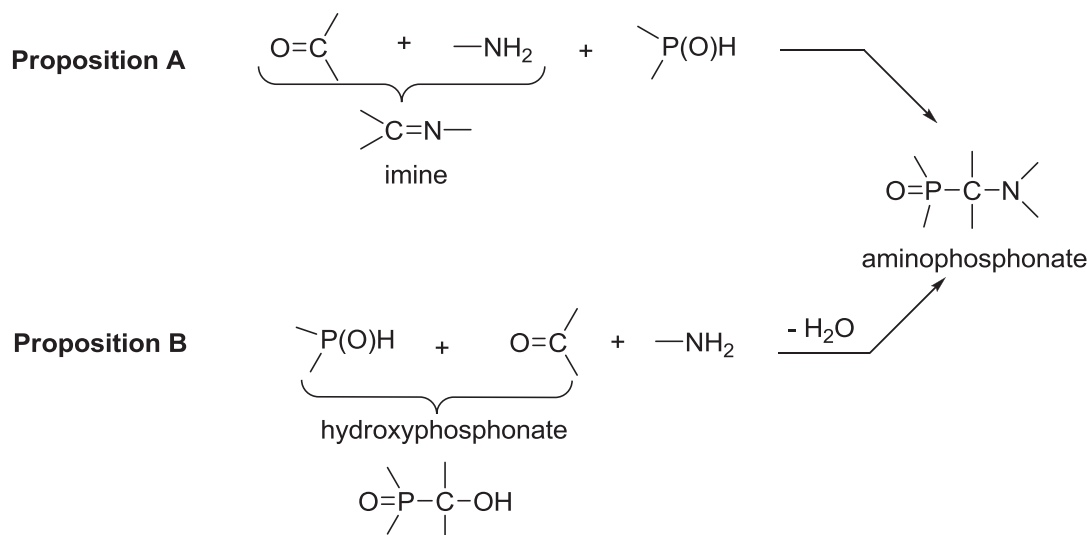


Schéma II-18. Propositions de mécanismes de la réaction de Kabachnik-Fields.⁵⁵

Gancarz⁵⁹ a expliqué que la présence d'un électrophile (le composé carbonylé) et de deux nucléophiles (une amine et un hydrogénophosphate de dialkyle) peut conduire à une compétition sur le centre électrophile. Cet auteur a étudié l'influence de la nature du dérivé carbonylé (pentanal, propanone, fluorénone et benzophénone) sur la réaction de Kabachnik-Fields effectuée en présence de *n*-butylamine et d'hydrogénophosphate de diéthyle. Il a montré, par des analyses RMN ¹H et ³¹P ainsi que par modélisation, que l'addition nucléophile de l'amine et la formation d'imine sont plus rapides que l'attaque nucléophile de l'hydrogénophosphate de diéthyle sur le composé carbonylé dans le cas du pentanal et de la propanone. Par contre, il a observé un comportement inverse dans le cas de la benzophénone et de la fluorénone. Outre les facteurs électroniques et stériques, Gancarz explique cette différence de comportement par le caractère acide dur des dérivés carbonylés aliphatiques qui réagissent préférentiellement sur l'amine de caractère base dure d'après la terminologie de Pearson.⁶⁰ Par contre, les dérivés carbonylés aromatiques sont des acides mous qui réagissent préférentiellement sur l'hydrogénophosphate de dialkyle qui est une base molle.^{50,59}

Bien que la réaction de Kabachnik-Fields ne nécessite pas de catalyseur, des réactions ont été conduites en présence de catalyseurs tels que le perchlorate de lithium,⁶¹ les triflates de lanthanide en présence du sulfate de magnésium,⁶² le trichlorure d'indium,⁵¹ le trichlorure

d'aluminium,⁶³ le pentachlorure de tantale associé à la silice SiO₂⁶⁴ et le diiodure de samarium⁶⁵ et ont permis d'améliorer le rendement de la réaction.

L'équipe de Szekrényi⁵⁴ a utilisé l'irradiation micro-ondes pour effectuer la condensation d'une amine primaire ou secondaire sur des dérivés carbonylés (aldéhyde ou cétone) et un hydrogénophosphonate de dialkyle ou l'hydrogénophosphonate de diphenyle en absence de catalyseur et de solvant (Schéma II-19). Les résultats obtenus montrent que la réaction est beaucoup plus rapide (20 minutes) qu'en solution (8 heures).

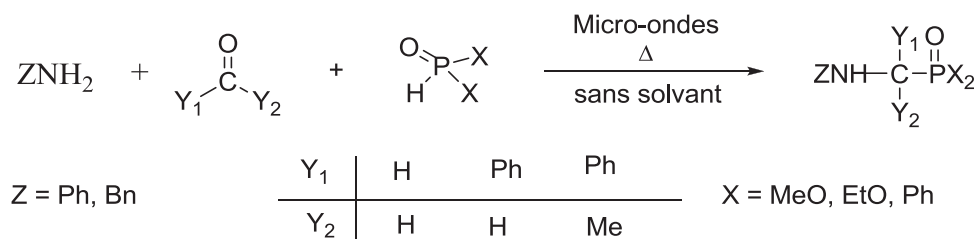


Schéma II-19. Synthèse d' α -aminophosphonates par irradiation micro-ondes.⁵⁴

La réaction de Kabachnik-Fields a également été utilisée en chimie des polymères. Trendafilova-Gercheva *et al.*⁶⁶ ont utilisé la réaction de Kabachnik-Fields pour effectuer la phosphorylation entre l'hydrogénophosphonate de diméthyle, le formaldéhyde et le copolymère poly(*N*-vinylpyrrolidone-*co*-vinylamine) (Schéma II-20). L'analyse élémentaire ainsi que les spectres RMN ¹H et infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) montrent l'obtention d'un mélange des deux produits A et B (Schéma II-20), issus de la mono- et de la diphosphorylation, respectivement.

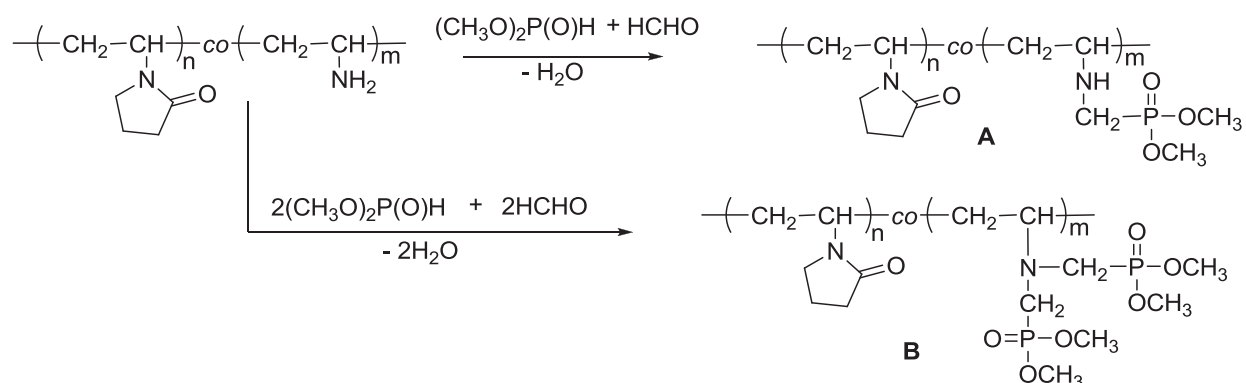


Schéma II-20. Synthèse d'un copolymère poly(*N*-vinylpyrrolidone-*co*-vinylamine) porteurs de groupements latéraux aminophosphonate par réaction de Kabachnik-Fields.

Ménard *et al.*⁶⁷ ont décrit la synthèse de résines contenant un acide α -aminoalkylphosphonique par modification d'une résine poly(aminométhylstyrène) en utilisant la réaction de Kabachnik-Fields à partir de l'hydrogénophosphonate de diéthyle suivie d'une hydrolyse ou par une addition directe de l'acide phosphoreux (Schéma II-21).

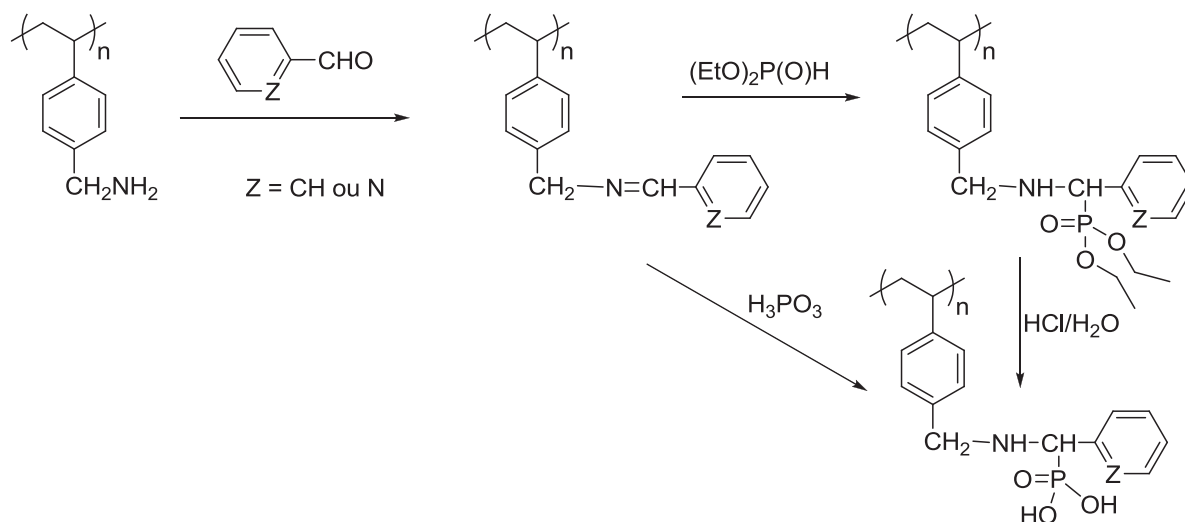


Schéma II-21. Synthèse de résines fonctionnalisées par des groupements acide α -aminoalkylphosphonique par réaction de Kabachnik-Fields.

II-2. Synthèse des α -aminophosphonates

La synthèse des α -aminophosphonates est réalisée par une réaction de Kabachnik-Fields^{46,47} en 2 étapes selon une procédure rapportée dans la littérature.⁶⁸

II-2.1. Synthèse du phényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle

La synthèse du phényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (**6**) a été effectuée en deux étapes selon le Schéma II-22. Dans la 1^{ère} étape, l'imine *N*-benzylidèneprop-2-yn-1-amine (**5**) a été synthétisée à partir du benzaldéhyde et de la *N*-propargylamine en présence de tamis moléculaire 4Å dans l'éther diéthylique à TA pendant 4 h. La *N*-benzylidèneprop-2-yn-1-amine a été obtenue avec un rendement de 77% (litt.⁶⁹ 85%) après distillation ($T_{\text{eb}0,2}^{\text{Torr}} = 48\text{ }^\circ\text{C}$) et se présente sous forme d'une huile incolore, qui a été caractérisée par spectroscopie RMN ^1H . On observe ainsi l'apparition d'un signal à 8,56 ppm caractéristique du proton de la fonction imine avec un rapport des intégrations entre les différents signaux de **5** en accord avec la structure attendue. De plus, la SM-HR confirme l'obtention du produit pur ($[\text{M}+\text{H}^+]_{\text{obt.}} = 144,0818$; $[\text{M}+\text{H}^+]_{\text{calc.}} = 144,0813$).

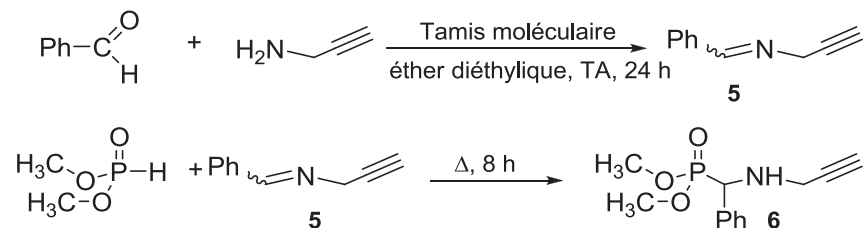


Schéma II-22. Synthèse du phényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle **6**.

Dans la deuxième étape, l'addition de l'hydrogénophosphonate de diméthyle sur la liaison C=N de l'imine est effectuée en absence de catalyseur et de solvant à 80°C pendant 8 h. Le phényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (**6**) a été obtenu, après purification par chromatographie sur colonne (acétate d'éthyle/acétonitrile : 80/20), avec un rendement de 85%. La structure de **6** a été confirmée par les spectroscopies FT-IR, RMN ¹H, du carbone (¹³C) et ³¹P et par SM-HR. L'analyse RMN ¹H de **6** (Figure II-9B) montre la disparition du pic à 8,56 ppm caractéristique du proton de la liaison CH=N de **5** (d, Figure II-9A) et l'apparition d'un nouveau pic à 4,39 ppm caractéristique du proton de la liaison CH(P) de **6** (d', Figure II-9B).

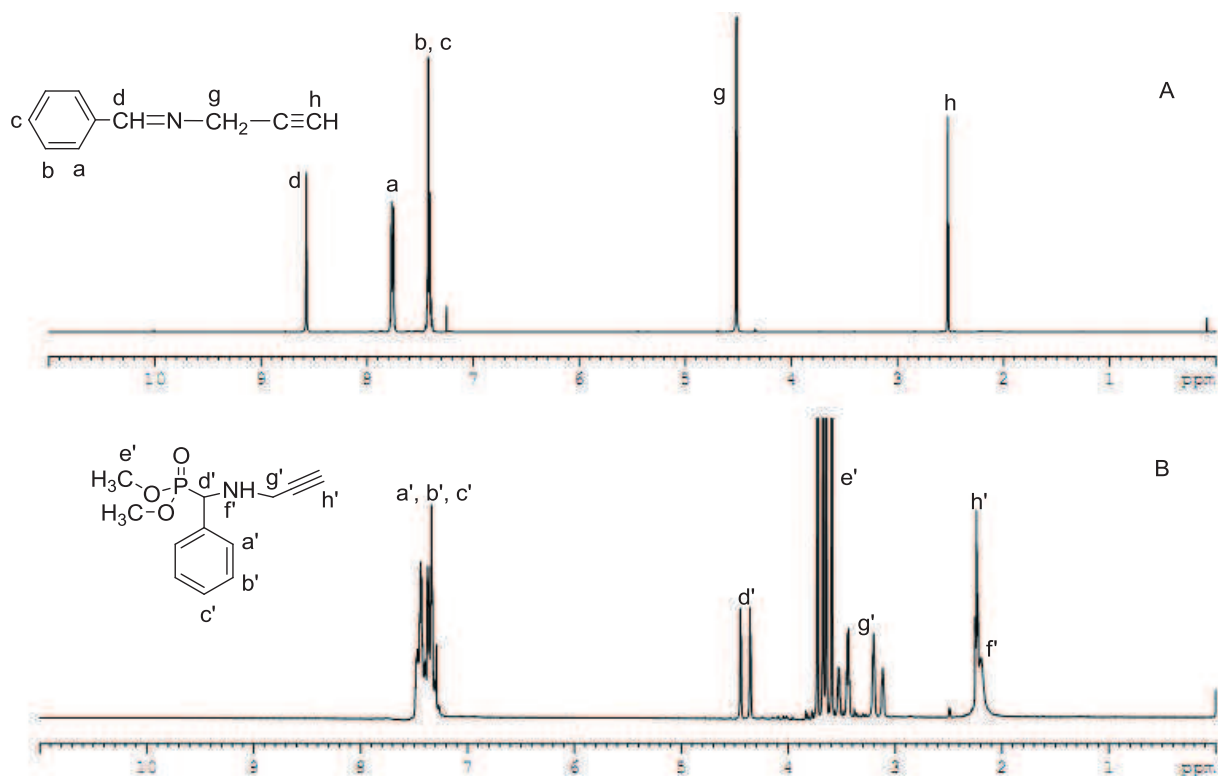


Figure II-9. Spectres RMN ¹H (A) du *N*-benzylidèneprop-2-yn-1-amine **5** et (B) du phényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle **6**; solvant : CDCl₃.

De plus, le spectre RMN ^{31}P de **6** (Figure II-10) montre l'apparition d'un singulet à 25,06 ppm, ce qui est en accord avec les valeurs rapportées dans la littérature pour des dérivés aminophosphonate.^{70,71,72} Le produit **6**, analysé par SM-HR, donne un pic unique à 253,0882 qui correspond à $[\text{M}+\text{H}^+]_{\text{calc.}} : 253,0868$.

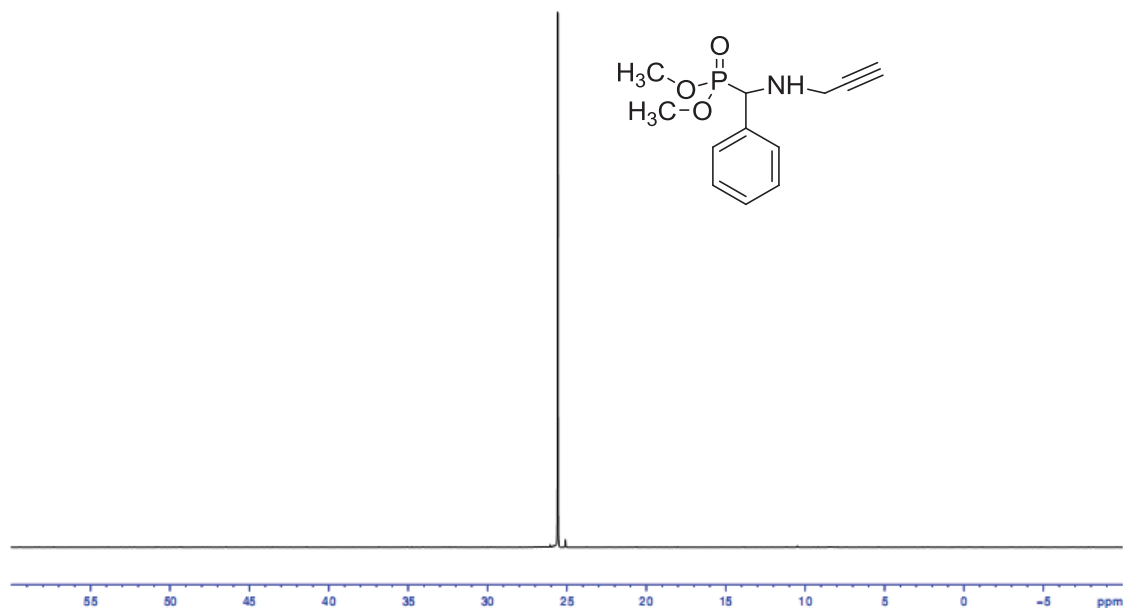


Figure II-10. Spectre RMN ^{31}P du phényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle **6** ; solvant : CDCl_3 .

Des tentatives de réaction de Kabachnik-Fields en 'one pot' ont été réalisées à 80°C pendant 8 h en absence de catalyseur et de solvant. Dans tous les cas, le solide rouge obtenu a été purifié par chromatographie sur colonne (acétate d'éthyle/acétonitrile : 80/20) avec un rendement n'excédant pas 10%. De même, les tentatives de synthèse directe de l'acide α -aminophosphonique à partir de l'acide phosphoreux ont échoué. Les synthèses des α -aminophosphonates par la réaction de Kabachnik-Fields ont, par conséquent, toutes été réalisées en deux étapes distinctes avec isolement de l'imine intermédiaire.

Le mode opératoire, validé à partir de l'aldéhyde modèle : le benzaldéhyde, a ensuite été appliqué aux 2- et 3-carboxaldéhyde furanes.

II-2.2. Synthèse des furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonates de diméthyle

La réaction de Kabachnik-Fields entre le 2- ou le 3-carboxaldéhyde furane, la *N*-propargylamine et l'hydrogénophosphonate de diméthyle est effectuée comme suit (Schéma II-23).

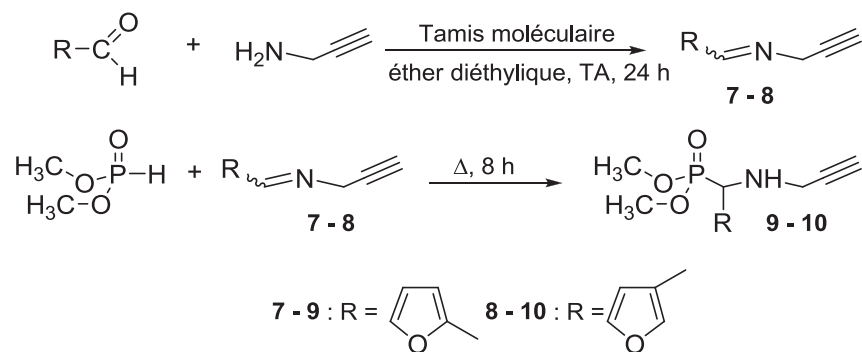


Schéma II-23. Synthèses du 2-furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (**9**) et du 3-furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (**10**).

Les imines intermédiaires *N*-(2-furanylidène)prop-2-yn-1-amine (**7**) et *N*-(3-furanylidène)prop-2-yn-1-amine (**8**) ont été synthétisées selon les mêmes conditions opératoires que celles utilisées précédemment. L'analyse RMN ¹H montre l'obtention des produits attendus (Figure II-11). Nous constatons l'apparition d'un signal à 7,32 ppm (f, Figure II-11A) et à 7,75 ppm (f, Figure II-11B), pour **7** et **8** respectivement, qui correspond au proton de la liaison CH=N. De plus, le rapport des intégrations entre le signal caractéristique du proton CH=N et du proton de l'alcyne vrai à 2,29 ppm (h, Figure II-11A) et à 2,52 ppm (h, Figure II-11B) pour **7** et **8** respectivement, de 1,00:0,99 et 1,00:0,98 confirme que la réaction est quantitative. Enfin, la SM-HR confirme l'obtention des produits **7** ($[\text{M}+\text{H}^+]_{\text{obt.}} = 134,0605$; $[\text{M}+\text{H}^+]_{\text{calc.}} = 134,0606$) et **8** ($[\text{M}+\text{H}^+]_{\text{obt.}} = 134,0609$; $[\text{M}+\text{H}^+]_{\text{calc.}} = 134,0606$) purs.

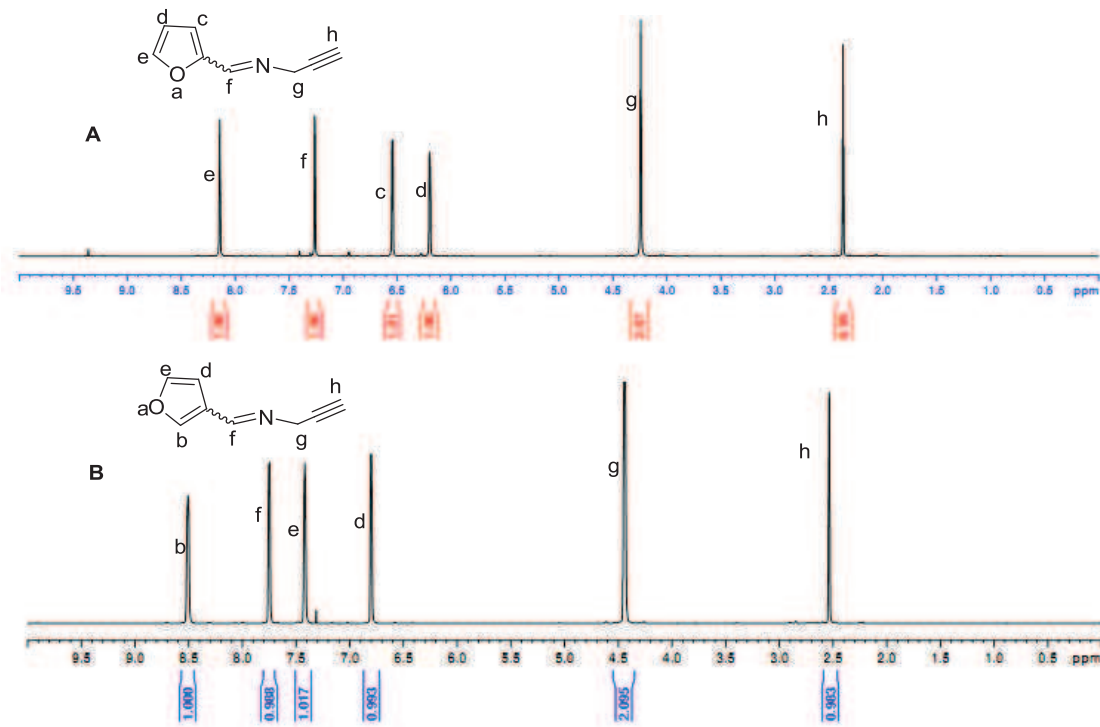


Figure II-11. Spectres RMN ^1H (A) du *N*-(2-furanylidène) prop-2-yn-1-amine **7** et (B) du *N*-(3-furanylidène) prop-2-yn-1-amine **8** ; solvant : CDCl_3 .

La 2^{ème} étape a également été réalisée dans les mêmes conditions que précédemment. La réaction menée à 80 °C pendant 8 h a conduit à un liquide visqueux marron. Son analyse par spectroscopie RMN ^{31}P révèle l'apparition de plusieurs pics, vraisemblablement dus à une dégradation du produit. Par contre, la réaction menée pendant 8 h à 60 °C a permis d'accéder au 2-furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (**9**) et au 3-furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (**10**) avec des rendements de 90% et de 87%, respectivement. Les spectres RMN ^1H de **9** (Figure II-12A) et de **10** (Figure II-12B) montrent l'apparition d'un nouveau pic à 4,43 ppm (f, Figure II-12A) et à 4,36 ppm (f, Figure II-12B) pour **9** et **10** respectivement, qui correspond au proton de la liaison CH(P). De plus, le rapport des intégrations entre ce proton CH(P) et les groupements méthyle de l'extrémité phosphonate de diméthyle à 3,75 ppm (m, Figures II-12A et II-12B) confirme que la réaction est quantitative (Figure II-12A : $I_m/I_f = 6/1,07$ pour **9** et Figure II-12B : $I_m/I_f = 6,02/1,00$ pour **10**).

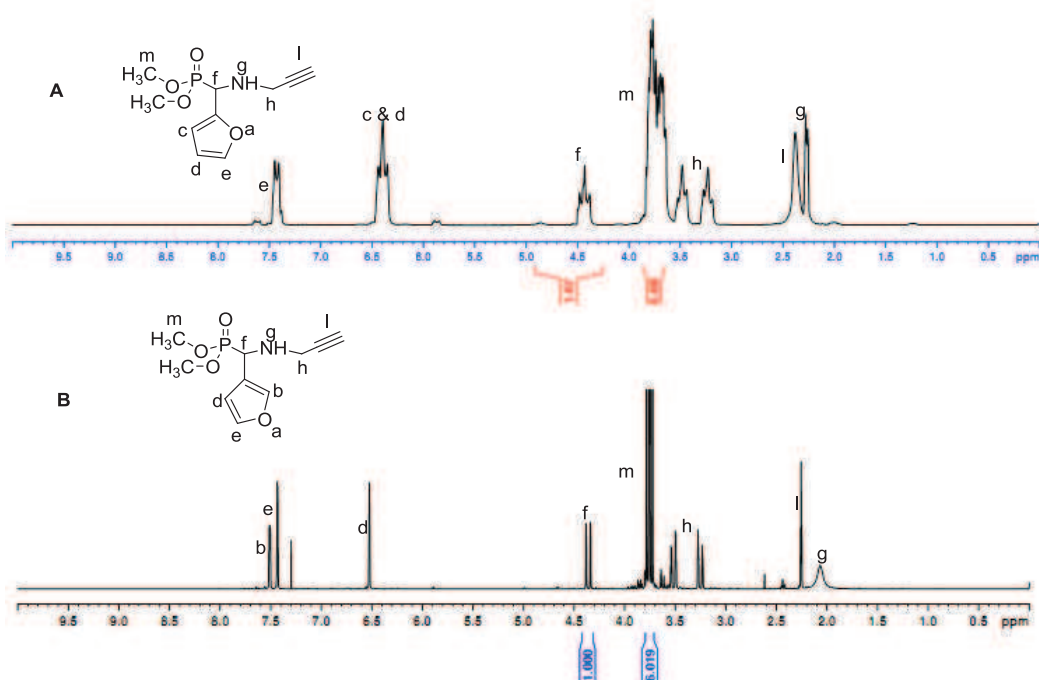


Figure II-12. Spectres RMN ^1H (A) du 2-furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (**9**) et (B) du 3-furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (**10**) ; solvant : CDCl_3 .

Les spectres RMN ^{31}P de **9** (Figure II-13A) et de **10** (Figure II-13B) montrent l'apparition d'un signal à 22,95 ppm et à 25,44 ppm, respectivement, caractéristiques de l'obtention de dérivés α -aminophosphonate.

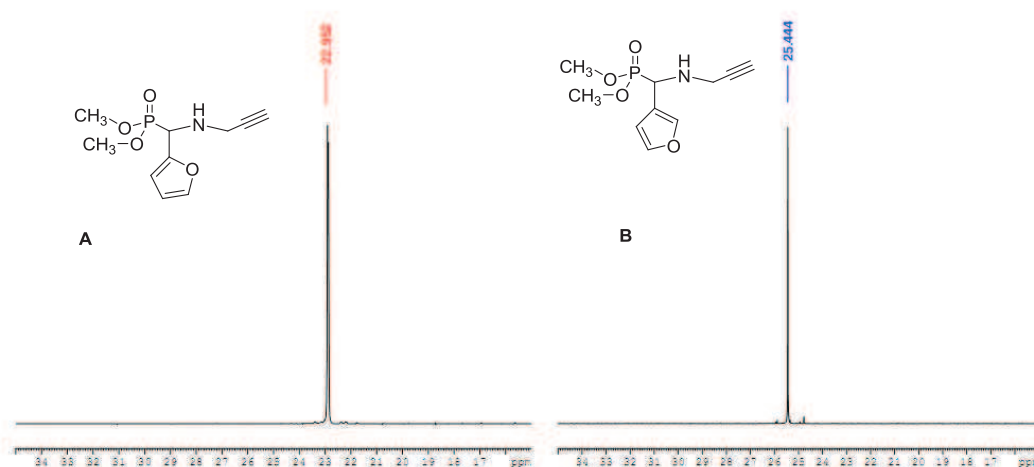


Figure II-13. Spectres RMN ^{31}P (A) du 2-furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (**9**) et (B) du 3-furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (**10**) ; solvant : CDCl_3 .

Les produits **9** et **10** ont été analysés par SM-HR et confirment l'obtention des α -aminophosphonates attendus avec une masse obtenue $[M+H^+]_{\text{obt.}}$ de 244,0663 et 244,0670, respectivement ($[M+H^+]_{\text{calc.}} = 244,0660$).

II-3. Synthèse des poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité phosphonate par la réaction de chimie 'click'

La réaction de chimie 'click' a été réalisée à partir des α -aminophosphonates **6**, **9** et **10** et de l'azoture de POE de masse $\overline{M}_n = 2\ 000$ et $5\ 000$ g/mol selon le même mode opératoire utilisé pour la synthèse des poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité di(m)éthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine précédemment synthétisés par combinaison des réactions d'Atherton-Todd et de chimie 'click' (Schéma II-24).

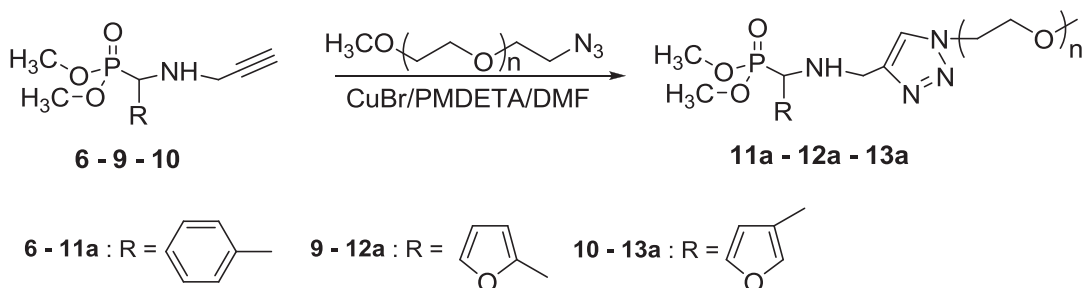


Schéma II-24. Synthèse des poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité phosphonate par réaction de chimie 'click'.

Les poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité phosphonate de diméthyle synthétisés ont été caractérisés par spectroscopie RMN ^1H . A titre exemple, le spectre RMN ^1H du poly(oxyde d'éthylène) à extrémité diméthylphosphonyl(3-*N*-(5-méthyltriazole)méthylamino)furane (**13a**) (Figure II-14C) montre la présence d'un singulet à 7,61 ppm (l, Figure II-14C) caractéristique du proton du cycle triazole, d'un signal à 3,52-3,72 ppm (o, Figure II-14C) correspondant aux protons des unités oxyde d'éthylène, d'un singulet à 3,38 ppm (p, Figure II-14C) pour les protons du groupement méthoxy du POE, à 4,52 ppm (m, Figure II-14C) pour les protons -(triazole)- $\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{44}\text{OCH}_3$, et à 3,86 ppm (n, Figure II-14C) pour les protons -(triazole)- $\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{44}\text{OCH}_3$. Le déplacement du signal du groupement CH lié à l'atome de phosphore de 4,36 ppm (f, Figure II-12B) à 4,12 ppm (f, Figure II-14C) confirme également que la réaction de 'click' chemistry a bien eu lieu. D'autre part, le rapport des intégrations des signaux à 7,61 ppm caractéristique du proton du cycle triazole (I_1 , Figure II-14C) et à 3,38 ppm

caractéristique des protons méthyle du groupement O-CH₃ du POE (I_p, Figure II-14C) de 3,01:1,00 indique que la réaction de chimie ‘click’ est quantitative.

L'ensemble des résultats obtenus pour la synthèse des POEs à extrémité phosphonate de diméthyle sont rapportés dans le Tableau II-1. La réaction de chimie ‘click’ est quantitative et a été validée à partir du POE de masse $\overline{M}_n = 2\ 000$ g/mol, mais également à partir d'un POE de longueur plus importante, le POE de masse $\overline{M}_n = 5\ 000$ g/mol, ce qui montre l'efficacité de cette méthode par rapport à des méthodes de modification chimique classiques, où le taux de fonctionnalisation peut être limité par la longueur de la chaîne POE.⁵

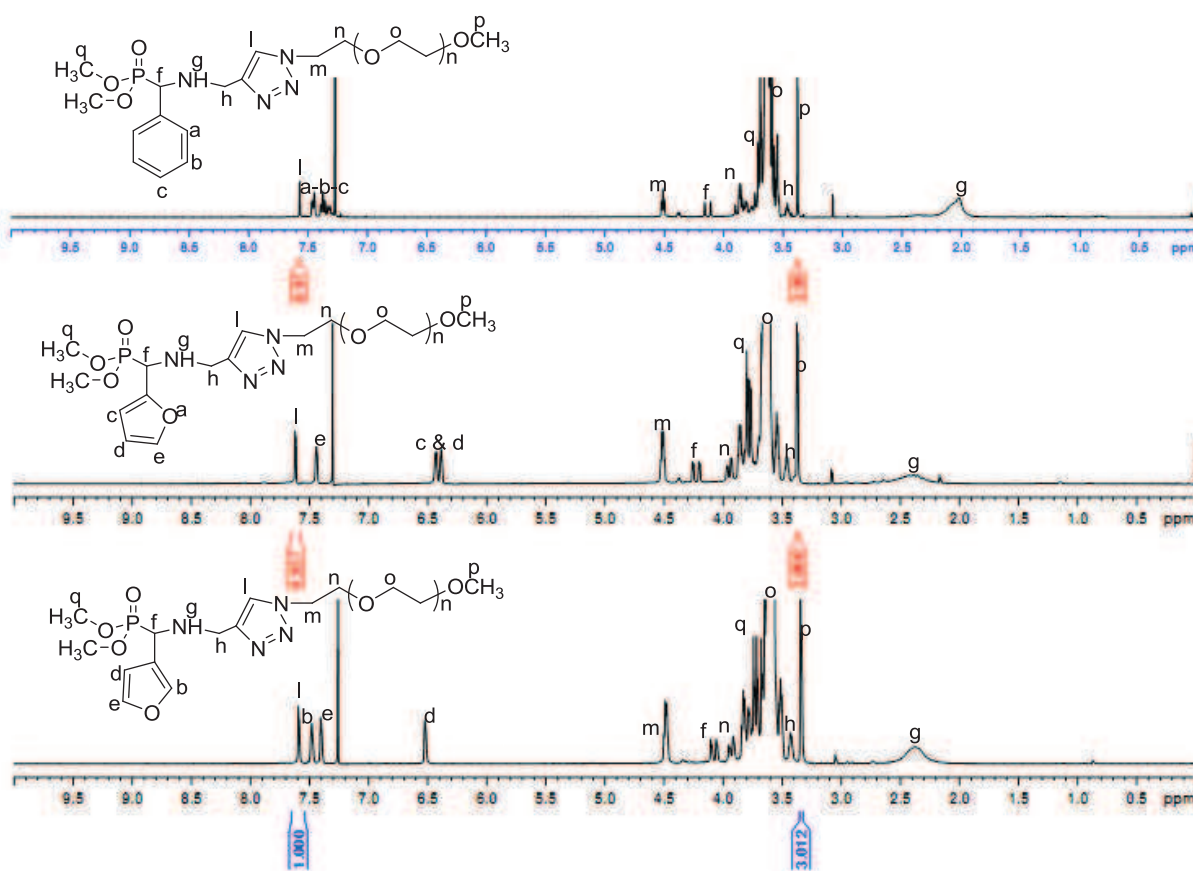


Figure II-14. Spectres RMN ¹H (A) du POE à extrémité diméthylphosphonyl-*N*-(5-méthylamino)benzène (**11a**), (B) du POE à extrémité diméthylphosphonyl(2-*N*-(5-méthylamino)furane (**12a**) et (C) du POE à extrémité diméthylphosphonyl(3-*N*-(5-méthylamino)furane (**13a**) ; solvant : CDCl₃.

Tableau II-1. Résultats des réactions de chimie ‘click’ pour la synthèse des POE à extrémité phosphonate.

	Aldéhyde	POE	Rdt (%)	$I_{\text{triazole}}:I_{\text{CH}_3}$ du POE ^a	Conv. ^a (%)	MALDI-TOF	
						m/z obtenu	m/z calculé ^d
11a	Benzaldéhyde	2 000	70	0,97:3,00	97	2066,19 ^b	2066,11
12a	2-furaldéhyde	2 000	76	0,94:3,00	94		
13a	3-furaldéhyde	2 000	70	1,00:3,00	100	2056,24 ^b	2056,08
11b	Benzaldéhyde	5 000	75	0,96:3,00	96	5089,95 ^c	5090,69
13b	3-furaldéhyde	5 000	70	0,94:3,00	94	5081,95 ^c	5081,00

^a déterminé par spectroscopie RMN ¹H par comparaison des intégrations du proton du cycle triazole et des protons du groupement méthoxy du POE. ^b Matrice : DCTB, KTFA. ^c Matrice : DCTB, NaTFA. ^d calculé pour un nombre d'unités d'oxyde d'éthylène de 39 dans le cas POE 2000 et de 107 dans le cas POE 5000, ionisation par le sodium ou par le potassium.

La structure des POEs à extrémité phosphonate obtenus a également été vérifiée par spectrométrie de masse MALDI-TOF. Pour chaque structure, on observe une seule population avec un écart moyen entre les pics de 44,04 caractéristique de l'unité constitutive du poly(oxyde d'éthylène) ($M_{\text{calc.}} = 44,0262 \text{ g.mol}^{-1}$). D'autre part, les valeurs m/z obtenues permettent de déterminer la structure précise des POEs à extrémité phosphonate de diméthyle synthétisés (Tableau II-1 et Figure II-15). A titre exemple, le spectre MALDI-TOF de **13a** (Figure II-15B) montre une valeur m/z = 2056,24 qui correspond au POE à extrémité diméthylphosphoryl(3-*N*-(5-méthyltriazole)méthylamino)furane avec 39 motifs d'oxyde d'éthylène contenant, outre l'atome de potassium responsable de l'ionisation, d'une part, le groupement monométhyl éther et, d'autre part, l'extrémité diméthylphosphonyl(3-*N*-(5-méthyltriazole)méthylamino)furane ($m/z_{\text{calc.}} = 2056,08$).

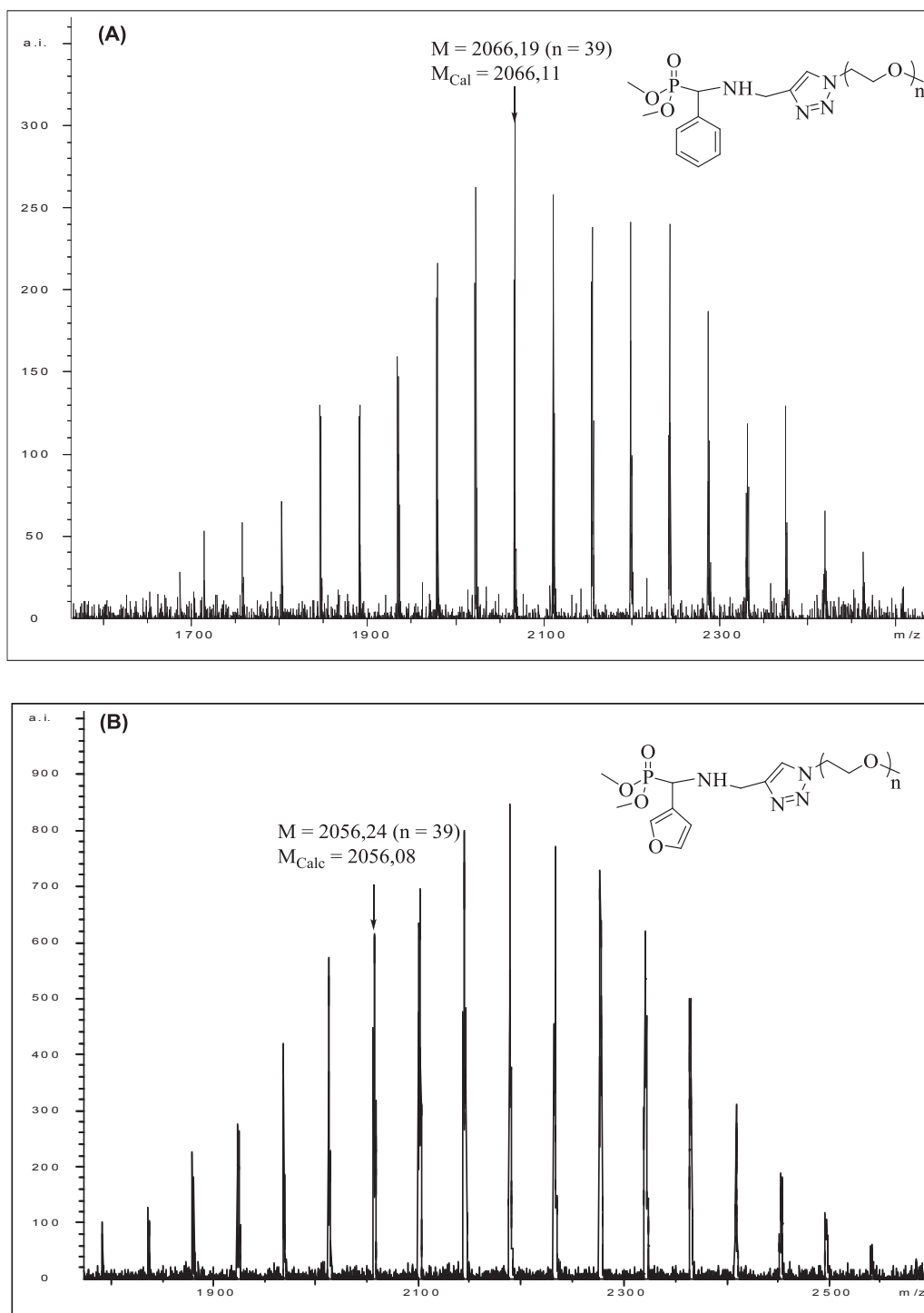


Figure II-15. Spectres de masse MALDI-TOF (A) du poly(oxyde d'éthylène) 2 000 à extrémité diméthylphosphoryl-*N*-(5-méthyltriazole)méthylamino)benzène, et (B) du poly(oxyde d'éthylène) 2 000 à extrémité diméthylphosphoryl(3-*N*-(5-méthyltriazole)méthylamino)furane; matrice : DCTB, KTFA.

II-4. Synthèse des poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité acide phosphonique par la réaction de déalkylation

La réaction de déalkylation a tout d'abord été testée sur un composé modèle puis a ensuite été conduite sur les différents POE à extrémité phosphonate de diméthyle.

II-4.1. Déalkylation du phényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle

La déalkylation du phényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle **6** a été effectuée selon le même mode opératoire utilisé pour déalkyler les POEs à extrémité *N*-di(m)éthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine **3** et **4** en utilisant des conditions douces en présence de TMSBr (Schéma II-25).

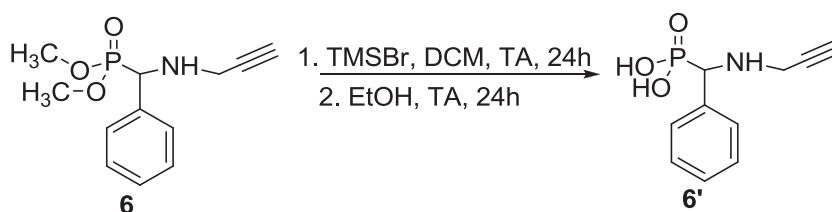


Schéma II-25. Réaction de déalkylation du phényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (**6**).

L'acide phényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonique **6'** a été obtenu quantitativement comme l'attestent les analyses RMN ¹H et ³¹P. Ainsi, on observe sur le spectre RMN ¹H la disparition du signal caractéristique des groupements O-CH₃ à 3,65 ppm. De même, le spectre RMN ³¹P (Figure II-16) montre la disparition totale du signal à 25,06 ppm caractéristique du phosphore de **6** et l'apparition d'un signal unique à 12,46 ppm qui est caractéristique d'un phosphore d'une fonction acide phosphonique.⁷³

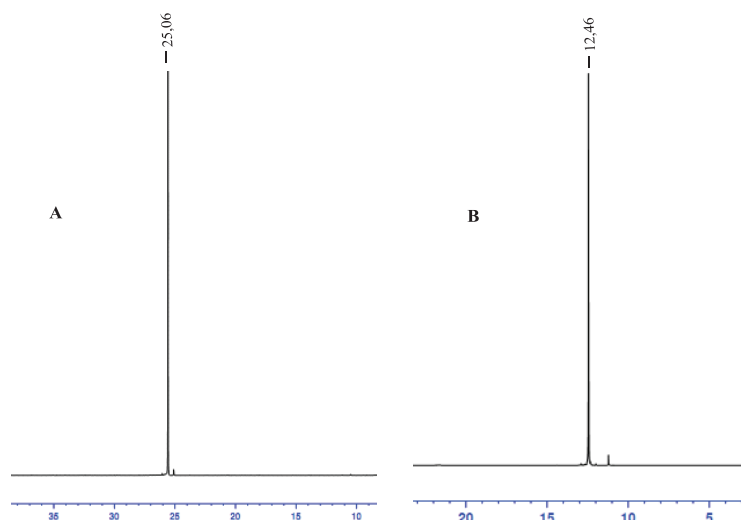


Figure II-16. Spectres RMN ^{31}P du phényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle **6** (A) avant (solvant : CDCl_3) et **6'** (B) après déalkylation (solvant : CD_3OD).

II-4.2. Déalkylation des poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éthers à extrémité phosphonate de diméthyle

Les différents POE à extrémité phosphonate de diméthyle ont subi une déalkylation (Schéma II-26). Les déplacements chimiques obtenus en RMN ^{31}P après déalkylation (Tableau II-2 et Figure II-17) semblent indiquer que la réaction de déalkylation a bien eu lieu. Ainsi, sur le spectre RMN ^{31}P du POE à extrémité acide phosphonique **11a'** issu de **11a** (Figure II-17B), on observe la disparition du signal à 25,52 ppm caractéristique du phosphore d'un groupement phosphonate de diméthyle et l'apparition d'un signal à 13,29 ppm caractéristique du phosphore d'un groupement acide phosphonique. De plus, le spectre IR de **11a'** montre l'apparition d'une nouvelle bande à $3\ 100\ \text{cm}^{-1}$, qui confirme l'obtention du groupement acide phosphonique.

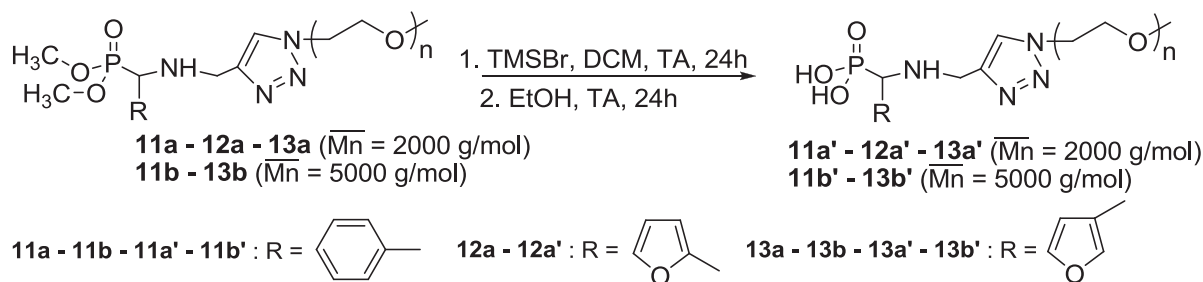


Schéma II-26. Réaction de déalkylation des POE à extrémité phosphonate de diméthyle.

Tableau II-2. Résultats de déalkylation des POE à extrémité phosphonate de diméthyle.

POE à extrémité acide phosphonique	Rdt (%)	δ en RMN ^{31}P		MALDI-TOF ^a	
		avant déalkylation	après déalkylation	m/z obtenu	m/z calculé ^b
11a'	98	25,52	13,29	2174,92	2174,21
12a'	99	24,04	10,68	- ^c	- ^c
13a'	98	25,40	13,20	2234,16	2233,54
11b'	95	25,39	13,29	- ^c	- ^c
13b'	95	24,64	8,77	- ^c	- ^c

^a Matrice : DCTB, NaI. ^b calculé pour un nombre d'unités de répétition oxyde d'éthylène de 43. ^c non effectué.

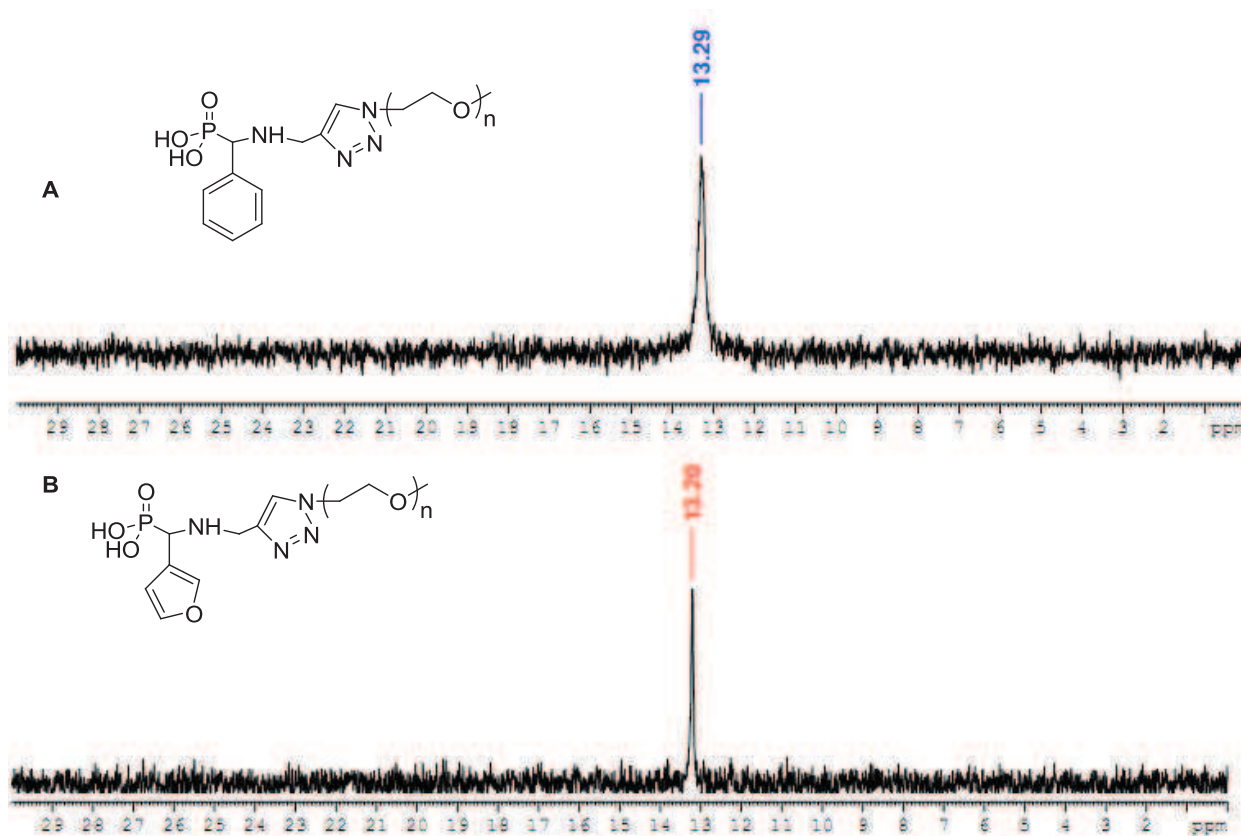


Figure II-17. Spectres RMN ^{31}P après déalkylation des POE (A) **11a'** et (B) **13a'** ; solvant : CD_3OD .

D'autre part, l'analyse MALDI-TOF des POEs à extrémité acide phosphonique obtenus a été réalisée (Tableau II-2 et Figure II-18). Ainsi, le spectre de masse MALDI-TOF du POE à extrémité acide phosphonique **11a'**, effectué en mode négatif, montre une seule population avec un écart moyen entre les pics de 44,08 correspondant à l'unité constitutive du POE ($M_{\text{calc.}} = 44,0262 \text{ g/mol}$) (Figure II-18). De plus, le pic à $m/z = 2174,92$ correspond au POE à extrémité acide phosphonique déprotoné avec 43 motifs de POE contenant d'une part, le groupement

monométhyl éther et, d'autre part, l'extrémité acide phosphonique *N*-(5-méthyltriazole)méthylamino)benzène ($m/z_{\text{calc.}} = 2174,21$).

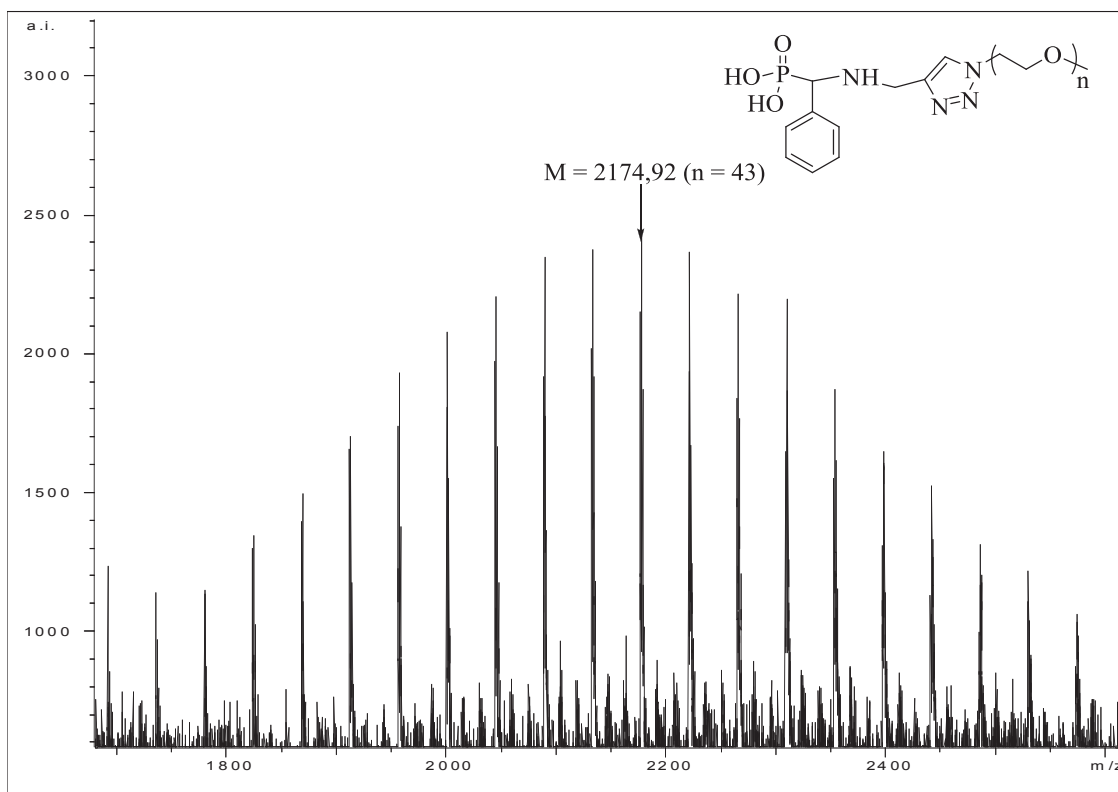


Figure II-18. Spectre de masse MALDI-TOF du POE à extrémité acide phosphonique **11a'**; matrice : DCTB, NaI.

II-5. Synthèse des poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité acide phosphonique par hydrolyse

La réaction d'hydrolyse a ensuite été testée afin d'obtenir des POEs à extrémité acide phosphonique selon une procédure plus simple. Cette méthode, dont les conditions sont moins douces que la déalkylation, appliquée à des molécules à extrémité phosphoramide a entraîné la rupture de la liaison P-N.⁷⁴ Boduszek⁷⁵ a montré que la réaction d'hydrolyse d'aminophosphonates pouvait être effectuée en présence d'acide chlorhydrique pour obtenir l'acide aminophosphonique correspondant. Cependant, la formation d'acide aminophosphonique dépend de la nature de l' α -aminophosphonate de départ. Ainsi, Boduszek a observé que l'hydrolyse du 3-pyridyl aminophosphonate pouvait être réalisée alors que celle du 2-pyridyl aminophosphonate a conduit à la *N*-alkyl-2-méthylaminopyridine et à l'acide phosphorique.⁷⁴

Pour notre part, nous avons réalisé la réaction d'hydrolyse à partir des POEs **11a** et **13a** en présence d'HCl 20% à 90°C pendant 6 h (Schéma II-27).

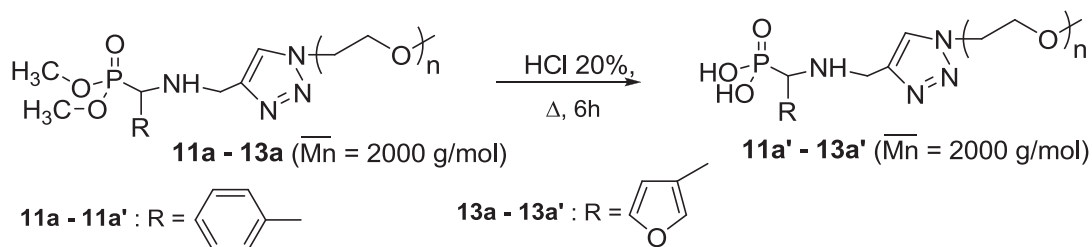


Schéma II-27. Hydrolyse des POEs à extrémité phosphonate de diméthyle.

En fin de réaction, l'acide chlorhydrique en excès et l'eau ont été évaporés à l'évaporeur rotatif. Les produits hydrolysés sont obtenus sans purification sous forme d'un solide marron et ont été analysés par RMN ^{31}P . Le spectre de **11a'** (Figure II-19) montre l'apparition d'un signal à 13,07 ppm (13,52 ppm pour **13a'**). Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que celles obtenues suite à la déalkylation (13,29 ppm pour **11a'**, Tableau II-2 entrée 1 et 13,20 ppm pour **13a'**, Tableau II-2 entrée 3), caractéristiques du phosphore du groupement l'acide phosphonique.

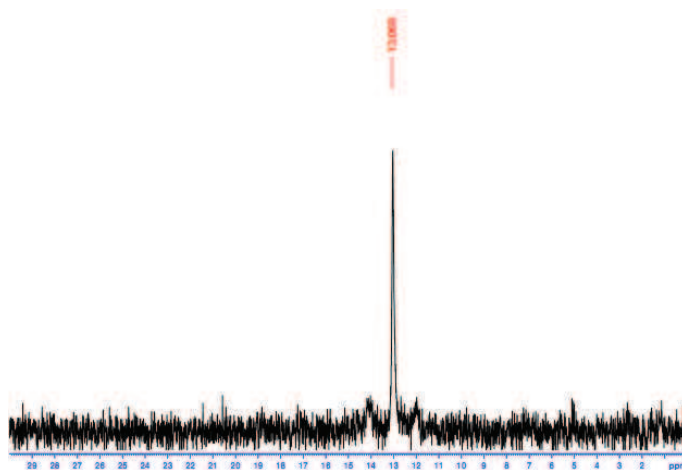


Figure II-19. Spectre RMN ^{31}P de **11a'** après hydrolyse de **11a** ; solvant : CD_3OD .

On constate que l'hydrolyse a bien eu lieu dans des conditions moins douces selon une procédure plus facile à mettre en œuvre.

II.6. Conclusion

La synthèse de poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité acide phosphonique a été réalisée par la combinaison des réactions de Kabachnik-Fields et de chimie 'click'.

Dans un 1^{er} temps, une réaction de Kabachnik-Fields entre la *N*-propargylamine pour introduire la fonction alcyne, l'hydrogénophosphonate de diméthyle et des aldéhydes a été étudiée pour accéder à des α -aminophosphonates. Le choix des aldéhydes s'est porté sur le benzaldéhyde, utilisé comme composé modèle, puis sur les 2- et 3-carboxaldéhyde furanes afin d'introduire une nouvelle fonctionnalité autorisant une réaction ultérieure de Diels-Alder.

Les α -aminophosphonates ainsi obtenus avec de très bons rendements ont, dans un 2^{ème} temps, été engagés dans une réaction de chimie 'click' avec les azotures du POE 2 000 ainsi que du POE 5 000 en présence du système catalytique CuBr/PMDETA. Deux POEs de masse différente ont été utilisés en vue d'étudier l'influence de la longueur de la chaîne POE sur l'aptitude à stabiliser des nanoparticules magnétiques. Finalement, l'extrémité phosphonate de diméthyle des POE synthétisés a été modifiée en extrémité acide phosphonique dans des conditions douces par déalkylation puis par hydrolyse, procédure plus facile à mettre en œuvre.

Des POEs de longueur variable à extrémité acide phosphonique fonctionnalisés par un noyau phényle et un cycle furane ont été obtenus avec des conversions quantitatives, comme l'attestent les analyses MALDI-TOF.

Conclusion

La synthèse de poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éthers 2000 g/mole et 5000 g/mole à extrémité acide phosphonique a été réalisée par la combinaison des réactions, d'une part, d'Atherton-Todd et de chimie 'click' et, d'autre part, de Kabachnik-Fields et de chimie 'click'.

La synthèse des POEs à fonctionnalité hydrogénophosphonate de dialkyle a été conduite en deux étapes. La réaction d'Atherton-Todd a permis d'introduire une fonction alcyne par réaction entre un hydrogénophosphonate de di(m)éthyle et la *N*-propargylamine. La réaction de chimie 'click' a conduit à la conjugaison entre le groupement alcyne du di(m)éthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine et l'azoture de poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther. Cependant, la réaction de déalkylation en utilisant le TMSBr a conduit à la rupture de la liaison P-N et a généré des poly(oxyde éthylène)s à extrémité triazole aminoalkyle, comme l'attestent les analyses MALDI-TOF.

Par contre, la synthèse des poly(oxyde éthylène)s à extrémité acide phosphonique a été réalisée avec succès par la combinaison de la réaction de Kabachnik-Fields entre un aldéhyde, l'hydrogénophosphonate de diméthyle et la *N*-propargylamine et de la réaction de chimie 'click'. La formation d'une liaison P-C plus robuste a permis la déalkylation des POEs à extrémité diméthylphosphonate comme l'attestent les analyses RMN ^1H , ^{13}C , ^{31}P et MALDI-TOF. La réaction d'hydrolyse utilisant des conditions moins douces mais plus faciles à mettre en œuvre que la déalkylation a également montré son efficacité.

Nous avons obtenu des POEs de masse molaire 2 000 et 5 000 g/mol à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité 2- et 3-furane. Cette stratégie ouvre des perspectives pour la synthèse de polymères fonctionnalisés à extrémité acide phosphonique puisqu'il est possible de moduler la nature de la chaîne polymère ainsi que celle du groupement fonctionnel.

Avant d'utiliser ces POEs à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane pour stabiliser des nanoparticules d'oxydes de fer, leur aptitude à réagir selon une réaction de Diels-Alder *via* leur cycle furane avec un maléimide a été étudiée et fait l'objet du chapitre suivant.

Références

- ¹ Laurent, S.; Forge, D.; Port, M.; Roch, A. Robic, C.; Vander Elst, L. Muller, R. N. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2064-2110.
- ² Qi, L.; Seghal, A.; Castaing, J. -C.; Chapel, J. -P.; Fresnais, J.; Berret, J. F.; Cousin, F. *ACS Nano.* **2008**, *2*, 879-888.
- ³ Shephard, J. J.; Dickie, S. A.; McQuillan, A. J. *Langmuir* **2010**, *26*, 4048-4056.
- ⁴ Tromsdorf, U. I.; Bruns, O. T.; Salmen, S. C.; Beisiegel, U.; Weller, H. *Nano Lett.* **2009**, *9*, 4434-4440.
- ⁵ Liu, X. L.; Fan, H. M.; Yi, J. B.; Yang, Y.; Choo, E. S. G.; Xue, X. M.; Fan, D. D.; Ding, J. J. *Mater. Chem.* **2012**, *22*, 8235-8244.
- ⁶ Na, H. B.; Lee, I. S.; Seo, H.; Park, Y. I.; Lee, J. H.; Kim, S. W.; Hyeon, T. *Chem. Commun.* **2007**, 5167-5169.
- ⁷ Basly, B.; Felder-Flesch, D.; Perriat, P.; Billotey, C.; Taleb, J.; Pourroy, G.; Begin-Colin, S. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 985-987.
- ⁸ White, M. A.; Johnson, J. A.; Koberstein, J. T.; Turro, N. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11356-11357.
- ⁹ Boyer, C.; Bulmus, V.; Priyanto, P.; Teoh, W. Y.; Amal, R.; Davis, T. P. *J. Mater. Chem.* **2009**, *19*, 111-123.
- ¹⁰ Boyer, C.; Priyanto, P.; Davis, T. P.; Pissuwan, D.; Bulmus, V.; Kavallaris, M.; Teoh, W. Y.; Amal, R.; Carol, M.; Woodward, R.; St Pierre, T. *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 255-265.
- ¹¹ Quéffelec, C.; Petit, M.; Janvier, P.; Knight, D. A.; Bujoli, B. *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 3777-3807.
- ¹² Bronich, T. N.; Nguyen, H. K.; Eisenberg, A.; Kabanov, A. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8339-8343.
- ¹³ Kabanov, A. V.; Zhu, J.; Alakhov, V. *Adv. Genet.* **2005**, *53*, 231-261.
- ¹⁴ Essahli, M.; Ganachaud, F.; In, M.; Boutevin, B. *J. Appl. Polym. Sci.* **2008**, *108*, 483-490.
- ¹⁵ Traine, C. A.; Schwartz, J. *Langmuir* **2007**, *23*, 9158-9161.
- ¹⁶ Goff, J. D.; Huffstetler, P. P.; Miles, W. C.; Pothayee, N.; Reinholz, C. M.; Ball, S.; Davis, R. M.; Riffle, J. S. *Chem. Mater.* **2009**, *21*, 4784-4795.
- ¹⁷ Mosquet, M.; Chevalier, Y.; Brunel, S.; Guicquero, J. P.; Le Perchec, P. *J. Appl. Polym. Sci.* **1997**, *65*, 2545-2555.
- ¹⁸ Moedritzer, K.; Irani, R. R. *J. Org. Chem.* **1996**, *31*, 1603-1607.
- ¹⁹ Owens, D. E.; Peppas, N. A. *Int. J. Pharm.* **2006**, *307*, 93-102.
- ²⁰ Sanyal, A. *Macromol. Chem. Phys.* **2010**, *211*, 1417-1425.
- ²¹ Gandini, A.; Belgacem, M. N. *Prog. Polym. Sci.* **1997**, *22*, 1203-1379.
- ²² Ripoll, J. L.; Rouessac, A.; Rouessac, F. *Tetrahedron* **1978**, *34*, 19-40.
- ²³ Belgacem, M. N.; Gandini, A. *ACS Symp. Ser.* **2007**, *954*, 280-295.
- ²⁴ Kannan, P.; Kishore, K. *Polymer* **1992**, *33*, 412-422.
- ²⁵ Wang, G.; Shen, R.; Xu, Q.; Goto, M.; Zhao, Y.; Han, L. -B. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 3890-3892.
- ²⁶ Wagner, S.; Rakotomalala, M.; Bykov, Y.; Walter, O.; Doring, M. *Heteroatom Chem.* **2012**, *23*, 216-221.
- ²⁷ Atherton, F. R.; Openshaw, H. T.; Todd, A. R. *J. Chem. Soc.* **1945**, 660-663.
- ²⁸ Atherton, F. R.; Todd, H. T. *J. Chem. Soc.* **1947**, 674-678.

- ²⁹ Zwierzak, A. *Synthesis* **1975**, 507-509.
- ³⁰ Steinbger, G. M. *J. Org. Chem.* **1950**, *15*, 637-647.
- ³¹ Yin, Y. W.; Chen, Y.; Zhao, Y. F.; Li, L. P. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1993**, *82*, 67-72.
- ³² Gadja, T.; Zwierzak, A. *Synthesis* **1976**, 243-244.
- ³³ Steinbger, G. M. *In ACS Meeting Atlantic City* **1949**, 637-640.
- ³⁴ Georgiev, E. M.; Kaneti, J.; Troev, K.; Roundhill, D. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10964-10973.
- ³⁵ Brosse, J. C.; Fontaine, F. Derouet, D.; Chairatanavorn, S. *Makromol. Chem.* **1989**, *190*, 2329-2338.
- ³⁶ Fontaine, L.; Marboeuf, C.; Brosse, J. C.; Maingault, M.; Dehaut, F. *Macromol. Chem. Phys.* **1996**, *197*, 3613-3621.
- ³⁷ Georgieva, R.; Tsevi, R.; Kossev, K.; Kusheva, R.; Balgjijska, M.; Petrova, R.; Tenchova, V.; Gistov, I.; Troev, K. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 5797-5801.
- ³⁸ Oussadi, K.; Montembault, V.; Fontaine, L. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2011**, *49*, 5124-5128.
- ³⁹ Zwierzak, A. *Synthesis* **1982**, *11*, 920-922.
- ⁴⁰ Troev, K. D. in *Chemistry and Application of H-Phosphonates*; Elsevier: Amsterdam, **2006**, p. 26.
- ⁴¹ Samanta, D.; Kratz, K.; Zhang, X.; Emrick, T. *Macromolecules* **2008**, *41*, 530-532.
- ⁴² Le, D.; Montembault, V.; Soutif, J. C.; Rutnakompituk, M.; Fontaine L. *Macromolecules* **2010**, *43*, 5611-5617.
- ⁴³ McKenna, C. E.; Higa, M. T.; Cheung, N. H.; McKenna, M. C. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 155-158.
- ⁴⁴ Kishore Kumar, G. D.; Saenz, D.; Lokesh, G. L.; Natarajan, A. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 6281-6284.
- ⁴⁵ Rabinowitz, A. C. *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 2975-2978.
- ⁴⁶ Kabachnik, M.; Medved, T. *Dokl. Acad. Nauk SSSR* **1952**, *83*, 689-692. ; *Chem. Abstr.* **1953**, *47*, 2724b.
- ⁴⁷ Fields, E. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 1528-1531.
- ⁴⁸ Kafarski, P.; Lejczak, B. in *Aminophosphonic and Aminophosphinic Acides. Chemistry and Biological Activity*; Kukhar, V. P.; Hudson, H. R. Eds.; John Wiley & Sons: Chichester, **2000**; pp. 407-442.
- ⁴⁹ Bhagat, S.; Chakraborti, A. K. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 1263-1270.
- ⁵⁰ Gancarz, R. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 10627-10632.
- ⁵¹ Cherkasov, R. A.; Galkin, V. I. *Russ. Chem. Rev.* **1998**, *67*, 857-882.
- ⁵² Gaurao, D. T.; Selene, L-R.; Elena, V-D.; Oscar, G-B.; Mario, O. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 6573-6581.
- ⁵³ Ranu, B. C.; Hajra, A. *Green Chem.* **2002**, *4*, 551-554.
- ⁵⁴ Keglevich, G.; Szekrényi, A. *Lett. Org. Chem.* **2008**, *5*, 616-622.
- ⁵⁵ Mu, X. -J.; Lei, M. -Y.; Zou, J.-P.; Zhang, W. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 1125-1127.
- ⁵⁶ Marina, J.; Laura, S.; Zeljko, M.; Marijana, V.; Pietro, T.; Ljerka, T. B. *Lett. Org. Chem.* **2009**, *6*, 11-16.
- ⁵⁷ Pudovik, A. N. *Doklady Akad. Nauk SSSR* **1952**, *83*, 865 ; *Chem. Abstr.* **1953**, *47*, 4300.
- ⁵⁸ Abramov, V. S. *Doklady Akad. Nauk SSSR* **1950**, *73*, 487 ; *Chem. Abstr.* **1951**, *45*, 2855.

- ⁵⁹ Gancarz, R. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 10627-10632.
- ⁶⁰ Pearson, R. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *83*, 3533-3534.
- ⁶¹ Heydari, A. ; Karimian, A. ; Ipaktschi, J. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 6729-6732.
- ⁶² Qian, C.; Huang, T. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4125-4128.
- ⁶³ Manujla, A.; Rao, B.; Neelakantan, P. *Synth. Commun.* **2003**, *33*, 2963-2969.
- ⁶⁴ Charasekhar, S.; Prakash, S.; Jagadeshwar, V.; Narsihmulu, C. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 5561-5563.
- ⁶⁵ Xu, F.; Luo, Y.; Deng, M.; Shen, Q. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 4728-4730.
- ⁶⁶ Trendafilova-Gercheva, D.; Troev, K.; Georgieva, M.; Vassileva, V. *Angew. Makromol. Chem.* **1992**, *199*, 137-148.
- ⁶⁷ Ménard, L.; Fontaine, L.; Brosse, J.-C. *React. Polym.* **1994**, *23*, 201-212.
- ⁶⁸ Beers, S. A.; Schwender, C. F.; Loughney, D. A.; Malloy, E.; Demarest, K.; Jordan, J. *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 1693-1701.
- ⁶⁹ Metcalf, B.; Casara, P. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 3337-3340.
- ⁷⁰ Kraicheva, I.; Bogomilova, A.; Tsacheva, I.; Momekov, G.; Troev, K. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 3363-3367.
- ⁷¹ Maier, L.; Diel, P.-J. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1991**, *57*, 57-64.
- ⁷² Cottier, L.; Descotes, G.; Lewkowski, J.; Skowronski, R. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1996**, *116*, 93-100.
- ⁷³ Crutchfield, M. M.; Dungan, C. H.; Letcher, J. H.; Mark, V.; Van Wazer, J. R. *P³¹ Nuclear Magnetic Resonance*, Ed. Grayson, M and Griffith, E. J, J Wiley & Sons, New York, **1976**.
- ⁷⁴ Garrison, A. W.; Boozer, C. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *13*, 3486-3494.
- ⁷⁵ Boduszek, B. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 12483-12494.

CHAPITRE III

Réactivité du cycle furane des POEs vis-à-vis d'une
réaction de Diels-Alder

Introduction

Les poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éthers (POE) synthétisés dans le chapitre précédent présentent une extrémité acide phosphonique permettant la stabilisation de nanoparticules d'oxyde de fer. Ils sont également fonctionnalisés par un groupement furane susceptible d'ancrer, de façon réversible, des (bio)molécules à extrémité maléimide par la réaction de cycloaddition de Diels-Alder.¹

La réaction de Diels-Alder, qui consiste en une réaction peu énergétique de cycloaddition [4 + 2] entre un diène conjugué (4π) riche en électrons et un diénophile (2π) pauvre en électrons conduisant à un cycle à 6 atomes^{2,3} (Schéma III-1), utilise des fonctionnalités absentes des biomolécules, permettant des réactions chimiosélectives qui rendent inutile la protection préalable de groupements.⁴ Elle est simple à mettre en œuvre, efficace, sans sous-produit(s) de réaction et satisfait aux critères de la chimie "click".⁵ De plus, elle se produit en absence de catalyseur ou d'amorceur,⁶ peut être réalisée dans des conditions douces, compatibles avec le milieu physiologique⁷ et la présence d'eau augmente considérablement la vitesse de la réaction de Diels-Alder.^{8,9} Enfin, la réaction de Diels-Alder est thermiquement réversible^{10,11,12,13} et la décomposition du système cyclique peut être contrôlée par la température.^{14,15,16}



Schéma III-1. Mécanisme de la réaction de Diels-Alder.

Pour étudier la réactivité du cycle furane des POEs à extrémité acide phosphonique vis-à-vis de la réaction de Diels-Alder, deux approches ont été envisagées (Schéma III-2). La 1^{ère} stratégie consiste à stabiliser tout d'abord des nanoparticules d'oxyde de fer avec les POEs à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane afin de disposer de nanoparticules présentant une fonctionnalité furane susceptible de réagir ensuite avec des (bio)molécules à fonctionnalité maléimide (Schéma III-2, stratégie A). Pour la 2^{ème} stratégie, la réaction de Diels-Alder entre la (bio)molécule à fonctionnalité maléimide et le POE à extrémité acide phosphonique ou phosphonate et à fonctionnalité furane est tout d'abord effectuée, puis le POE à extrémité acide phosphonique (après déalkylation pour le phosphonate) et à fonctionnalité oxanorbornène est ensuite utilisé pour stabiliser des nanoparticules d'oxyde de fer (Schéma III-2, stratégie B). Dans une dernière étape, l'aptitude à la libération de la (bio)molécule à fonctionnalité maléimide par réaction de rétro Diels-Alder est étudiée. Ces deux approches nécessitent de connaître l'aptitude des POEs à extrémité acide phosphonique et phosphonate précédemment synthétisés à subir la réaction de Diels-Alder.

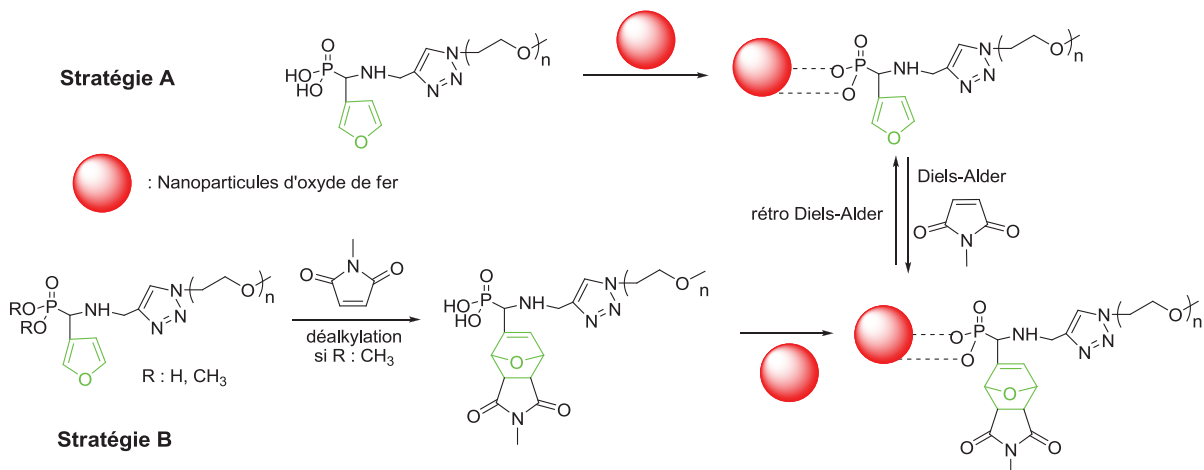


Schéma III-2. Stratégies d'obtention de nanoparticules d'oxyde de fer stabilisées par des POEs à extrémité acide phosphonique et fonctionnalisés par un groupement réactif vis-à-vis d'une réaction de (rétro) Diels-Alder.

La réactivité de la fonctionnalité furane vis-à-vis d'une réaction de Diels-Alder puis de rétro Diels-Alder a tout d'abord été étudiée à partir de POEs à extrémité phosphonate (Schéma III-3, voie A) et acide phosphonique (Schéma III-3, voie B) avec une molécule modèle, la *N*-méthylmaléimide. Une attention particulière a été portée sur l'influence de la position de substitution du furane - en position 2 ou 3 - sur la réactivité. Les POEs à extrémité phosphonate et à fonctionnalité oxanorbornène obtenus sont ensuite déalkylés (Schéma III-3, voie A) puis l'aptitude des POE à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité oxanorbornène obtenus à la réaction de rétro Diels-Alder a été étudiée.

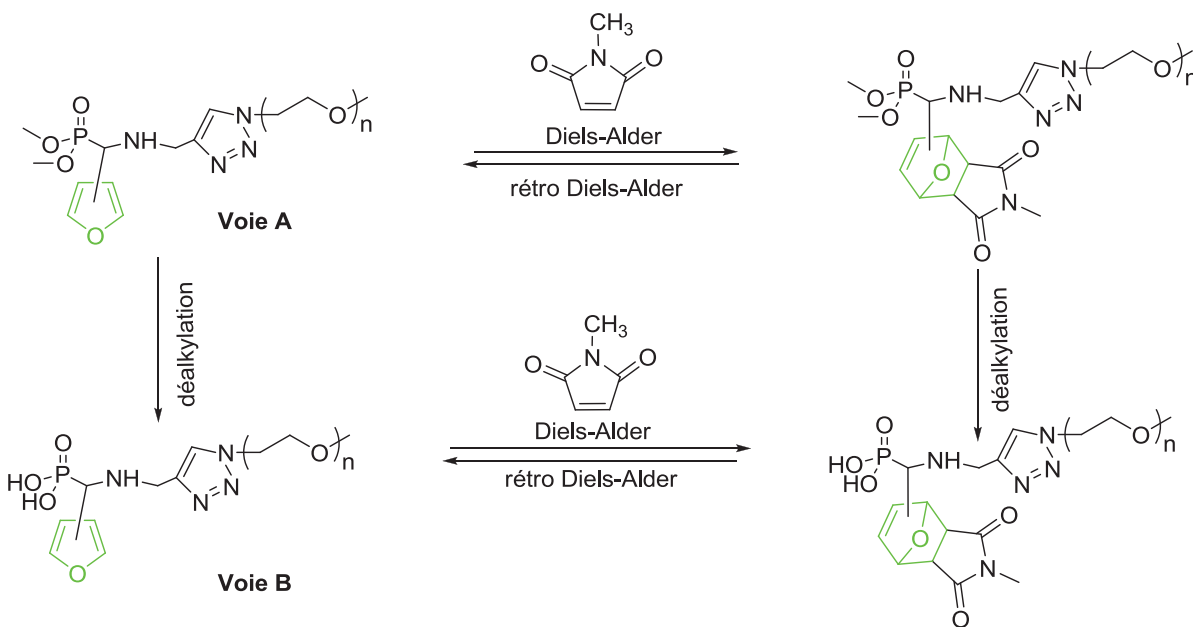


Schéma III-3. Etude de la réactivité du cycle furane des POEs vis-à-vis d'une réaction de (rétro) Diels-Alder.

La réaction de Diels-Alder a, dans un 1^{er} temps, été étudiée à partir de la molécule modèle 3-furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (**10**) avec le *N*-méthylmaléimide. Avant de discuter des résultats obtenus, un rappel bibliographique sur les potentialités de la réaction de Diels-Alder en synthèse macromoléculaire est présenté.

I- Rappels bibliographiques sur la réaction de Diels-Alder en synthèse macromoléculaire

Au cours de la dernière décennie, une attention croissante a été portée sur l'utilisation de réactions rapides répondant aux trois critères suivants : efficacité, universalité et sélectivité pour la synthèse d'architectures macromoléculaires bien définies. Parmi ces réactions regroupées sous le nom de chimie "click", la réaction de Diels-Alder présente l'avantage de pouvoir être conduite en absence de catalyseur, dans des conditions douces et d'être thermoréversible. Les couples diène/diénophile les plus utilisés en chimie des polymères sont les couples anthracène/maléimide, furane/maléimide et butadiène/dithioester déficitaires en électrons (Tableau III-1).¹⁷ La gamme de température à laquelle se produit la réaction de cycloaddition et de cycloréversion peut être modulée en fonction de la nature du diène et du diénophile. Ainsi, les systèmes diène/dithioester peuvent subir une cycloaddition de Diels-Alder à des températures modérées de l'ordre de 50°C pour le butadiène et à température ambiante pour le cyclopentadiène.¹⁸ Les réactions de cycloaddition anthracène/maléimide sont généralement conduites à température élevée, proche de 110°C.¹⁹ Pour le couple furane/maléimide, la cycloaddition peut être réalisée à de plus faibles températures mais l'adduit obtenu n'est pas stable au-delà de 100°C.

Cette thermoréversibilité a été utilisée pour apporter de nouvelles propriétés à des architectures macromoléculaires complexes. Ainsi, des polycondensats ont été synthétisés à partir de monomères difonctionnels présentant à la fois un groupement fonctionnel diène et un groupement fonctionnel diénophile ou par réaction intermoléculaire à partir de bisdiènes et de bisdiénophiles (Schéma III-4, A) en vue d'obtenir des polymères facilement recyclables.¹ La réaction de Diels-Alder a été associée aux techniques de polymérisation vivante/contrôlée (polymérisations radicalaires contrôlées, polymérisations par ouverture de cycle) pour accéder à des architectures macromoléculaires originales, tels des copolymères à blocs²⁰ (Schéma III-4, B) ou greffés (Schéma III-4, C).²¹ Des matériaux réticulés de façon réversible ont également été synthétisés par réaction de polymères porteurs de groupements maléimide avec des polymères porteurs de groupements furane ou des molécules multifonctionnalisées par des groupements furane (Schéma III-4, D). Ces matériaux sont réputés posséder de très bonnes propriétés mécaniques et sont thermiquement autocicatrisants.²² Des hydrogels²³ ont ainsi été obtenus et

trouvent des applications dans le domaine des biomatériaux pour la fabrication de muscles artificiels ou de valves chimiques.^{24,25}

La réaction de cycloaddition de Diels-Alder a également été utilisée avec succès pour synthétiser des dendrimères et des polymères dendritiques.^{26,27,28} McElhanon *et al.* ont rapporté, en 2001, la 1^{ère} application de la réaction de Diels-Alder pour la synthèse de dendrimères à partir d'un cœur issu d'une molécule fonctionnalisée par plusieurs groupements furane et de polymères porteurs d'un groupement maléimide (Schéma III-4, E).

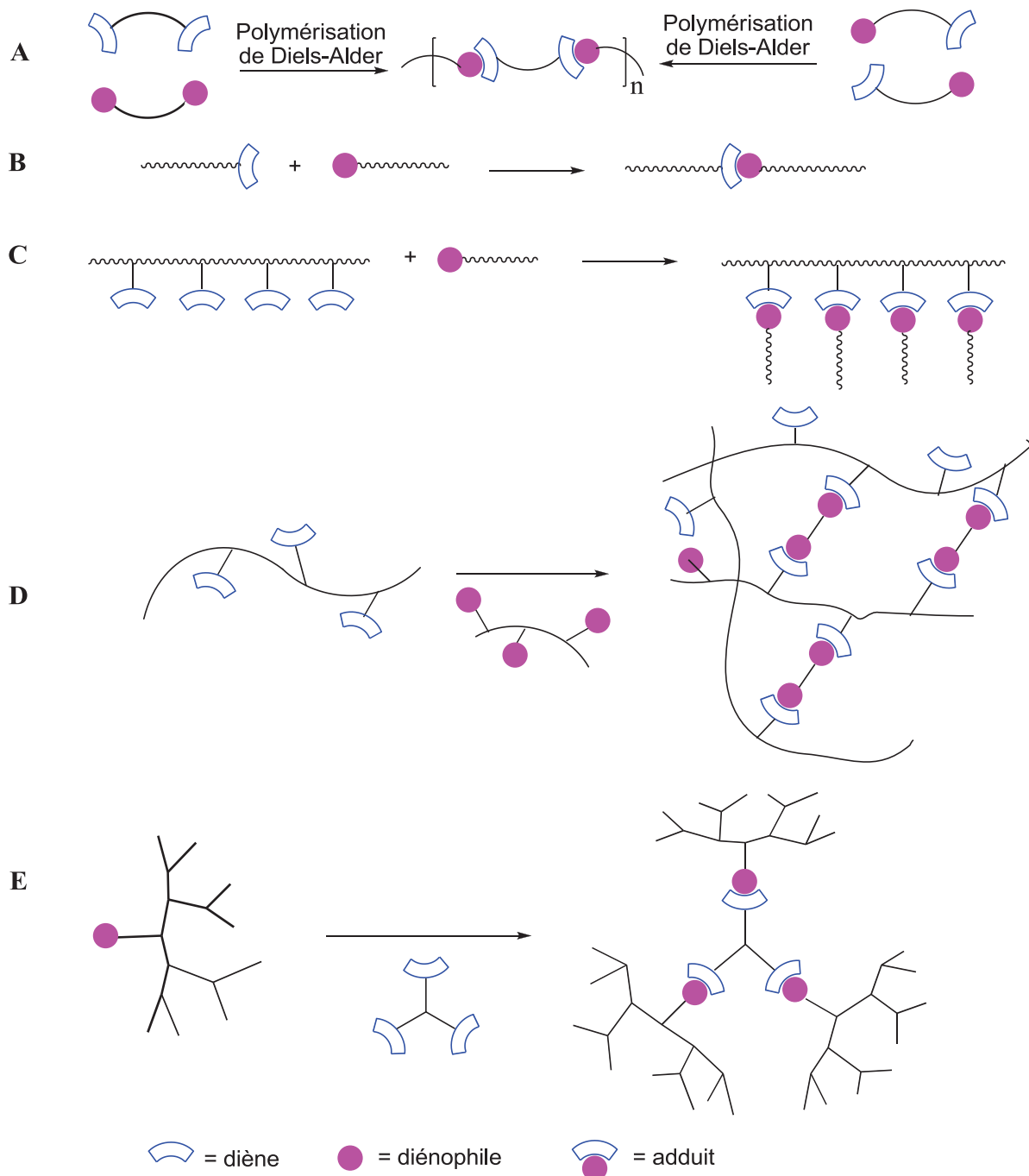
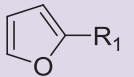
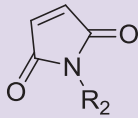
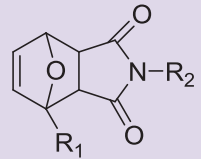
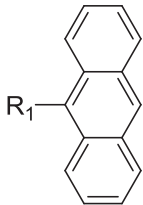
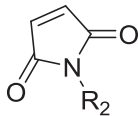
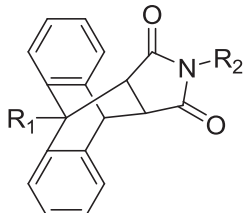
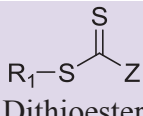

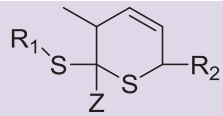
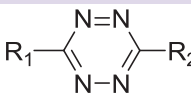
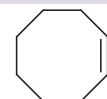
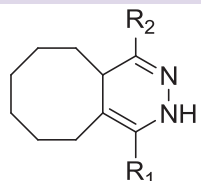


Schéma III-4. Structures polymères synthétisées par réaction de Diels-Alder.

Tableau III.1. Diènes et diénophiles les plus utilisés en synthèse des polymères pour la réaction de Diels-Alder.¹⁷

Diène	Diénophile	Réaction	Conditions	Adduit	Références
 Furane	 Maléimide	Cycloaddition [4+2] de Diels-Alder	Chloroforme (CHCl ₃), Reflux, 72 h ----- Acétate d'éthyle (EtOAc) Reflux, 48 h ----- Dichlorométhane (DCM) Température ambiante (TA), 24 h		15,29,30,31,32 ----- 33,34 ----- 35
 Anthracène	 Maléimide	Cycloaddition [4+2] de Diels-Alder	Toluène Reflux, 48 h		20,21
 Dithioester	 Diène	Hétérocycloaddition [4+2] de Diels-Alder ^a (HDA)	Acide trifluoroacétique, CHCl ₃ TA, 10 min. ----- ZnCl ₂ , CHCl ₃ 50°C, 24 h		36,37 ----- 38
 Tétrazine	 Cyclooctène	Cycloaddition [4+2] de Diels-Alder à demande inverse ^b	Tétrahydrofurane (THF) 25°C, 40 min.		39,40,41,42,43

^a La cycloaddition de Diels-Alder conduit à la formation de nouvelles liaisons carbone-carbone alors que l'hétérocycloaddition de Diels-Alder génère de nouvelles liaisons hétéroatome-hétéroatome.

^b La cycloaddition de Diels-Alder consiste en une réaction de cycloaddition [4 + 2] entre un diène conjugué (4 π) riche en électrons et un diénophile (2 π) pauvre en électrons alors que la cycloaddition de Diels-Alder à demande inverse consiste en une réaction de cycloaddition [4 + 2] entre un diène conjugué (4 π) pauvre en électrons et un diénophile (2 π) riche en électrons.

La réaction de cycloaddition de Diels-Alder a également été intensivement utilisée pour la fonctionnalisation de surfaces et de nanostructures organiques ou inorganiques conduisant à des matériaux hybrides^{44,45} afin d'améliorer leurs propriétés.⁴⁶

La cycloaddition de Diels-Alder s'est révélée une réaction particulièrement adaptée pour la bioconjugaison,⁴⁷ la modification de biomolécules¹⁷ ou la synthèse de systèmes à libération contrôlée de principes actifs⁴⁸ car elle s'effectue rapidement (quelques heures), avec de très bons rendements, dans des conditions douces, *i.e.* à température ambiante dans l'eau, sans réactions secondaires et en absence de catalyseur et ce, de façon réversible. De plus, les fonctions réactives de cette réaction sont inertes vis-à-vis de la plupart des fonctionnalités des biomolécules, *i.e.* -COOH, -OH et NH₂. Ainsi, Shi *et al.*⁴⁸ ont synthétisé des copolymères greffés poly(2-méthyl-2-carboxytriméthylène carbonate-*co*-D,L-lactide)-*g*-poly(oxyde d'éthylène)-furane qui s'auto-organisent dans l'eau pour former des nanoparticules micellaires (Schéma III-5), dont les groupements furane terminaux ont été utilisés pour ancrer de manière covalente des anticorps du cancer du sein anti-HER2. La réversibilité de la réaction de Diels-Alder peut également être mise à profit pour synthétiser des nanoparticules complexes et multifonctionnelles aptes à immobiliser des molécules adaptées à l'imagerie, au diagnostic ou à la libération contrôlée de principes actifs.

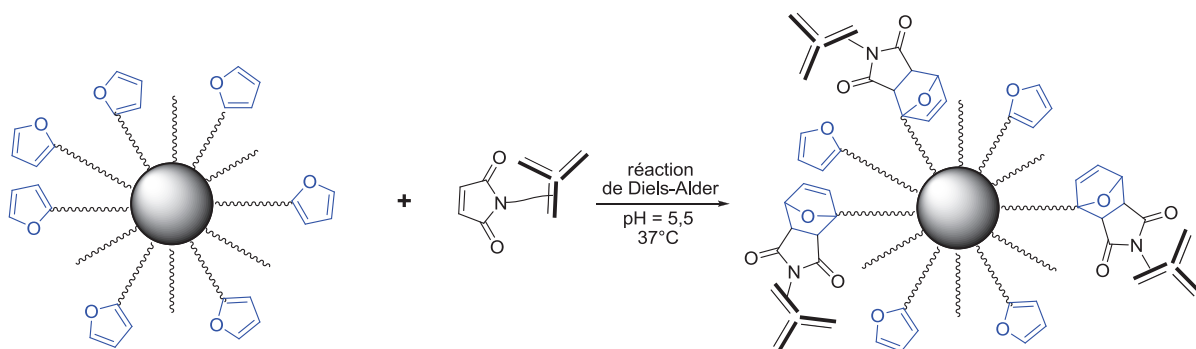


Schéma III-5. Représentations schématiques de l'auto-assemblage de nanoparticules micellaires poly(2-méthyl-2-carboxytriméthylène carbonate-*co*-D,L-lactide)-*g*-poly(oxyde d'éthylène)-furane et de la réaction de Diels-Alder entre la fonctionnalité furane et la fonctionnalité maléimide de l'anticorps anti-HER2.⁴⁸

II- Etude de la réaction de Diels-Alder sur molécule modèle

La réaction de Diels-Alder a tout d'abord été effectuée entre le 3-furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (**10**) et le *N*-méthylmaléimide (Schéma III-6) selon des conditions précédemment rapportées dans la littérature.⁴⁹ La réaction a été réalisée à 50°C, en proportions stœchiométriques, sans catalyseur, dans le chloroforme deutéré (CDCl₃), afin d'effectuer un suivi cinétique par spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton (¹H) (Figure III-1 et Tableau III-2).

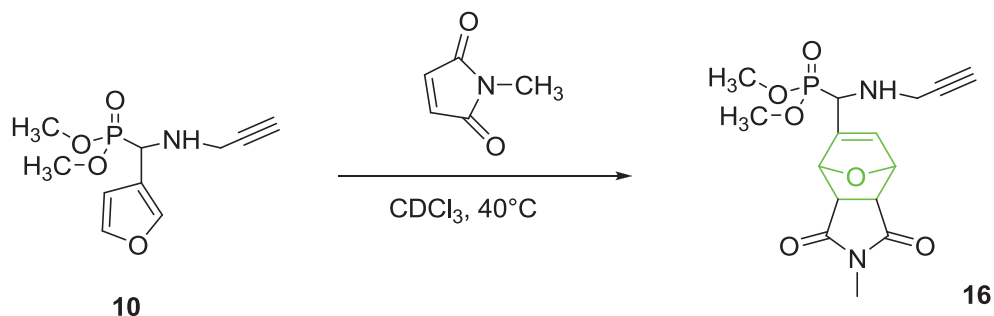


Schéma III-6. Réactivité du 3-furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle **10** vis-à-vis du *N*-méthylmaléimide.

L'analyse RMN ^1H de **16** met en évidence l'apparition des signaux à 4,95-5,38 ppm (pics b' & e', Figure III-1C) caractéristiques des protons des groupements CH-O de l'oxanorbornène et la disparition des signaux à 7,51 ppm, à 7,44 ppm et à 6,55 ppm, caractéristiques des protons des groupements CH du furane (pics b, e et d, respectivement, Figure III-1A), et d'un signal à 6,72 ppm (pics 1 & 2, Figure III-1A) caractéristique des protons des groupements CH du *N*-méthylmaléimide, prouvant que la réaction de Diels-Alder a eu lieu. La conversion de la réaction a été suivie par comparaison des intégrations des signaux à 4,95-5,38 ppm caractéristiques des protons des groupements CH-O de l'oxanorbornène ($I_{b' \& e'}$, Figure III-1C) et du signal à 2,29 ppm caractéristique du proton alcyne vrai $\equiv\text{CH}$ (I_f , Figure III-1C). Les résultats (Tableau III-2) montrent que la réaction de Diels-Alder est quantitative au bout de 5 jours de réaction (ou 120 h). On observe une conversion de l'ordre de 50% au bout de 24 h puis un ralentissement de la réaction, ce qui nécessite de poursuivre la réaction jusqu'à 120 h pour atteindre une conversion quantitative.

Tableau III-2. Etude cinétique de la réaction de Diels-Alder entre **10** et le *N*-méthylmaléimide en absence de catalyseur à 40 °C dans CDCl_3 .

Durée de réaction (h)	24	48	72	96	120
$I_{b' \& e'} : I_f^a$	1,00:1,03	1,56:1,00	1,70:1,00	1,80:1,00	2,00:1,08
Conv. ^a (%)	50	78	85	90	100

^a déterminé par spectroscopie RMN ^1H par comparaison des intégrations des signaux à 4,95-5,38 ppm caractéristiques des protons des groupements CH-O de l'oxanorbornène et du signal à 2,29 ppm correspondant au proton de l'alcyne vrai.

La conversion peut également être suivie à partir du signal f à 4,31-4,45 ppm (Figure III-1A) caractéristique du proton CH-P qui se présente sous la forme d'un doublet en raison du couplage du proton CH-P avec le phosphore. La constante de couplage $J_{HP} = 16,7$ Hz est du même ordre de grandeur que celle observée dans la littérature⁵⁰ pour une molécule semblable ($J_{HP} = 25,6$ Hz pour le *t*-butylaminofurane-2-ylméthylphosphonate de diméthyle). Lors de la réaction de Diels-Alder, on observe un déplacement vers les hauts champs du signal de ce groupement méthine

CH-P de 4,31-4,45 ppm (pic f, Figure III-1A) à 4,09-4,28 ppm (pic f', Figure III-1B). Le signal f apparaît sous forme de deux doublets. Ce "doublement" provient de la formation, lors de la réaction de Diels-Alder, des deux adduits *endo* et *exo*. Sur la base de travaux précédemment publiés^{30,51}, les pics *endo* et *exo* ont été identifiés (expansion entre 4,0 et 4,5 ppm, Figure III-1B) et le pourcentage du stéréoisomère *endo*, calculé à partir des intégrations, est de 69%. Ce pourcentage est en accord avec ce qui a été observé pour la réaction entre le furane et le *N*-méthylmaléimide dans l'acétonitrile à 40°C pendant 6 h où l'isomère *endo* a été obtenu majoritairement (63%) en raison de sa plus grande stabilité (énergie libre isomère *exo* = 25,2 kcal/mol ; énergie libre isomère *endo* = 24,9 kcal/mol).⁵²

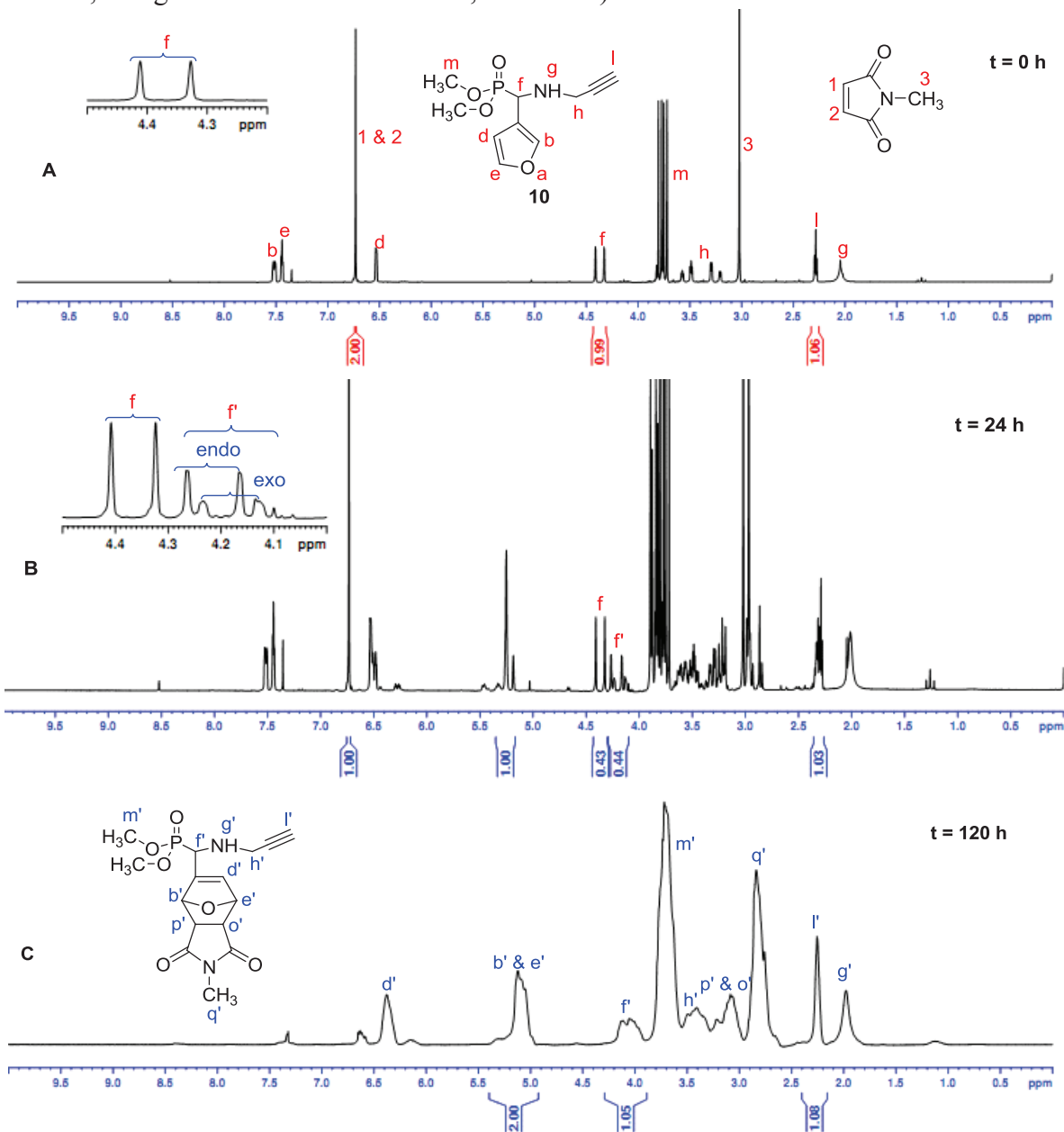


Figure III-1. Spectres RMN ^1H de la réaction de **10** avec le *N*-méthylmaléimide à (A) $t = 0 \text{ h}$, (B) $t = 24 \text{ h}$, (C) $t = 120 \text{ h}$; solvant : CDCl_3 .

De même, la spectroscopie RMN du phosphore (^{31}P) montre la disparition du signal du phosphore de **10** à 25,43 ppm (Figure III-2A) et l'apparition de quatre pics du phosphore de **16** à 23,98 ppm, 23,22 ppm, 23,10 ppm et 22,94 ppm (Figure III-2B). L'obtention de quatre pics s'explique par la présence de 5 centres stéréogènes dans la molécule **16** et par la relation de configuration univoque entre b' et e', et entre p' et o', qui conduit à la formation de 4 diastéréoisomères distincts.

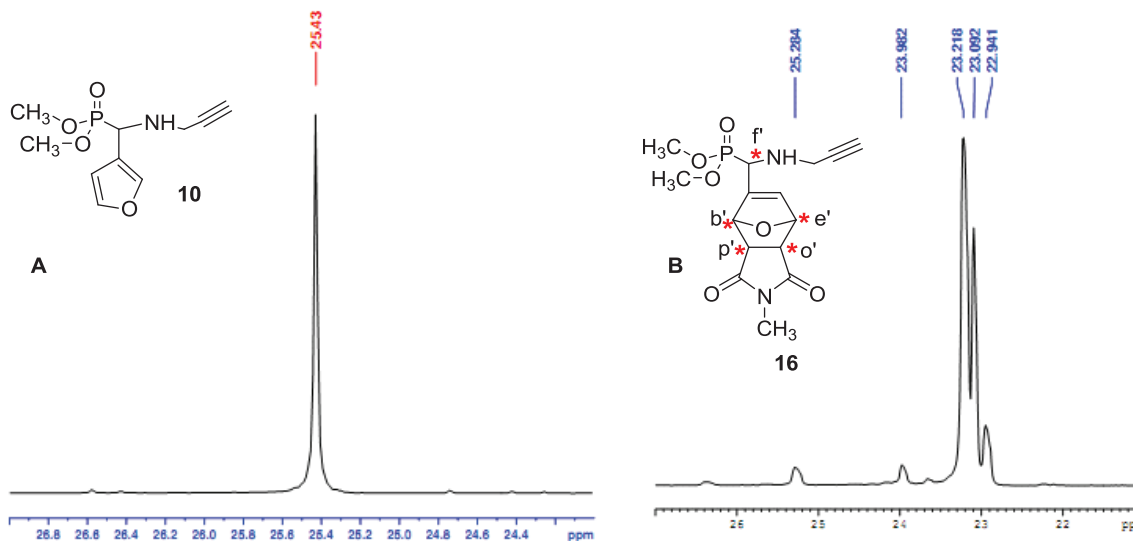


Figure III-2. Spectres RMN ^{31}P découplé ^1H de (A) avant la réaction de Diels-Alder et (B) après la réaction de Diels-Alder ; solvant : CDCl_3 .

III- Réactivité des POEs à extrémité phosphonate

La réaction de Diels-Alder a tout d'abord été étudiée entre le poly(oxyde d'éthylène) 2 000 à extrémité diméthylphosphoryl(2-*N*-(5-méthyltriazole)méthylamino)furane **12a** ou le poly(oxyde d'éthylène) 2000 à extrémité diméthylphosphoryl(3-*N*-(5-méthyltriazole)méthylamino)furane **13a** et le *N*-méthylmaléimide afin d'étudier l'influence de la substitution du furane.

III-1. Influence de la substitution du furane

Les POEs à extrémité phosphonate de diméthyle à fonctionnalité 2-furanyle **12a** et à fonctionnalité 3-furanyle **13a** ont subi une réaction de Diels-Alder avec la molécule modèle *N*-méthylmaléimide (Schéma III-7) à 40°C pendant 5 jours dans CDCl_3 ou le *N,N*-diméthylformamide (DMF) (Tableau III-3). La réaction a été conduite en proportions

stœchiométriques ainsi qu'avec un excès en *N*-méthylmaléimide conformément aux procédures généralement rapportées dans la littérature.^{30,44,53}

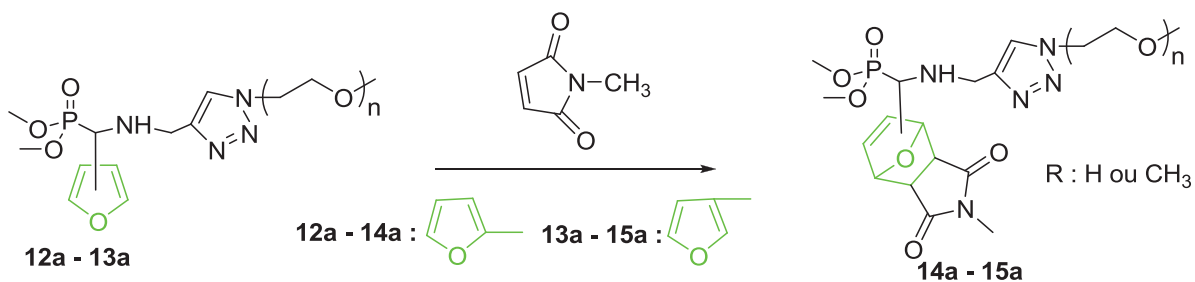
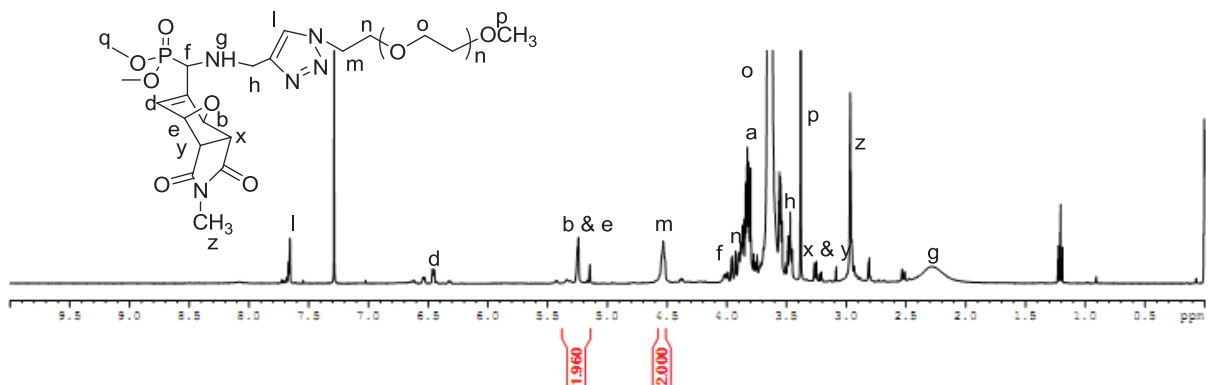


Schéma III-7. Etude de la réaction de Diels-Alder entre **12a** ou **13a** et le *N*-méthylmaléimide.

La conversion de la réaction a été calculée à partir des spectres RMN ¹H par comparaison des intégrations des signaux à 5,13-5,39 ppm (I_b & e, Figure III-3) caractéristiques des protons des groupements CH-O de l'oxanorbornène et du signal à 4,52 ppm (I_m, Figure III-3) correspondant aux protons du groupement méthylène du POE en α du cycle triazole.



Les résultats obtenus montrent qu'aucune réaction ne se produit à partir de **12a** avec un rapport [*N*-méthylmaléimide]/[**12a**] de 1, 5 et 20 (Tableau III-3, entrées 1 & 3). En ce qui concerne **13a**, la conversion n'excède pas 13% (Tableau III-3, entrées 2 & 4). L'utilisation d'un très grand excès de *N*-méthylmaléimide²¹ permet d'augmenter la conversion à 82% dans le cas de **13a** (Tableau III-3, entrée 6). Par contre, l'utilisation du DMF comme solvant polaire aprotique¹ a permis d'atteindre une conversion quantitative en 5 jours à partir du diène **13a** (Tableau III-3, entrée 8). Ces conditions ont également permis d'observer la réaction de Diels-Alder à partir du diène **12a**, mais avec une conversion limitée à 36% (Tableau III-3, entrée 7). Dans les mêmes conditions de réaction, la réaction de cycloaddition de Diels-Alder se fait plus facilement à partir du POE à fonctionnalité 3-furanyloxy **13a** par rapport au POE à fonctionnalité 2-furanyloxy **12a**. Ce résultat est en accord avec les travaux de Northrop *et al.*⁵¹ qui ont montré que la réaction de Diels-Alder entre le 2-carboxaldéhyde furane et le maléimide, en proportions stœchiométriques, à 75°C dans

l'acétonitrile deutéré ne forme pas l'adduit attendu. Par contre, l'utilisation du 3-carboxaldéhyde furane en tant que diène selon les mêmes conditions opératoires permet d'accéder à l'adduit de Diels-Alder.

Pour confirmer ces résultats, nous avons également testé la réactivité du poly(oxyde d'éthylène) 2 000 à extrémité diméthylphosphonate(2-*N*-(5-méthyltriazone)méthylamino) 5-méthylfurane, synthétisé selon la même procédure que **12a** et **13a**, qui été obtenu à partir du 5-méthyl-2-carboxaldéhyde furane commercial (Schéma III-8).

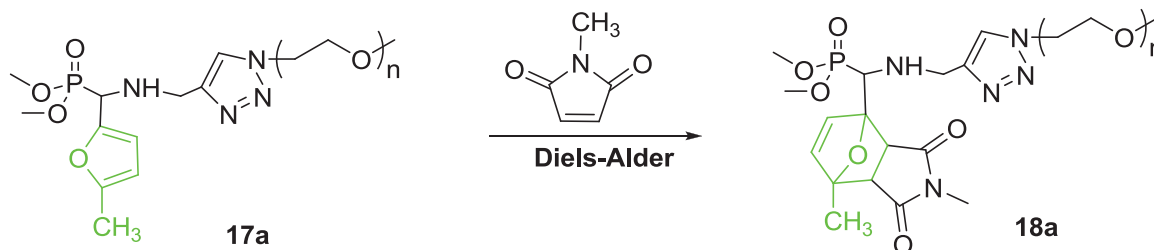


Schéma III-7. Etude de la réaction de Diels-Alder entre **17a** et le *N*-méthylmaléimide

La réaction, effectuée avec un rapport [*N*-méthylmaléimide]/[**17a**] de 20 (Tableau III-3, entrée 9) dans le DMF pendant 5 jours, conduit à une conversion de 50% montrant une activation de la réaction de Diels-Alder grâce à l'effet inductif donneur du groupement méthyle, suggérant la possibilité d'augmenter la réactivité vis-à-vis de la réaction de Diels-Alder du groupement 3-furanyle par un (ou des) substituant(s) électrodonneur(s).

Tableau III-3. Résultats de la réaction de Diels-Alder entre **12a** ou **13a** et le *N*-méthylmaléimide à 40°C pendant 5 jours.

Entrée	POE à extrémité phosphonate	Solvant	[<i>N</i> -méthylmaléimide] ₀ /[13a ou 12a] ₀	Conv. ^a (%)
1	12a	CDCl ₃	1	0
2	13a	CDCl ₃	1	10
3	12a	CDCl ₃	5	0
4	13a	CDCl ₃	5	13
5	12a	CDCl ₃	20	0
6	13a	CDCl ₃	20	82
7	12a	DMF	20	36
8	13a	DMF	20	98
9	17a	DMF	20	50

^a déterminé par spectroscopie RMN ¹H par comparaison des intégrations des signaux à 5,13-5,39 ppm caractéristiques des protons des groupements CH-O de l'oxanorbornène et du signal à 4,52 ppm correspondant aux protons du groupement méthylène du POE en α du cycle triazole.

Le produit **14a** issu de la réaction de Diels-Alder de **13a** avec le *N*-méthylmaléimide a été obtenu sous forme d'un solide jaune avec une conversion de 98% et un rendement de 78% après précipitation dans l'éther diéthylique à froid (Tableau III-3, entrée 8). L'analyse RMN ^1H (Figure III-3) montre la disparition des signaux à 7,51 ppm, à 7,44 ppm et à 6,55 ppm caractéristiques des protons des groupements CH du furane, respectivement, et l'apparition de signaux à 5,13-5,39 ppm (pics b & e, Figure III-3), caractéristiques des groupements CH-O de l'oxanorbornène, mettant en évidence que la réaction de Diels-Alder de **14a** est effective. L'adduit **14a** (Figure III-3) est constitué des deux stéréoisomères *endo* et *exo*, conformément à ce qui a été observé pour la synthèse de **16**. La proportion de stéréoisomère *endo*, calculée à partir du spectre RMN ^1H par comparaison de l'intégration des signaux à 5,13-5,39 ppm caractéristiques des protons CH-O de l'oxanorbornène *endo* (pic b, Figure III-3) et *exo* (pic e, Figure III-3), est de 80%.

De même, la spectroscopie RMN ^{31}P montre la disparition totale du pic caractéristique du phosphore de **13a** à 25,53 ppm (Figure III-4A) et l'apparition de quatre pics caractéristiques du phosphore des quatre diastéréoisomères de **14a** à 24,36 ppm, à 23,34 ppm, à 23,18 ppm et à 22,90 ppm (Figure III-4B), conformément à ce qui a été précédemment observé pour la molécule modèle **16**.

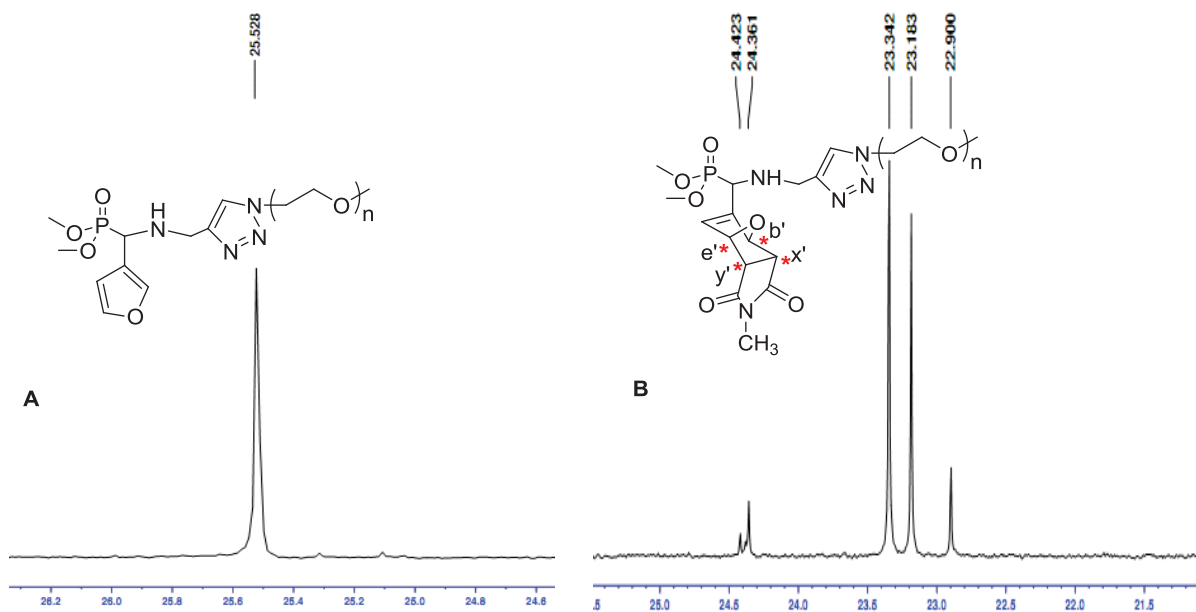


Figure III-4. Spectre RMN ^{31}P découplé ^1H de (A) **13a** et (B) **14a** ; solvant : CDCl_3 .

La structure du POE **14a** à extrémité phosphonate de diméthyle et à fonctionnalité oxanorbornène a également été vérifiée par spectrométrie de masse Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight (MALDI-TOF). Sur le spectre MALDI-TOF (Figure III-5A), on observe deux populations. La population majoritaire, avec un écart moyen entre les pics de 44,04 caractéristique de l'unité constitutive du poly(oxyde d'éthylène)

($M_{\text{calc.}} = 44,0262 \text{ g/mol}$), correspond au POE à extrémité phosphonate de diméthyle et à fonctionnalité furane **13a**. La population minoritaire, également avec un écart moyen entre les pics de 44,04, correspond au POE à extrémité phosphonate de diméthyle et à fonctionnalité oxanorbornène **14a**. Il semble que la réaction de rétro Diels-Alder se produise dans les conditions utilisées lors de l'analyse par spectrométrie de masse MALDI-TOF, comme cela a déjà été observé par D. Le *et al.*⁵⁴ L'utilisation de conditions d'analyse plus douces, c'est-à-dire d'une puissance laser plus faible, a permis d'obtenir un spectre de masse avec une population majoritaire caractéristique de **14a** (Figure III-5B), ce qui confirme que la réaction de Diels-Alder est susceptible de se produire au cours de l'analyse MALDI-TOF sous l'effet du laser.

Nous avons mis en évidence que la réaction de Diels-Alder était quantitative dans le DMF à 40°C pendant 5 jours pour un rapport molaire [*N*-méthylmaléimide]/[diène] de 20 dans le cas du POE fonctionnalisé par le furane substitué en position 3. Nous allons maintenant étudier l'aptitude à la réaction de Diels-Alder de ce POE **13a** dans des conditions compatibles avec les milieux biologiques.⁵⁵

III-2. Influence des conditions de réaction

La synthèse de **14a** a été effectuée à TA ou à 40°C, dans l'eau²³, le chloroforme (CHCl_3)^{26,49}, le diméthylsulfoxyde deutéré (DMSO-d_6)⁵⁶ et le DMF¹ qui sont tous des bons solvants de la chaîne POE.⁵⁷ Les résultats montrent que, lorsque la réaction est conduite à température ambiante, il est nécessaire de prolonger le temps de réaction à 15 jours pour atteindre une conversion $\geq 95\%$ dans l'eau ou le chloroforme (Tableau III-4, entrées 3 & 6). Pour le DMSO, la conversion stagne à 88% et ce, même après 30 jours de réaction (Tableau III-4, entrée 11). L'augmentation de la température de réaction à 40°C puis à 77°C pour les cycloadditions de Diels-Alder effectuées dans l'eau a conduit à une diminution de la conversion (Tableau III-4, entrées 4 & 5). On observe, à ces températures, une gélification irréversible⁶ qui ralentit la cinétique de réaction entre le POE à extrémité phosphonate de diméthyle **13a** et le *N*-méthylmaléimide. Par contre, pour les réactions conduites dans le DMSO-d_6 et dans le DMF, l'augmentation de la température de réaction à 40°C a permis d'obtenir une conversion, après 5 jours, de 92% dans le DMSO-d_6 (Tableau III-4, entrée 14) et de 98% dans le DMF (Tableau III-4, entrée 16).

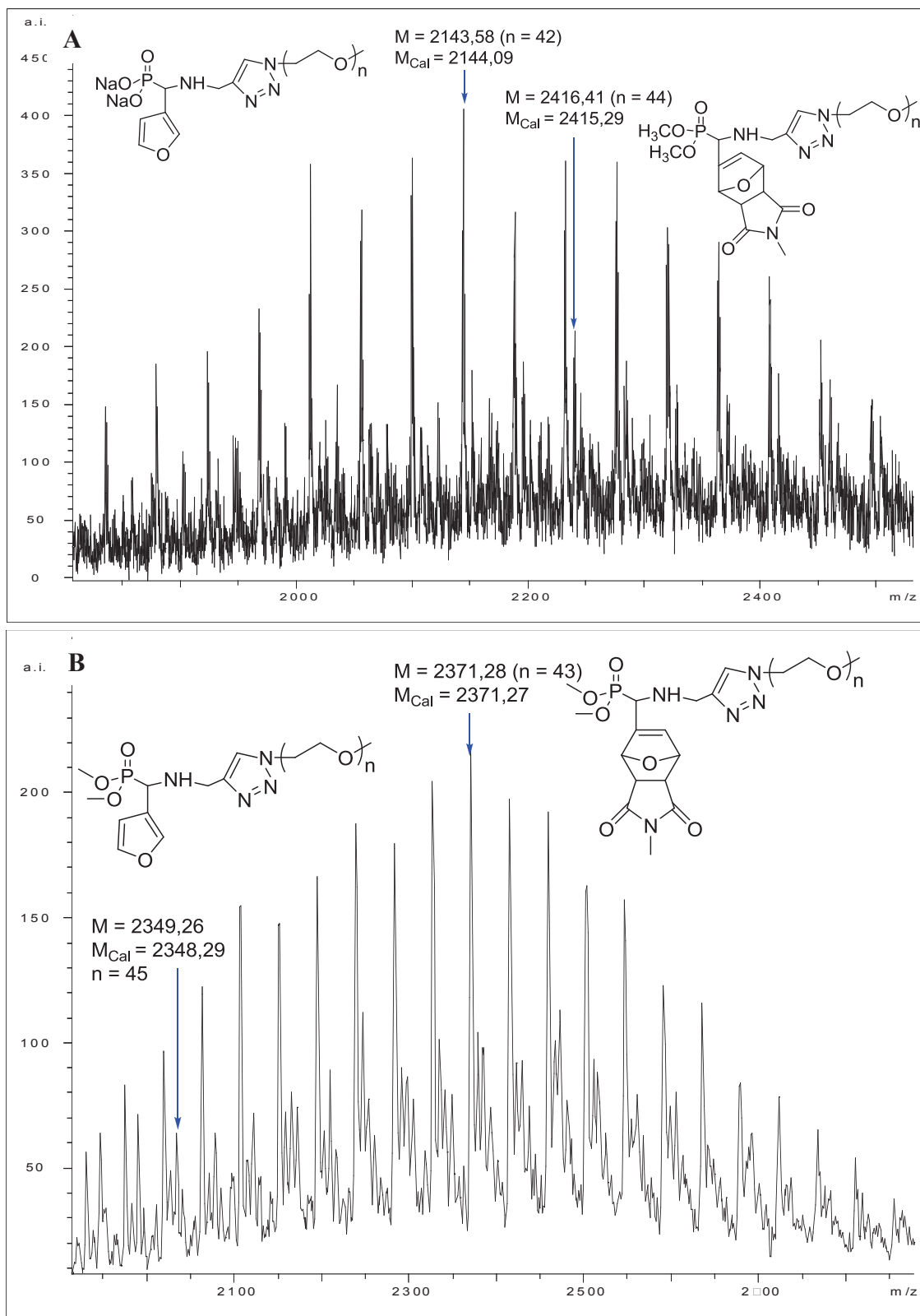


Figure III-5. Spectres de masse MALDI-TOF du poly(oxyde d'éthylène) 2 000 à extrémité phosphonate et à fonctionnalité oxanorbornène avec une puissance laser de (A) 17% et (B) 15%; matrice : 2-[(2E)-3-(4-*tert*-butylphényl)-2-méthylprop-2-énylidène]malononitrile (DCTB), trifluoroacétate de sodium (NaTFA).

Tableau III-4. Résultats de la réaction de Diels-Alder entre **13a** à extrémité diméthylphosphoryl(3-*N*-(5-méthyltriazole)méthylamino)furane et le *N*-méthylmaléimide.

Entrée	Solvant	Température (°C)	Durée	Conv. ^a (%)	Isomère ^b	
					<i>endo</i>	<i>exo</i>
1	H ₂ O	TA	3 h	5	-	-
2	H ₂ O	TA	13 j	92	85	15
3	H ₂ O	TA	15 j	96	85	15
4	D ₂ O	40	5 j	50	-	-
5	D ₂ O	77	5 j	36	-	-
6	CHCl ₃	TA	13 j	91	83	17
7	CHCl ₃	TA	15 j	95	86	14
8	CHCl ₃	40	1 j	58	-	-
9	CHCl ₃	40	3 j	78	81	19
10	CHCl ₃	40	7 j	87	81	19
11	CHCl ₃	40	13 j	95	82	18
12	DMSO-d ₆	TA	30 j	88	86	14
13	DMSO-d ₆	40	1 j	67	-	-
14	DMSO-d ₆	40	5 j	92	87	13
15	DMF	TA	5j	50	78	22
16	DMF	40	5 j	98	83	17

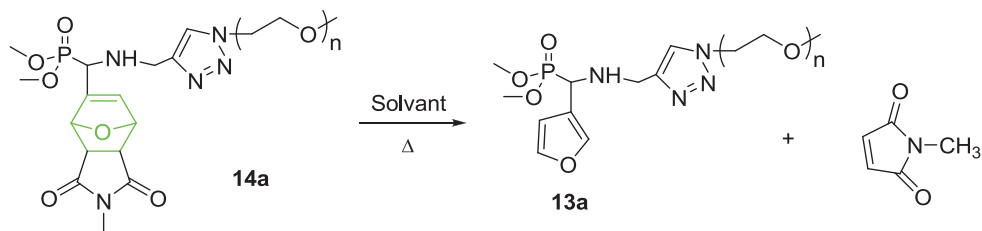
^a déterminé par spectroscopie RMN ¹H par comparaison des intégrations des signaux à 5,13-5,39 ppm caractéristiques des protons des groupements CH-O de l'oxanorbornène et du signal à 4,52 ppm correspondant aux protons du groupement méthylène du POE en α du cycle triazole. ^b déterminé par comparaison de l'intégration des signaux caractéristiques des protons CH-O de l'oxanorbornène *endo* à 5,19-5,24 ppm et *exo* à 5,12-5,17 ppm.

Dans les conditions utilisées (Tableau III-4), la proportion de stéréoisomère *endo* est toujours de l'ordre de 80%, conformément à ce qui a déjà été observé précédemment.

Les conditions les plus favorables à la réaction de Diels-Alder ont été obtenues avec le diène **13a**, dans lequel le groupement furane est substitué en position 3, dans le DMF à 40°C pendant 5 jours. Néanmoins, la réaction de Diels-Alder peut également être réalisée dans le DMSO et dans l'eau, qui sont compatibles avec les milieux biologiques avec des conversions supérieures à 90%.

III-3. Réaction de rétro Diels-Alder

La réaction de rétro Diels-Alder du POE à extrémité phosphonate de diméthyle et à fonctionnalité oxanorbornène **14a** a été effectuée à 110°C selon des conditions rapportées dans la littérature (Schéma III-9).^{58,59}

Schéma III-9. Réaction de rétro Diels-Alder de **14a**.

La réaction de rétro Diels-Alder de **14a** a été réalisée dans des solvants deutérés afin d'effectuer un suivi cinétique de la réaction. L'évolution du milieu réactionnel en fonction du temps est présentée dans le cas de la synthèse réalisée dans le DMSO- d_6 (Figure III-6). On observe l'apparition d'un signal à 6,95 ppm caractéristique des protons du groupement CH=CH du *N*-méthylmaleimide. La conversion de la réaction de rétro Diels-Alder a été calculée par RMN 1H par comparaison des intégrations des signaux à 5,13-5,39 ppm caractéristiques des protons des groupements CH-O de l'oxanorbornène de **14a** (pics b' & e', Figure III-6) et du signal à 4,52 ppm correspondant aux protons du groupement méthylène du POE en α du cycle triazole (pic m', Figure III-6).

Les résultats sont réunis dans le Tableau III-5. Nous observons, après une heure de réaction, une conversion de 34% lorsque la réaction est réalisée dans le DMSO- d_6 (Tableau III-5, entrée 1) et de 50% lorsque la réaction est réalisée dans le 1,1,2,2-tétrachloroéthane deutéré (TCE- d_2) (Tableau III-5, entrée 8). Lorsqu'on augmente le temps de réaction, les conversions au bout de 6 h atteignent 80% dans les deux cas (Tableau III-5, entrées 5 & 12). La réaction, poursuivie jusqu'à 11 h a permis d'atteindre une conversion de 86 à 90%. Au-delà de 11 h de réaction, une dégradation du produit a été observée que la réaction soit conduite dans le DMSO- d_6 ou le TCE- d_2 .

Tableau III-5. Résultats de la réaction de rétro Diels-Alder de **14a** à 110°C.

Entrée	Solvant	Durée (h)	Conv. ^a (%)	Entrée	Solvant	Durée (h)	Conv. ^a (%)
1	DMSO- d_6	1	34	8	TCE- d_2	1	50
2	DMSO- d_6	2	50	9	TCE- d_2	2	61
3	DMSO- d_6	3	66	10	TCE- d_2	3	69
4	DMSO- d_6	4	70	11	TCE- d_2	4	77
5	DMSO- d_6	6	80	12	TCE- d_2	6	80
6	DMSO- d_6	8	84	13	TCE- d_2	8	86
7	DMSO- d_6	11	86	14	TCE- d_2	11	90

^a déterminé par spectroscopie RMN 1H par comparaison des intégrations des signaux à 5,13-5,39 ppm caractéristiques des protons des groupements CH-O de l'oxanorbornène et du signal à 4,52 ppm correspondant aux protons du groupement méthylène du POE en α du cycle triazole.

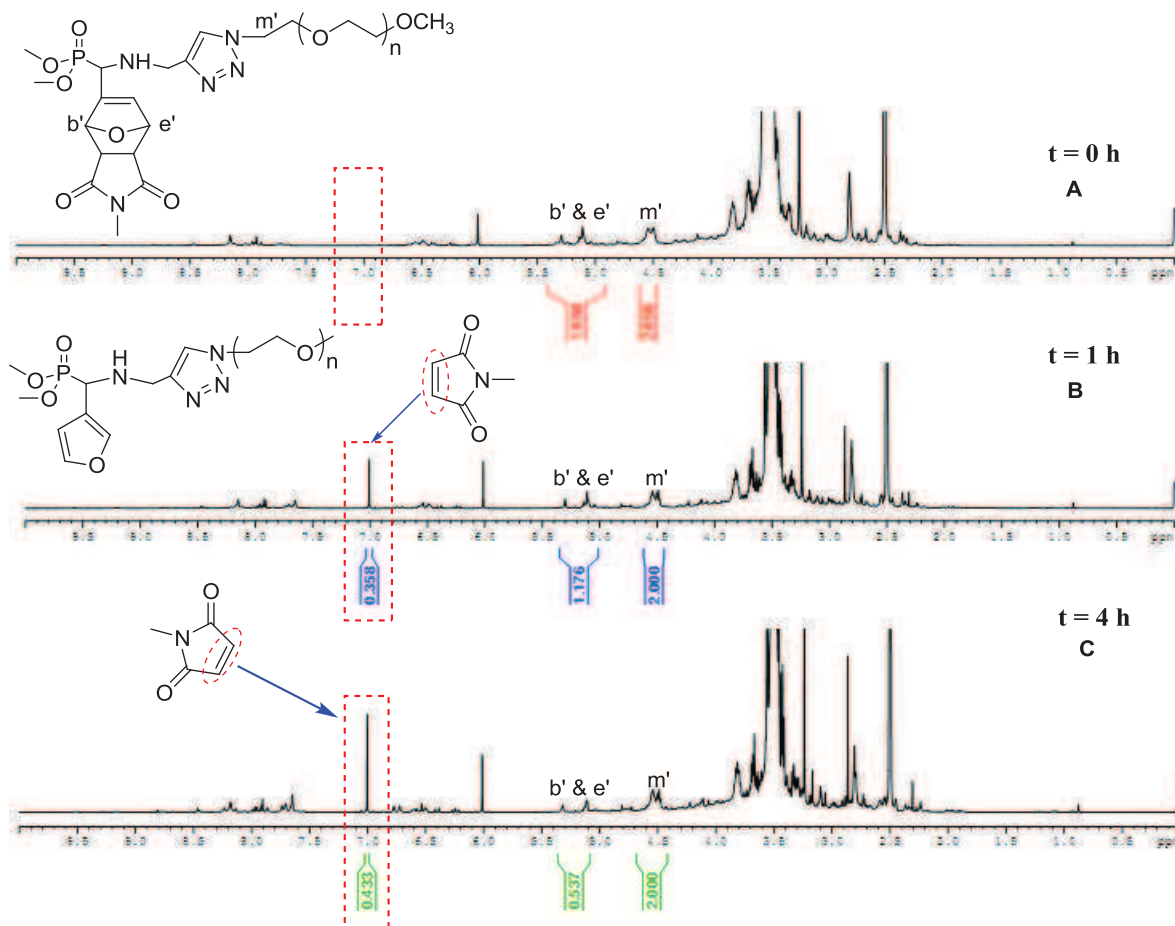


Figure III-6. Spectres RMN ^1H du suivi de la réaction de rétro Diels-Alder de **14a** dans le DMSO- d_6 à 110°C à (A) $t = 0$ h, (B) $t = 1$ h et (C) $t = 4$ h.

La réaction de rétro Diels-Alder de **14a** a été conduite avec succès dans le DMSO- d_6 et le TCE- d_2 avec des conversions de l'ordre de 90% après 11 h de réaction à 110°C . Ce composé **14a** a ensuite subi une réaction de déalkylation en vue de l'utiliser pour stabiliser des nanoparticules d'oxyde de fer.

III-4. Déalkylation du POE à extrémité phosphonate de diméthyle fonctionnalisé par un groupement oxanorbornène

La réaction de déalkylation du POE à extrémité phosphonate de diméthyle et à fonctionnalité oxanorbornène **14a** a été réalisée selon les conditions optimales précédemment déterminées dans le chapitre II (Schéma III-10).

Schéma III-10. Réaction de déalkylation de **14a**.

Le spectre RMN ^{31}P montre la disparition totale des pics caractéristiques du phosphore de **14a** à 24,36 ppm, à 23,34 ppm, à 23,18 ppm et à 22,90 ppm et l'apparition de quatre pics correspondant aux phosphores des quatre diastéréoisomères de **14a'** à des déplacements chimiques, caractéristiques du phosphore d'un groupement acide phosphonique, de 10,01 ppm, 9,29 ppm, 8,87 ppm et 8,16 ppm (Figure III-7). De plus, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) de **14a'** montre l'apparition d'une nouvelle bande à 3367 cm^{-1} , caractéristique du groupement acide phosphonique.

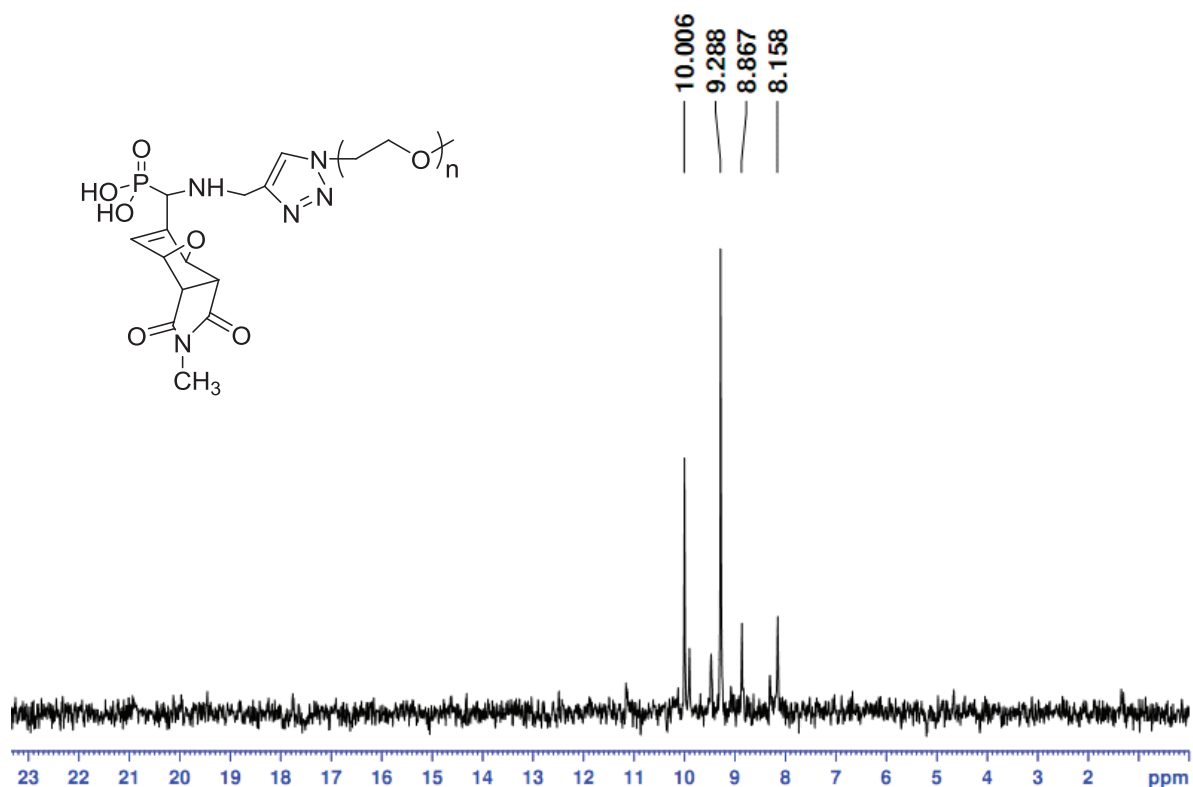


Figure III-7. Spectre RMN ^{31}P découplé ^1H de **14a'** après déalkylation de **14a** ; solvant : CD_3OD .

IV- Réactivité des POE à extrémité acide phosphonique

IV-1. Réaction de Diels-Alder

La réaction de Diels-Alder entre le POE à extrémité acide phosphonique à fonctionnalité 3-furanyle **13a'** et le *N*-méthylmaléimide a été effectuée dans les conditions optimales précédemment déterminées lors de l'étude de la réaction de Diels-Alder entre **12a** ou **13a** et le *N*-méthylmaléimide, c'est-à-dire dans le DMF, à 40°C pendant 5 jours (Schéma III-11). L'eau deutérée et le DMSO deutéré, compatibles avec le milieu biologique, ont également été testés (Tableau III-6).

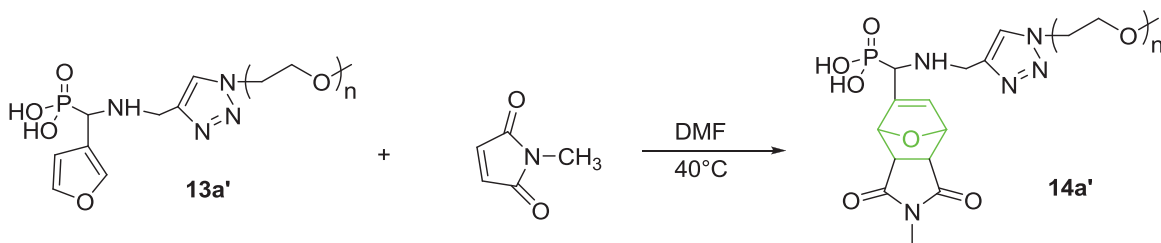


Schéma III-11. Synthèse de **14a'** par réaction de Diels-Alder entre **13a'** et le *N*-méthylmaléimide.

La conversion de la réaction de Diels-Alder a été calculée par comparaison des intégrations des signaux des groupements CH-O de l'oxanorbornène à 5,15-5,38 ppm (I_b' & e' , Figure III-8) et du signal à 4,52 ppm (I_m' , Figure III-8) correspondant aux protons du groupement méthylène du POE en α du cycle triazole.

Tableau III-6. Résultats de la réaction de Diels-Alder entre **13a'** et le *N*-méthylmaléimide à 40°C pendant 5 jours.

Entrée	Solvant	Conv. ^a (%)
1	DMF	50 ^b
2	D ₂ O	87
3	DMSO-d ₆	94

^a déterminé par spectroscopie RMN ¹H par comparaison des intégrations des signaux à 5,15-5,38 ppm caractéristiques des protons des groupements CH-O de l'oxanorbornène et du signal à 4,52 ppm correspondant aux protons du groupement méthylène du POE en α du cycle triazole. ^b Spectre RMN ¹H réalisé dans le DMSO-d₆.

Alors que la réaction effectuée dans le DMF à 40°C a conduit, au bout de 5 jours, à une conversion limitée à 50%, les réactions réalisées dans D₂O et DMSO-d₆, dans les mêmes conditions, présentent une conversion de 87% (Tableau III-6, entrée 2) et 94% (Tableau III-6, entrée 3), respectivement.

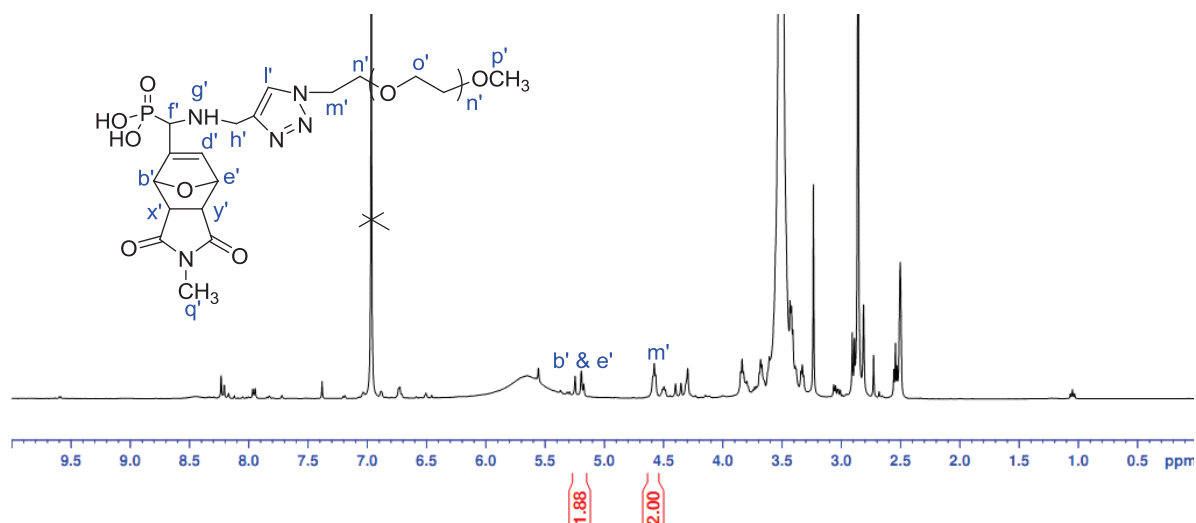


Figure III-8. Spectre RMN ^1H de **14a'** obtenu par réaction de Diels-Alder à 40°C pendant 5 jours entre **13a'** et le *N*-méthylmaléimide ; solvant : DMSO-d_6 .

Le spectre RMN ^{31}P du polymère obtenu est présenté Figure III-8. Nous constatons la disparition totale du pic à 13,21 ppm (Figure III-9A) caractéristique du phosphore de **13a'** et l'apparition des pics à 10,96 ppm, à 10,00 ppm, à 9,75 ppm et à 9,06 ppm (Figure III-9B) correspondant aux phosphores des quatre diastéréoisomères de **14a'**.

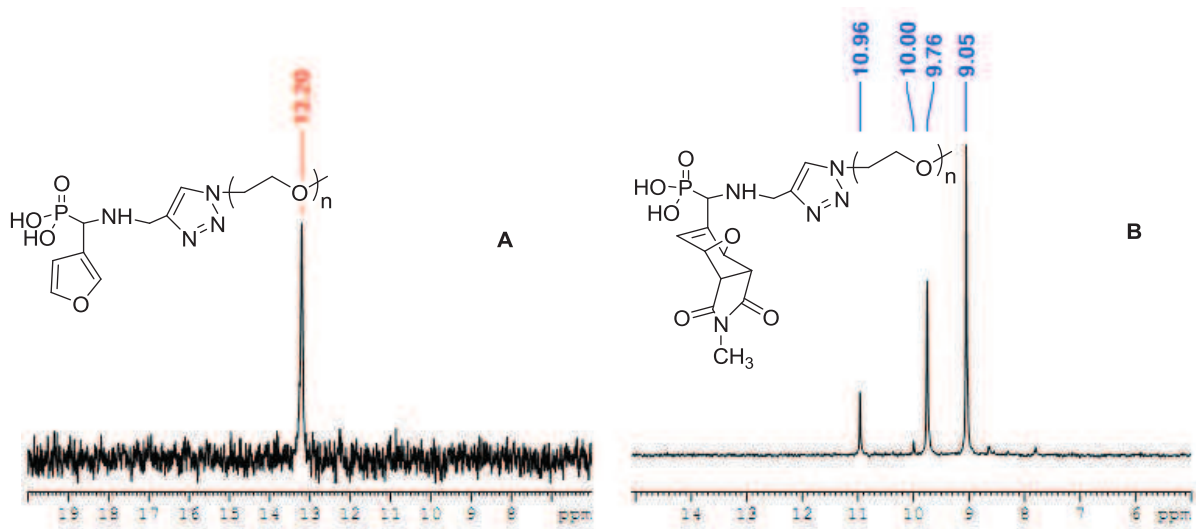


Figure III-8. Spectres RMN ^{31}P découplé ^1H de (A) **13a'** (solvant : CD_3OD) et (B) **14a'** (solvant : CDCl_3).

Les réactivités du POE à extrémité acide phosphonique **13a'** et du POE à extrémité phosphonate de diméthyle **13a** vis-à-vis de la réaction de Diels-Alder dépendent de la nature du solvant. Si **13a** montre une très bonne réactivité dans le DMF à 40°C pendant 5 jours avec une conversion de 98% (Tableau III-4, entrée 16), **13a'** atteint une conversion limitée de 50% (Tableau III-6,

entrée 1). Par contre, les réactions conduites dans D₂O à 40°C pendant 5 jours ont permis d'atteindre une conversion supérieure à 85% pour **13a'** (Tableau III-6, entrée 2) alors qu'elle est seulement de 50% pour **13a** (Tableau III-4, entrée 4). Seul le DMSO-d₆ permet d'atteindre des conversions de l'ordre de 93% aussi bien avec **13a** (Tableau III-4, entrée 14) que **13a'** (Tableau III-6, entrée 3).

IV-2. Réaction de rétro Diels-Alder

La réaction de rétro Diels-Alder du POE à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité oxanorbornène **14a'** a été effectuée à 110°C selon des conditions optimales précédemment déterminées lors la réaction de rétro Diels-Alder du POE à extrémité phosphonate de diméthyle et à fonctionnalité oxanorbornène **14a** (Schéma III-12).

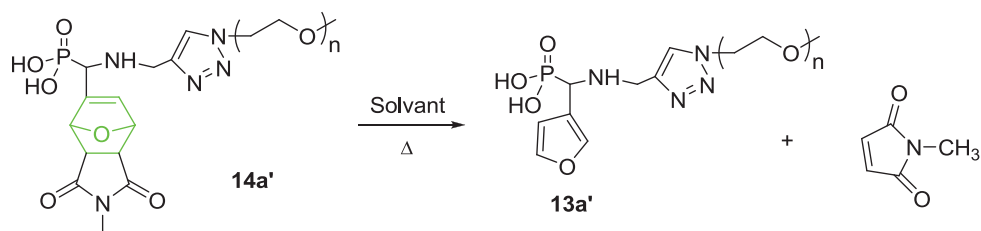


Schéma III-12. Réaction de rétro Diels-Alder de **14a'**.

Un suivi cinétique de la réaction de rétro Diels-Alder de **14a'** dans le DMSO-d₆ et le TCE-d₂ a été effectué par spectroscopie RMN ¹H. Le spectre RMN ¹H de la réaction réalisée dans le TCE-d₂ (Figure III-10A) confirme clairement l'apparition d'un signal à 6,62 ppm caractéristique des protons du groupement CH=CH du *N*-méthylmaleimide. Par ailleurs, l'intégration de ce pic augmente simultanément avec la diminution de l'intégration des signaux à 5,13-5,39 ppm caractéristiques des protons des groupements CH-O de l'oxanorbornène de **14a'** (Figure III-10B), mettant en évidence que la réaction a bien eu lieu. La conversion de la réaction de rétro Diels-Alder a été suivie par RMN ¹H par comparaison des intégrations des signaux à caractéristiques des protons des groupements CH-O de l'oxanorbornène de **14a'** et du signal à 4,52 ppm correspondant aux protons du groupement méthylène du POE en α du cycle triazole.

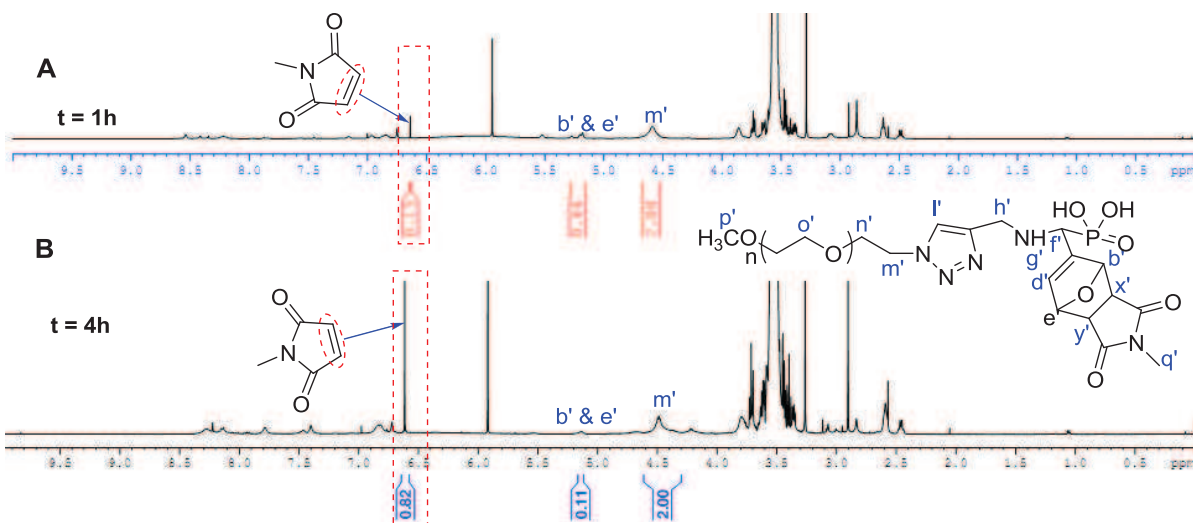


Figure III-10. Spectres RMN ^1H du suivi de la réaction de rétro Diels-Alder de **14a'** dans le TCE- d_2 à 110°C à (A) $t = 1$ h, (B) $t = 4$ h.

Les résultats (Tableau III-7) montrent que la réaction effectuée dans DMSO- d_6 à 110°C conduit à la dégradation du produit, se traduisant par l'apparition d'un pic à $-0,79$ ppm en RMN ^{31}P , caractéristique de la présence de molécules de type $(\text{RO})_3\text{PO}$.⁶⁰ La diminution de la température de réaction à 80°C a permis d'éviter cette dégradation. Néanmoins, la conversion obtenue au bout de 24 h de réaction est limitée à 30% (entrée 11, Tableau III-7). De même, la réaction de rétro Diels-Alder réalisée dans D_2O à 80°C permet d'obtenir une conversion de 29% au bout de 48 h de réaction (entrée 12, Tableau III-7). Par contre, la réaction conduite dans TCE- d_2 permet d'observer que la réaction de rétro Diels-Alder se produit progressivement avec une conversion de 66% (entrée 2, Tableau III-7) dès 1 h de réaction et une conversion quasi-quantitative en 4 h de réaction (entrée 6, Tableau III-7). L'augmentation de la durée de la réaction au-delà de 6h a conduit, dans tous les cas, à une dégradation du produit.

Tableau III-7. Résultats de la réaction de rétro Diels-Alder de **14a'**.

Entrée	Solvant	T ^a (°C)	Durée (h)	Conv. ^b (%)	Entrée	Solvant	T ^a (°C)	Durée (h)	Conv. ^b (%)
1	DMSO- d_6	110	1	- ^c	7	DMSO- d_6	80	1	6
2	TCE- d_2	110	1	66	8	DMSO- d_6	80	2	10
3	TCE- d_2	110	2	80	9	DMSO- d_6	80	3	21
4	TCE- d_2	110	3	86	10	DMSO- d_6	80	4	21
5	TCE- d_2	110	4	94	11	DMSO- d_6	80	24	30
6	TCE- d_2	110	6	94	12	D_2O	80	48	29

^a Température. ^b Déterminé par spectroscopie RMN ^1H par comparaison des intégrations des signaux à 5,13-5,39 ppm caractéristiques des protons des groupements CH-O de l'oxanorbornène et du signal à 4,52 ppm correspondant aux protons du groupement méthylène du POE en α du cycle triazole. ^c Dégradation du produit.

Par ailleurs, le spectre RMN ^{31}P montre la disparition des pics caractéristiques des 4 diastéréoisomères de **14a'** (Figure III-11A) et l'apparition d'un seul pic à 11,40 ppm (Figure III-11B) caractéristique du phosphore du POE à extrémité acide phosphonique à fonctionnalité 3-furanyle **13a'**, confirmant que la réaction de rétro Diels-Alder sur **14a'** est quantitative.

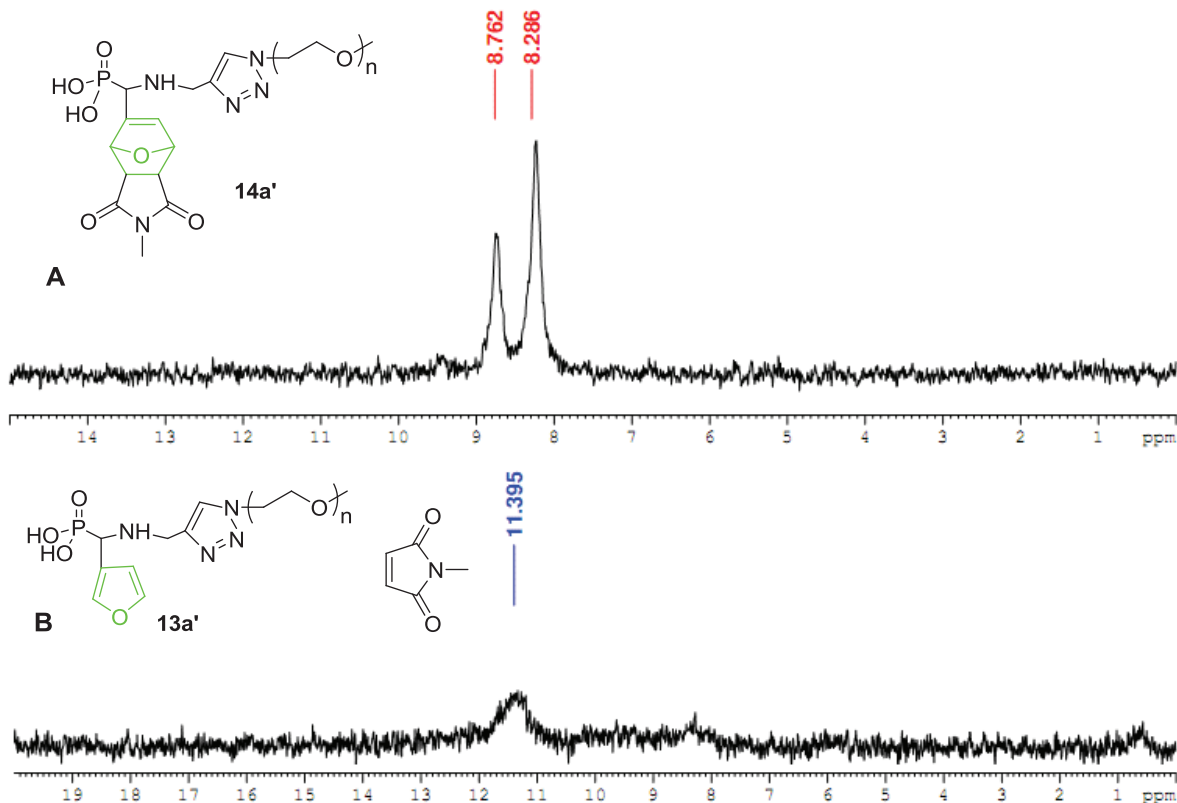


Figure III-11. Spectres RMN ^{31}P découplé ^1H de (A) avant rétro Diels-Alder et (B) après rétro Diels-Alder ; (solvant : TCE- d_2).

Conclusion

L'aptitude des poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éthers fonctionnalisés par un groupement furane à réagir selon une réaction de Diels-Alder a été étudiée selon deux stratégies.

La 1^{ère} stratégie a consisté à réaliser cette étude sur les POEs à extrémité phosphonate de diméthyle puis à effectuer une déalkylation afin de disposer de poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éthers à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité oxanorbornène. Les résultats illustrent l'influence de la position de la substitution du furane sur sa réactivité vis-à-vis de la réaction de Diels-Alder. En effet, les réactions de Diels-Alder conduites avec le diénophile *N*-méthylmaléimide ont montré une plus grande réactivité du POE fonctionnalisé par un groupement 3-furanyle **13a** par rapport à celui fonctionnalisé par un groupement 2-furanyle **12a**. Il a été ainsi possible d'accéder à une conversion quasi-quantitative à partir de **13a** au bout de 5 jours dans le DMF alors qu'elle s'est avérée limitée à 36% pour **12a**. D'autre part, la réaction de Diels-Alder est activée si le diène est substitué par un groupement électrodonneur. La réaction de rétro Diels-Alder du POE à extrémité phosphonate de diméthyle et à fonctionnalité oxanorbornène **14a** issu de **13a** a été réalisée avec succès dans le DMSO-d₆ ou le TCE-d₂ à 110°C en 11 heures avec une conversion de 86-90%. Le POE à extrémité phosphonate de diméthyle et à fonctionnalité oxanorbornène **14a** a également été déalkylé.

Pour la 2^{ème} stratégie, l'étude de réactivité vis-à-vis d'une réaction de Diels-Alder a été réalisée directement sur les POEs à extrémité acide phosphonique. Les résultats montrent que la nature du solvant influence la conversion des réactions de Diels-Alder et de rétro Diels-Alder. En effet, au bout de 5 jours, la réaction de Diels-Alder effectuée dans le DMF à 40°C a conduit à une conversion limitée à 50%. Par contre, les réactions réalisées dans le D₂O et le DMSO-d₆, dans les mêmes conditions, présentent une conversion de 87% et 94%, respectivement. De même, la réaction de rétro Diels-Alder du POE à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité oxanorbornène **14a'** issu de **13a'** a été conduite avec succès dans TCE-d₂ en 6 heures avec une conversion de 94%.

Les poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éthers à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane ainsi obtenus vont être directement utilisés pour la stabilisation de nanoparticules d'oxyde de fer et l'aptitude des groupements furane à réagir selon une réaction de Diels-Alder réversible va être étudiée dans le chapitre suivant.

Références

- ¹ Teramoto, N.; Arai, Y.; Shibata, M. *Carbohydr. Polym.* **2006**, *64*, 78-84.
- ² Diels, O.; Alder, K. *Liebigs Ann. Chem.* **1928**, *98*, 468.
- ³ Carruthers, W. *Cycloaddition Reactions in Organic Synthesis*, Pergamon Press: Oxford, U.K., 1990.
- ⁴ Mubofu, E. B.; Engberts, J. B. F. N. *J. Phys. Org. Chem.* **2004**, *17*, 180-186.
- ⁵ Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2001**, *40*, 2004-2021.
- ⁶ Wei, H-L.; Yang, J.; Chu, H-J.; Yang, Z.; Ma, C-C.; Yao, K. *J. Appl. Polym. Sci.* **2011**, *120*, 974-980.
- ⁷ Nandivada, H.; Jiang, X.; Lahann, J. *Adv. Mater. (Weinheim, Ger.)* **2007**, *19*, 2197-2208.
- ⁸ Graziano, G. J. *Phys Org Chem.* **2004**, *17*, 100-101.
- ⁹ Sun, X. L.; Yang, L. C.; Chaikof, E. L. *Tetrahedron. Lett.* **2008**, *49*, 2510-2513.
- ¹⁰ Murphy, E. B.; Wudl, F. *Prog. Polym. Sci.* **2010**, *35*, 223-251.
- ¹¹ Bergman, S. D.; Wuld, F. *J. Mater. Chem.* **2008**, *18*, 41-62.
- ¹² Gandini, A.; Belgacem, M. N. *ACS. Symp. Ser.* **2007**, *954*, 280-295.
- ¹³ Syrett, J. A.; Becer, C. R.; Haddleton, D. M. *Polym. Chem.* **2010**, *1*, 978-987.
- ¹⁴ Ripoll, J. L.; Rouessac, A.; Rouessac, F. *Tetrahedron* **1978**, *34*, 19-40.
- ¹⁵ McElhanon, J. R.; Russick, E. M.; Wheeler, D. R.; Loy, D. A.; Aubert, J. H. *J. Appl. Polym. Sci.* **2002**, *85*, 1496-1502.
- ¹⁶ Gandini, A.; Coelho, D.; Silvestre, A. J. D. *Eur. Polym. J.* **2008**, *44*, 4029-4036.
- ¹⁷ Tasdelen, M. A. *Polym. Chem.* **2011**, *2*, 2133-2145.
- ¹⁸ Inglis, A. J.; Barner-Kowollik, C. *Macromol. Rapid Commun.* **2010**, *31*, 1247-1266.
- ¹⁹ Hizal, G.; Tunca, U.; Sanyal, J. *Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2011**, *49*, 4103-4120.
- ²⁰ Durmaz, H.; Colakoglu, B.; Tunca, U.; Hizal, G. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2006**, *44*, 1667-1675.
- ²¹ Gacal, B.; Durmaz, H.; Tasdelen, M. A.; Hizal, G.; Tunca, U.; Yagci, Y.; Demirel, A. L. *Macromolecules* **2006**, *39*, 5330-5336.
- ²² Chen, X.; Dam, M. A.; Ono, K.; Mal, A.; Shen, H.; Nutt, S. R.; Sheran, K.; Wudl, F. *Science* **2002**, *295*, 1698-1702.
- ²³ Wei, H. L.; Yang, Z.; Zheng, L. M.; Shen, Y. N. *Polymer* **2009**, *50*, 2836-2840.
- ²⁴ Wang, S.; Yaszemski, M. J.; Gruetzmacher, J. A.; Lu, L. *Polymer* **2008**, *49*, 5692-5699.
- ²⁵ Chen, J. P.; Cheng, T. H. *Polymer* **2009**, *50*, 107-116.
- ²⁶ Polaske, N. W.; McGrath, D. V.; McElhanon, J. R. *Macromolecules* **2010**, *43*, 1270-1276.
- ²⁷ Franc, G.; Kakkar, A.K. *Chem.-Eur. J.* **2009**, *15*, 5630-5639.
- ²⁸ Aumsuwan, N.; Urban, M. W. *Polymer* **2009**, *50*, 33-36.
- ²⁹ Nicolaou, K. C.; Snyder, S. A.; Montagnon, T.; Vassilikogian-Nakis, G. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2002**, *41*, 1668-1698.
- ³⁰ Jiang, X.; Zhu, W.; Yan, Y.; Chen, Y.; Xi, F. *React. Funct. Polym.* **2011**, *71*, 843-848.
- ³¹ Robertson, J. R.; Philp, D.; Spencer, N. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 11365-11384.
- ³² Chujo, Y.; Sada, K.; Saegusa, T. *Macromolecules* **1990**, *23*, 2636-2641.
- ³³ McElhanon, J. R.; Wheeler, D. R. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2681-2683.
- ³⁴ Szalai, M. L.; McGrath, D. V.; Wheeler, D. R.; Wifer, T.; McElhanon, J. R. *Macromolecules* **2007**, *40*, 818-823.
- ³⁵ Gheneim, R.; Perez-Berumen, C.; Gandini, A. *Macromolecules* **2002**, *35*, 7246-7253.
- ³⁶ Inglis, A. J.; Sinnwell, S.; Stenzel, M. H.; Barner-Kowollik, C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 2411-2414.

- ³⁷ Sinnwell, S.; Inglis, A. J.; Davis, T. P.; Stenzel, M. H.; Barner-Kowollik, C. *Chem. Commun.* **2008**, *17*, 2052-2054.
- ³⁸ Nebhani, L.; Sinnwell, S.; Inglis, A. J.; Stenzel, M. H.; Barner-Kowollik, C.; Barner, L. *Macromol. Rapid Commun.* **2008**, *29*, 1431-1437.
- ³⁹ Blackman, M. L.; Royen, M.; Fox, J. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13518-13519.
- ⁴⁰ Devaraj, N. K.; Weissleder, R.; Hilderbrand, S. A. *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 2297-2299.
- ⁴¹ Devaraj, N. K.; Upadhyay, R.; Hatin, J. B.; Hilderbrand, S. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7013-7016.
- ⁴² Li, Z.; Cai, H.; Hassink, M.; Blackman, M. L.; Brown, R. C. D.; Conti, P. S.; Fox, J. M. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 8043-8045.
- ⁴³ Becer, C. R.; Hoogenboom, R.; Schubert, U. S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4900-4908.
- ⁴⁴ Goodall, G. W.; Hayes, W. *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 280-312.
- ⁴⁵ Nebhani, L.; Barner-Kowollik, C. *Adv. Mater.* **2009**, *21*, 3442-3468.
- ⁴⁶ Nebhani, L.; Barner-Kowollik, C. *Macromol. Rapid Commun.* **2010**, *31*, 1298-1305.
- ⁴⁷ Palomo, J. M. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, *2010*, 6303-6314.
- ⁴⁸ Shi, M.; Wosnick, J. H.; Ho, K.; Keating, A.; Shoichet, M. S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 6126-6131.
- ⁴⁹ Canadell, J.; Fischer, H.; With, G. D.; Van Benthem, R. A. T. M. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2010**, *48*, 3456-3467.
- ⁵⁰ Claeys, D. D.; Moonen, K.; Roman, B. I.; Nemykin, V. N.; Zhdankin, V. V.; Waroquier, M.; Speybroeck, V. V.; Stevens, C. V. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7921-7927.
- ⁵¹ Boutelle, R. C.; Northrop, B. H. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 7994-8002.
- ⁵² Tobia, D.; Harrison, R.; Phillips, B.; White, T. L.; DiMare, M.; Rickborn, B. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 6701-6706.
- ⁵³ Polaske, N. W.; McGrath, D. V.; McElhanon, J. R. *Macromolecules* **2011**, *44*, 3203-3210.
- ⁵⁴ Le, D.; Montembault, V.; Soutif, J. -C.; Rutnakornpituk, M.; Fontaine, L. *Macromolecules* **2010**, *43*, 5611-5617.
- ⁵⁵ Dantas de Araujo, A.; Palomo, J. M.; Cramer, J.; Seitz, O.; Alexandrov, K.; Waldmann, H. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 6095-6109.
- ⁵⁶ Wiggins, K. M.; Syrett, J. A.; Haddleton, D. M.; Bielawski, C. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 7180-7189.
- ⁵⁷ Duval, M.; Sarazin, D. *Polymer* **2000**, *41*, 2711-2716.
- ⁵⁸ Vilela, C.; Cruciani, L.; Silvestre, A. J. D.; Gandini, A. *RSC Advances* **2012**, *2*, 2966-2974.
- ⁵⁹ Gandini, A.; Silvestre, A. J. D.; Coelho, D. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2010**, *48*, 2053-2056.
- ⁶⁰ Van Wazer, J. R.; Callis, C. F.; Shoolery, J. N.; Jones, R. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 5715-5726.

CHAPITRE IV

Stabilisation de la surface des nanoparticules par les
POEs à extrémité acide phosphonique

Introduction

La stabilisation et/ou la fonctionnalisation de nanoparticules d'oxyde de fer a connu un essor considérable ces dernières années en raison des potentialités des systèmes obtenus dans le domaine de la (bio)technologie en tant qu'agents de contraste en imagerie par résonance magnétique (IRM), pour l'immobilisation d'enzymes, la vectorisation, le traitement du cancer par hyperthermie, etc.¹

L'utilisation de polymères pour stabiliser et/ou fonctionnaliser les nanoparticules métalliques a considérablement œuvré au développement de ces nouvelles technologies car les polymères peuvent être multifonctionnels de par leur structure, constituée de nombreuses unités de répétition, permettant non seulement l'ancrage à la surface des nanoparticules mais également l'introduction d'autres fonctionnalités pouvant apporter de nouvelles propriétés à ces nanoparticules ou être utilisées pour ancrer des substances actives. De plus, il est possible de moduler les propriétés des nanoparticules en jouant sur la masse molaire, l'architecture et la fonctionnalité du (co)polymère.²

Pour notre part, nous nous sommes intéressés à la synthèse de poly(oxyde d'éthylène)s monométhyl éthers (POE) à extrémité acide phosphonique, qui permet l'ancrage sur la nanoparticule d'oxyde de fer, et à fonctionnalité furane susceptible de réagir avec des (bio)molécules à fonctionnalité maléimide selon une réaction de Diels-Alder thermoréversible.³

Il existe dans la littérature quelques exemples de poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité acide phosphonique utilisés pour stabiliser et/ou fonctionnaliser des nanoparticules métalliques. Ainsi, Cao *et al.*⁴ ont stabilisé des nanoparticules de lanthanide de type NaLnF_4 (NaHoF_4 , NaEuF_4 , NaGdF_4 et NaTbF_4) par des POEs de $\overline{M}_n = 2\ 000\ \text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ à fonctionnalité acide mono-, di- ou tétraphosphonique par la méthode d'échange de ligand à partir de nanoparticules de lanthanide stabilisées par une monocouche d'oléate (Schéma VI-1). Après l'échange de ligand, la taille des nanoparticules de lanthanide fonctionnalisées par les POEs à extrémité acide phosphonique augmente environ de 10 nm par rapport à celle des nanoparticules *post*-synthèse, de taille 9-11 nm. Les mesures par diffusion dynamique de la lumière (DLS) montrent que ces nanoparticules sont stables dans l'eau à pH neutre. Par contre, les nanoparticules stabilisées par des POEs monophosphonate s'agrègent dans l'eau à pH = 3 et à pH = 9. Dans le cas des nanoparticules stabilisées par des POEs diposphonate, elles sont stables dans l'eau à pH = 3 mais une agrégation apparaît à pH = 9. Seules les nanoparticules stabilisées par des POEs tétraphosphonate restent stables dans l'eau à pH = 9 pendant quelques semaines. Ces résultats sont confirmés par l'étude de la stabilité dans un tampon phosphate (pH = 7,4), qui montre que

seules les nanoparticules stabilisées par des POEs tétraphosphonate fournissent une stabilité colloïdale excellente et robuste.

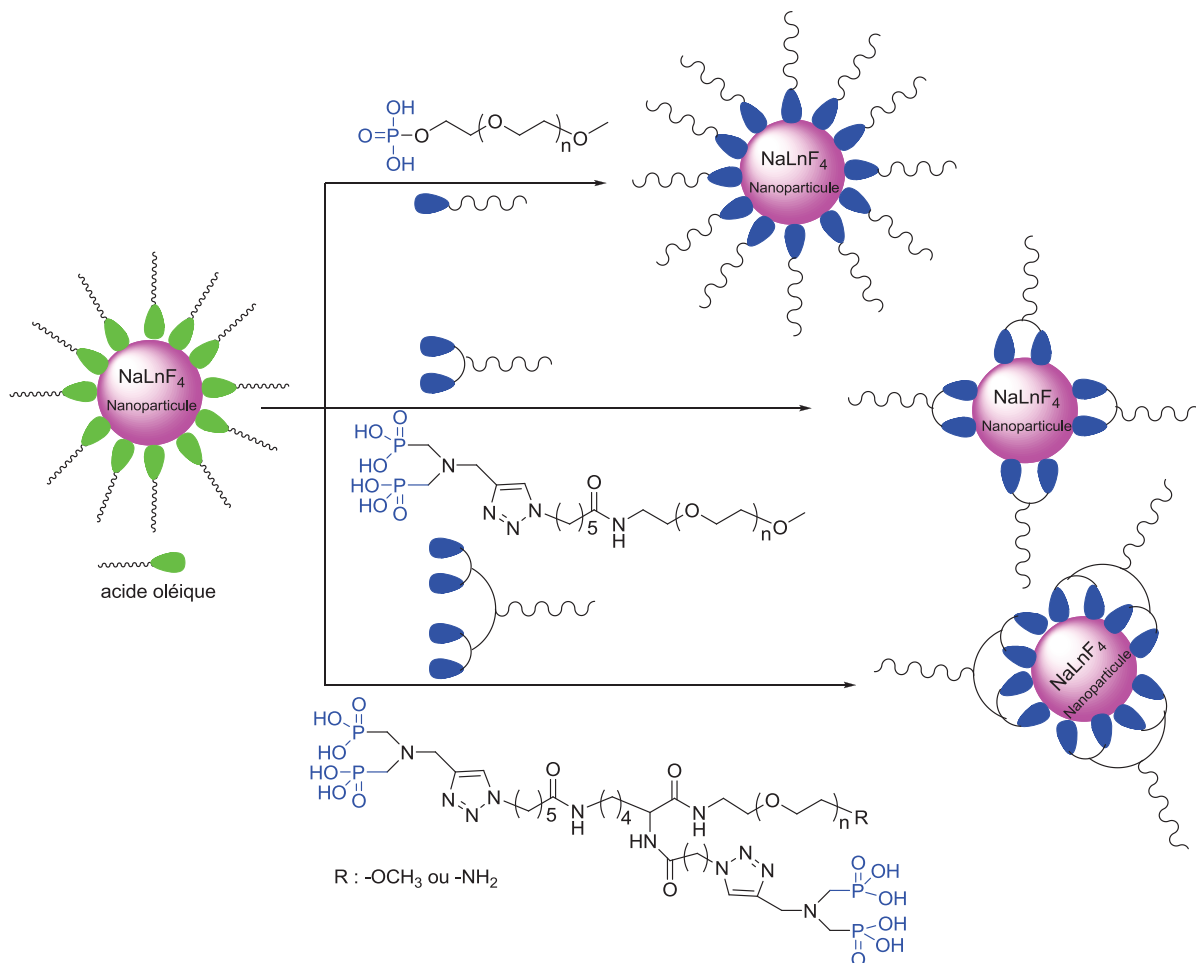


Schéma IV-1. Stabilisation et fonctionnalisation de nanoparticules de lanthanide par des POEs à extrémité acide mono-, di- et tétraphosphonique.³

Sandiford *et al.*⁵ ont dans un premier temps synthétisé un POE à extrémité diacide diphosphonique à partir du POE commercial de $\overline{M}_n = 5\,000\text{ g.mol}^{-1}$ (Schéma IV-2). Ce polymère a été ensuite utilisé pour remplacer la couche hydrophobe d'oléylamine à la surface de nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques (USPIO) par la méthode d'échange de ligand. Les nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques fonctionnalisées par le POE à extrémité diacide diphosphonique (POE-BP-USPIO) sont stables en milieu aqueux et en milieu salin physiologique pendant 7 mois et le potentiel zêta est environ de zéro à pH = 7, mettant en évidence la présence d'une couronne polymère à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques. Les nanoparticules présentent une relaxivité longitudinale (r_1) élevée à champ magnétique fort, ce qui améliore considérablement le contraste, permettant la visualisation des vaisseaux sanguins et des organes vasculaires avec une haute résolution spatiale, tout en diminuant les doses d'agent de contraste injectées.

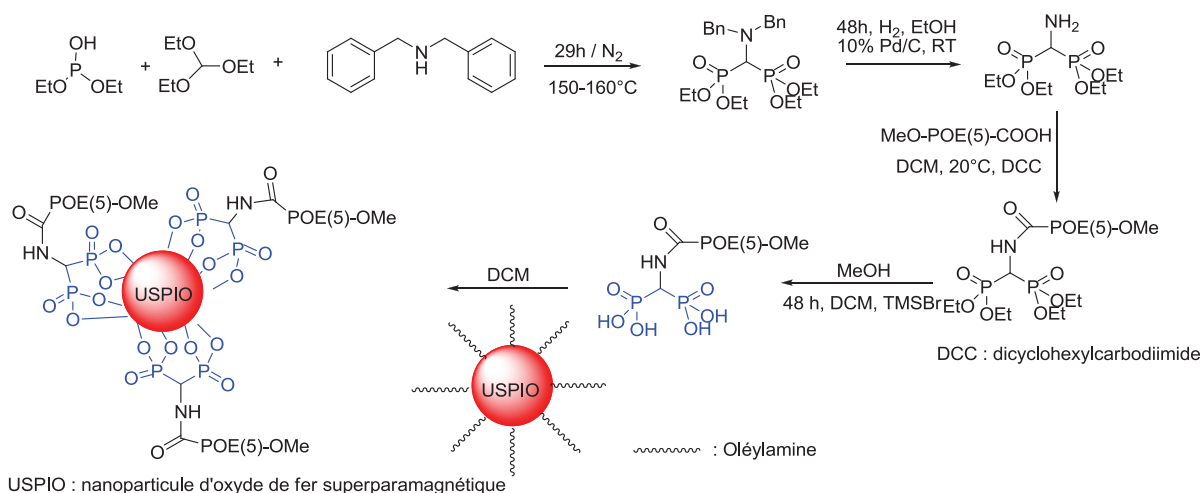


Schéma IV-2. Synthèse des nanoparticules d'oxyde de fer fonctionnalisées par un POE à extrémité diacide diphosphonique.⁴

De même, la stabilisation et la fonctionnalisation de nanoparticules métalliques par des molécules fonctionnalisées par le furane a également été étudiée. Ainsi, Liu *et al.*⁶ ont effectué la modification de la surface de nanoparticules d'or par un ligand dodécane-thiol fonctionnalisé par un groupement furane (Schéma IV-3). Le diamètre de ces particules, mesuré par microscopie électronique en transmission (TEM), est de l'ordre de 1,8 nm. Ils ont ensuite réalisé la réaction de Diels-Alder entre les nanoparticules fonctionnalisées furane (Au-F) et un oligo(*p*-phénylènevinylène) fonctionnalisé par un maléimide (OPVs) pendant 12 h à 60 °C dans le toluène. Le diamètre des nanoparticules après la réaction de Diels-Alder est d'environ 2 nm. La spectrophotométrie ultraviolet-visible (UV-vis) montre l'apparition d'une bande d'absorption à 530 nm qui disparaît une fois la réaction de rétro Diels-Alder effectuée à 110°C pendant 2 h dans le toluène. D'après les auteurs, ce type de système permet d'obtenir des matériaux hybrides stimuli-sensibles.

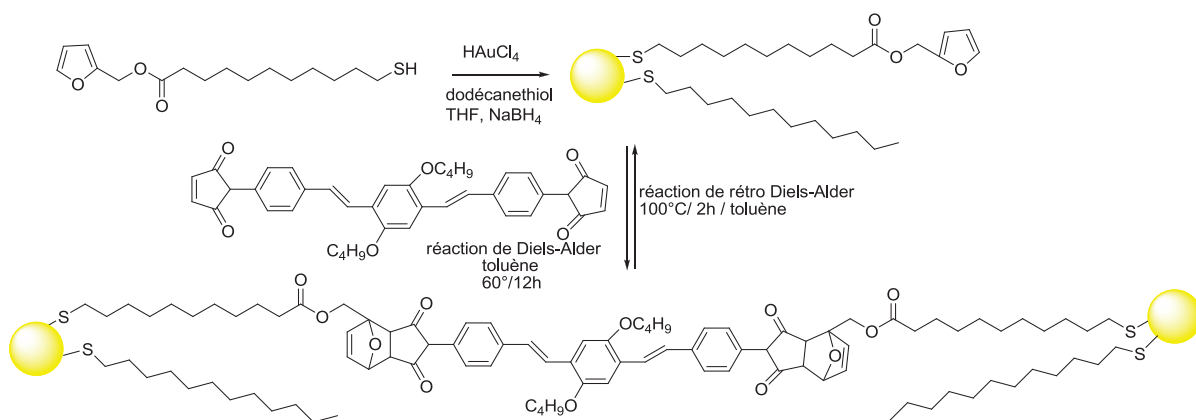


Schéma IV-3. Stabilisation et fonctionnalisation de nanoparticules d'or par un ligand à fonctionnalité furane puis réaction de Diels-Alder avec un oligo(*p*-phénylènevinylène) à fonctionnalité maléimide.

Yamashita *et al.*⁷ ont réalisé la réaction de Diels-Alder entre un poly(oxyde d'éthylène) à fonctionnalité maléimide de $\overline{M}_n = 20\ 000\ \text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ et le disulfure de difurfuryle pour obtenir un POE à fonctionnalité oxanorbornène, qui a ensuite été greffé à la surface de nanoparticules d'or (Schéma IV-4). Ces nanoparticules ont ensuite été irradiées par spectroscopie proche infrarouge pour libérer le poly(oxyde d'éthylène) à fonctionnalité maléimide par réaction de rétro Diels-Alder induite par l'effet photothermique. Après la libération du POE, les nanoparticules d'or forment des agrégats. Ce système à libération contrôlée par irradiation dans le proche infrarouge avec formation d'agrégats de nanoparticules d'or pourrait être étendu à des nanotubes d'or pour une utilisation en thérapie photothermique.

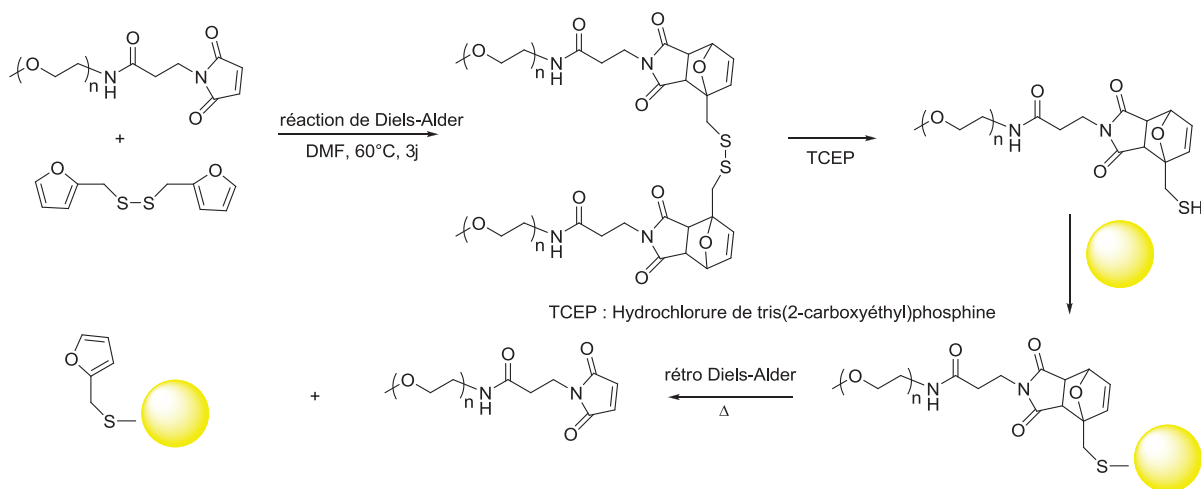


Schéma IV-4. Modification de nanoparticules d'or par un POE à fonctionnalité oxanorbornène puis réaction de rétro Diels-Alder par irradiation photothermique.

Pour notre part, nous avons choisi de combiner, au sein d'un même système, un groupement acide phosphonique pour la stabilisation des nanoparticules, une fonction 'clickable' selon une réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen pour ancrer le polymère et une 2^{ème} fonction 'clickable' thermoréversible selon une réaction de Diels-Alders, ce qui n'a ce jour pas été décrit dans la littérature.

Dans ce chapitre, nous avons utilisé les POEs à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane synthésés dans le chapitre précédent pour la stabilisation et la fonctionnalisation de nanoparticules d'oxyde de fer. Le greffage des POEs à extrémité acide phosphonique a été directement effectué à la surface de nanoparticules nues par la méthode 'grafting onto' selon deux stratégies (Schéma IV-5). La 1^{ère} stratégie consiste à stabiliser tout d'abord la surface des nanoparticules d'oxyde de fer avec les POEs à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane afin de disposer de nanoparticules présentant une fonctionnalité furane susceptible de

réagir ensuite avec des (bio)molécules à fonctionnalité maléimide (Schéma IV-5, stratégie A). La 2^{ème} stratégie consiste à stabiliser les nanoparticules avec les POEs à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité oxanorbornène, issue de la réaction de Diels-Alder thermoréversible entre la fonctionnalité furane et une (bio)molécule maléimide, afin d'étudier l'aptitude des nanoparticules ainsi stabilisées et fonctionnalisées à libérer des (bio)molécules par hyperthermie (Schéma IV-5, stratégie B).

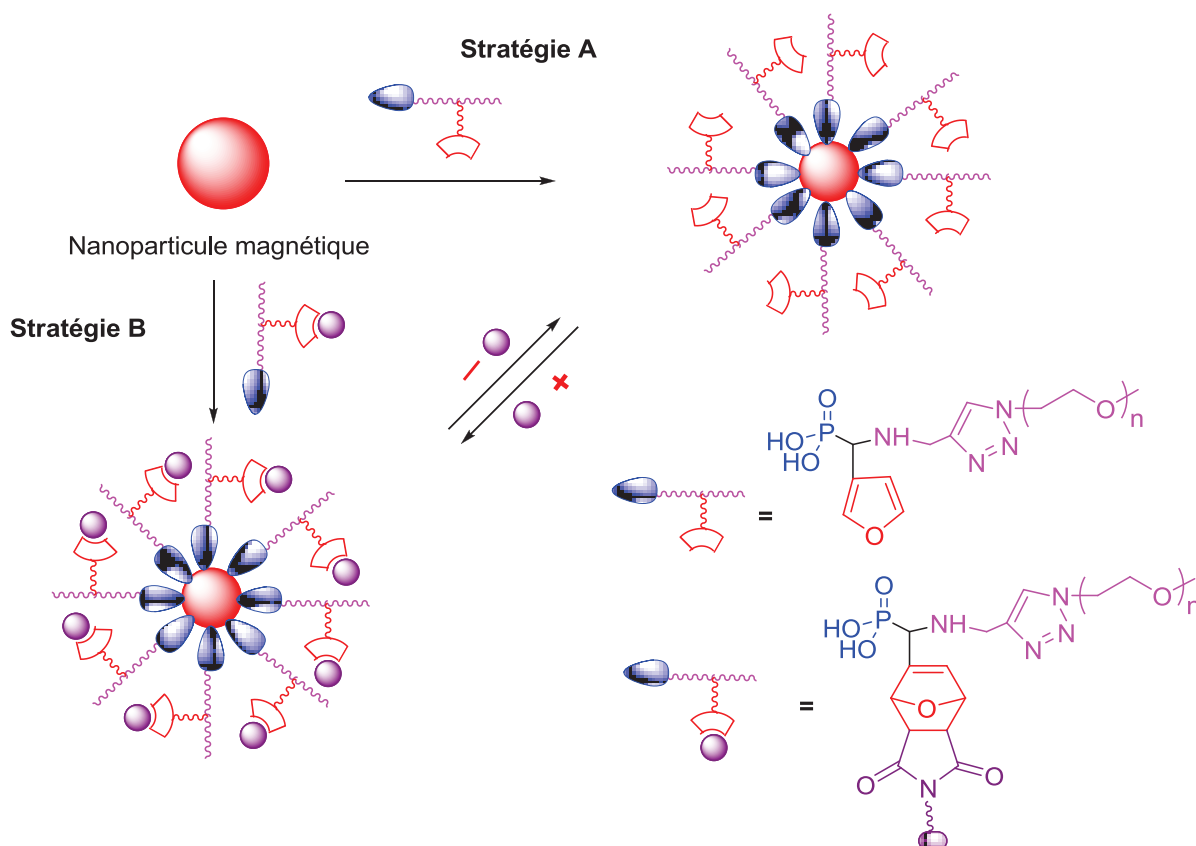


Schéma IV-5. Stratégies de stabilisation et de fonctionnalisation des nanoparticules d'oxyde de fer nues par des POEs à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane et oxanorbornène.

Ces stratégies ont tout d'abord été appliquées à partir des POEs, synthétisés chapitre II et III, de masse \overline{M}_n de 2 000 g.mol⁻¹, puis ont ensuite été étendues aux POEs de masse \overline{M}_n de 5 000 g.mol⁻¹. Avant d'étudier les caractéristiques et les propriétés de ces nanoparticules d'oxyde de fer stabilisées et fonctionnalisées par des POEs à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane ou oxanorbornène, nous avons synthétisé et caractérisé des nanoparticules d'oxyde de fer. L'ensemble de ces travaux ont été réalisés au cours d'un stage de deux mois au Centre for Advanced Macromolecular Design (CAMD) - Université de New South Wales à Sydney.

I- Synthèse et caractérisation de nanoparticules d'oxyde de fer

Les nanoparticules d'oxyde de fer peuvent être constituées de magnétite (Fe_3O_4), de maghémite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), de wüstite (FeO), d'hématite ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), de $\varepsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$ et de $\beta\text{-Fe}_2\text{O}_3$, qui sont des oxydes ferriques superparamagnétiques, présentant une haute coercivité, une faible température de Curie, et une susceptibilité magnétique élevée.⁸ Parmi ces nanoparticules d'oxyde de fer, la magnétite Fe_3O_4 et la maghémite $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ sont des candidats très prometteurs pour les applications biologiques. La magnétite Fe_3O_4 , dont la préparation est simple et de faible coût, est la ferrite la plus utilisée dans le domaine biologique en raison de sa biocompatibilité, de son aptitude à la biodégradation et de sa faible toxicité dans le corps humain. Elle présente une structure cubique de spinelle inverse avec les anions oxygène formant un empilement cubique face centrées et les cations Fe^{2+} et Fe^{3+} occupant les sites interstitiels octaédriques et tétraédriques.⁹ Les électrons peuvent se déplacer entre les ions Fe^{3+} et les ions Fe^{2+} des sites octaédriques et ce, à température ambiante, rendant la magnétite "demi-métallique".^{10,11,12} La structure de maghémite $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ présente des sites supplémentaires vacants cationiques entre les sites octaédriques.

Parmi les méthodes de synthèse des nanoparticules d'oxyde de fer, nous avons choisi la méthode de coprécipitation¹³ car elle est facile à mettre en œuvre et permet de produire des nanoparticules à l'échelle multi-grammes.¹⁴

I-1. Synthèse de nanoparticules d'oxyde de fer par la méthode de coprécipitation

Pour synthétiser des nanoparticules d'oxyde de fer, nous avons utilisé la méthode mise au point par Massart.^{15,16} Ce protocole permet d'obtenir des nanoparticules d'oxyde de fer en grande quantité et avec une bonne reproductibilité. La synthèse de ces nanoparticules se fait en une étape. Des solutions de Fe^{2+} de concentration 2 mol.L^{-1} et Fe^{3+} de concentration 1 mol.L^{-1} sont préparées en dissolvant les sels de $\text{FeCl}_2.4\text{H}_2\text{O}$ et de $\text{FeCl}_3.6\text{H}_2\text{O}$ dans une solution d'acide chlorhydrique (HCl) de concentration 1 mol.L^{-1} . Les chlorures sont dissous dans une solution acide afin de maintenir un pH acide pour éviter la précipitation des cations des solutions initiales. Les nanoparticules d'oxyde de fer se forment à température ambiante sous agitation magnétique en 5h et la réaction peut être suivie par l'évolution de la couleur de la solution qui passe d'orange au brun puis au noir à la fin de la réaction. Les nanoparticules obtenues sont récupérées par une décantation magnétique ou par centrifugation et lavées plusieurs fois avec de l'eau ultra pure désoxygénée pour éliminer les ions chlorure et l'excès de base, puis séchées sous vide. La poudre noire obtenue est dispersée ensuite dans de l'eau ultra pure désoxygénée et le pH est fixé

* Un matériau est dit "demi-métallique" quand il est métallique pour une direction de spin et isolant pour l'autre.

à 5,5 par ajout d'HCl 0,1M et conduit à un ferrofluide de concentration 15 mg/mL. Ces nanoparticules d'oxyde de fer nues ont été caractérisées.

I-2. Caractérisation des nanoparticules d'oxyde de fer nues

Les nanoparticules d'oxyde de fer nues ont été caractérisées par différentes techniques afin d'accéder à leur taille et à leur polydispersité.

I.2.1. Détermination du diamètre et de la distribution en taille des nanoparticules d'oxyde de fer

Le diamètre des nanoparticules d'oxyde de fer a tout d'abord été mesuré à partir d'une analyse par diffraction des rayons X (RX) (Figure IV-1). La taille des cristallites d'oxyde de fer, qui a été calculée par la formule de Sherrer¹⁷ (Equation 1) à partir de la largeur des raies à mi-hauteur sur le pic le plus intense (311), est de 10,4 nm.

$$B(2\theta) = \frac{[K \times \lambda]}{[L \times \cos \theta]} \quad \text{Equation 1}$$

où :

L est la taille des cristallites (nm).

B est la largeur à mi-hauteur à $2\theta = 36^\circ$.

K est le facteur de forme. $K = 0,9$ pour des particules sphériques.

λ est la longueur d'onde de radiation X utilisée, $\lambda = 1,541 \text{ \AA}$.

θ est l'angle du pic de diffraction mesuré (degrés).

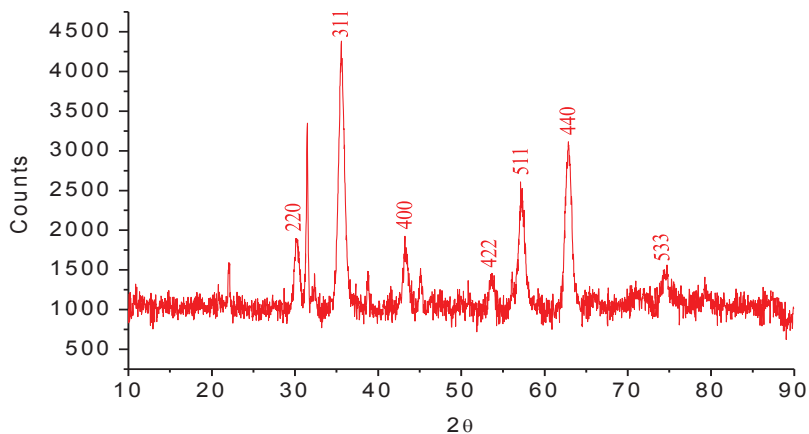


Figure IV-1. Diffractogramme de poudre des nanoparticules d'oxyde de fer synthétisées.

La méthode Brunauer-Emmett-Teller (BET) a également été utilisée pour mesurer la taille des particules, et a été estimée à environ 10,4 - 10,7 nm. Cette méthode permet, en outre, d'accéder à

la surface spécifique des nanoparticules d'oxyde de fer à partir de l'isotherme d'absorption de l'azote. La mesure a été réalisée sur un échantillon de poudre de nanoparticules d'oxyde de fer dégazé *in situ* à 150°C pendant 3 h. La surface spécifique des nanoparticules d'oxyde de fer est de l'ordre de $106 \pm 1 \text{ m}^2/\text{g}$ de particule.

La microscopie électronique en transmission (TEM) et la DLS ont été utilisées pour déterminer le diamètre ainsi que la distribution en taille des nanoparticules d'oxyde de fer obtenues. Les images TEM donnent également des informations sur la morphologie des nanoparticules. Par contre, le cliché TEM ne reflète pas leur état de dispersion en milieu aqueux. La DLS est donc complémentaire au TEM, car elle permet d'accéder à la taille des nanoparticules dispersées en milieu aqueux.

La préparation des échantillons pour les clichés TEM consiste à déposer une goutte des particules d'oxyde de fer sur une grille de cuivre, puis à laisser sécher à l'air. Le cliché TEM (Figure IV-2A) montre des nanoparticules peu agglomérées, de forme sphérique et monodisperses. Les nanoparticules ont une taille moyenne de 13 nm. Cette valeur est proche de celles obtenues par diffraction des RX et par la méthode BET et est en accord avec les travaux de Moersdorf *et al.*¹⁸

La distribution des tailles des nanoparticules d'oxyde de fer synthétisées a ensuite été mesurée dans l'eau à pH = 5,5 par DLS (Figure IV-2B). La taille des nanoparticules varie de 18 nm à 80 nm. Le diamètre hydrodynamique moyen des nanoparticules est de l'ordre de $22 \pm 5 \text{ nm}$. La valeur moyenne du diamètre mesuré par la DLS est différente de la valeur obtenue à partir du cliché TEM car elle correspond à la taille des nanoparticules solvatées.

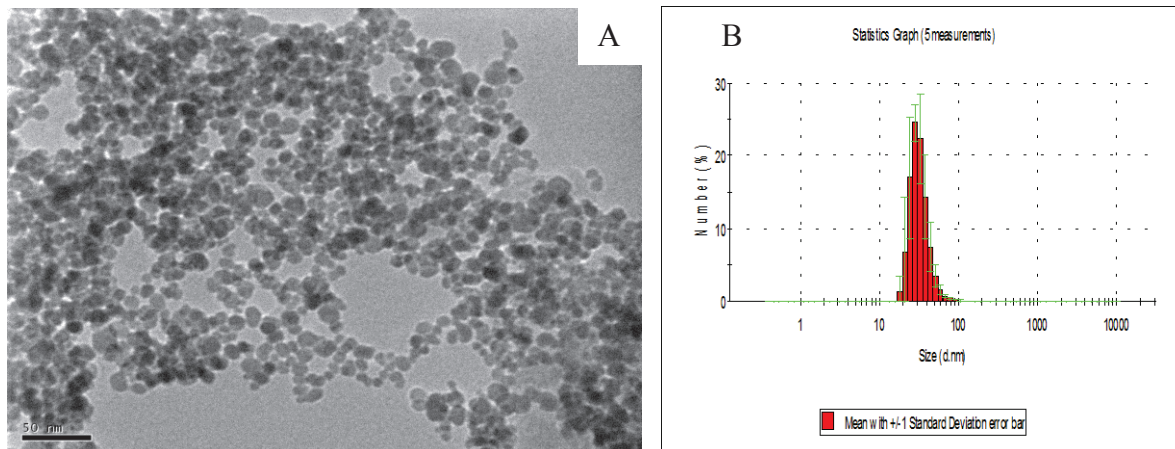


Figure IV-2. (A) Cliché TEM et (B) distribution des tailles déterminées par DLS dans l'eau à pH = 5,5 des nanoparticules d'oxyde de fer synthétisées.

I.2.2. Analyse structurale des nanoparticules d'oxyde de fer nues

La caractérisation de la surface des nanoparticules est nécessaire pour bien comprendre les phénomènes d'agrégation et déterminer les conditions opératoires à utiliser pour leur stabilisation et/ou fonctionnalisation ultérieure.

Nous avons tout d'abord utilisé la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier en réflexion totale atténuée (FTIR-ATR) pour déterminer la composition des nanoparticules d'oxyde de fer nues. Nous observons que le spectre d'absorption FTIR-ATR (Figure IV-3) des nanoparticules d'oxyde de fer présente des bandes situées à 3330 cm^{-1} et à 1576 cm^{-1} correspondant à des liaisons O-H, dues à la présence d'eau physisorbée à la surface des nanoparticules.¹⁹ Par contre, les bandes situées entre 600 et 400 cm^{-1} sont caractéristiques de liaisons Fe-O.¹⁹ Ce spectre FTIR-ATR a été comparé avec ceux de nanoparticules d'oxyde de fer de type magnétite Fe_3O_4 , maghémite $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ et hématite $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ de la littérature.²⁰ Le spectre FTIR-ATR de la maghémite présente plusieurs bandes de déformation très proches à $730, 696, 636, 590, 570$ et à 450 cm^{-1} , celui de la magnétite présente un spectre avec une large bande de déformation située vers $570\text{-}590\text{ cm}^{-1}$ et celui de l'hématite présente des bandes de déformation à $540, 470, 345\text{ cm}^{-1}$. D'après le spectre FTIR-ATR obtenu, il semble que les nanoparticules d'oxyde de fer synthétisées soient constituées d'un mélange de magnétite et maghémite.

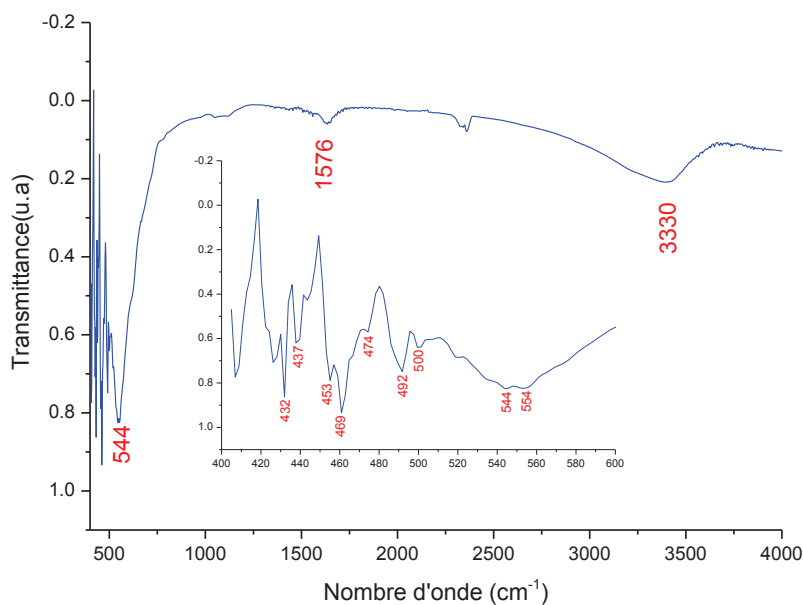


Figure IV-3. Spectre FTIR-ATR des nanoparticules d'oxyde de fer nues.

L'analyse thermogravimétrique (ATG) a ensuite été utilisée pour déterminer la quantité d'eau adsorbée à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer nues. Le thermogramme, obtenu par chauffage sous argon jusqu'à 600°C avec une vitesse de montée en température de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ (Figure IV-4), montre une perte de masse à 100°C de 5%, qui est due à la présence d'eau à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer.

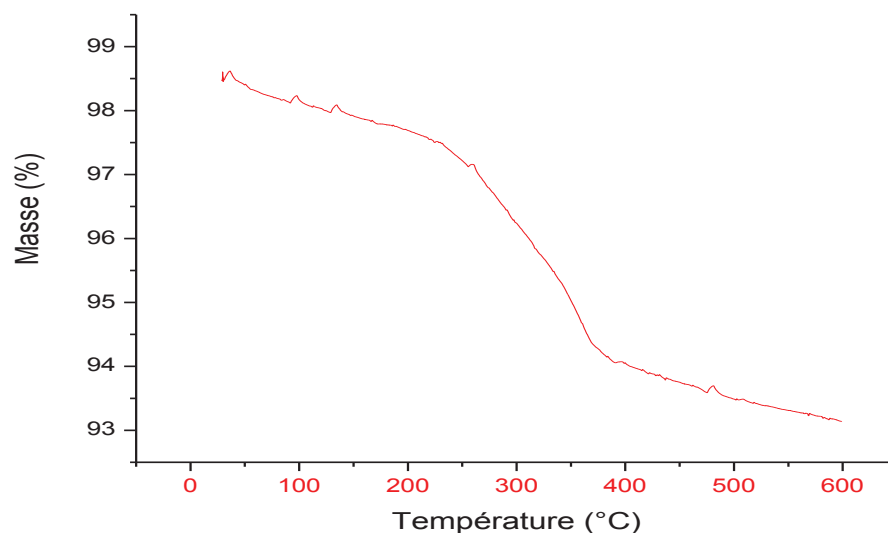


Figure IV-4. Courbe ATG des nanoparticules d'oxyde de fer nues.

Les analyses ATG et FTIR-ATR des nanoparticules d'oxyde de fer nues confirment la présence d'une couche d'eau absorbée à la surface des particules, ce qui peut expliquer la différence observée lors des mesures des diamètres des nanoparticules par TEM et DLS.

II- Fonctionnalisation de la surface des nanoparticules d'oxyde de fer par les POEs à extrémité acide phosphonique

La stabilisation et la fonctionnalisation des nanoparticules d'oxyde de fer nues a été effectuée avec des POEs à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane ou oxanorbornène selon la méthode 'grafting onto' *via* le groupement phosphonate.

II-1. Greffage des POEs à extrémité acide phosphonique à la surface des nanoparticules nues par la méthode 'grafting onto'

La réaction de greffage des POEs à extrémité acide phosphonique à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer nues a été effectuée selon des conditions précédemment rapportées dans la littérature (Schéma IV-6).^{21,22}

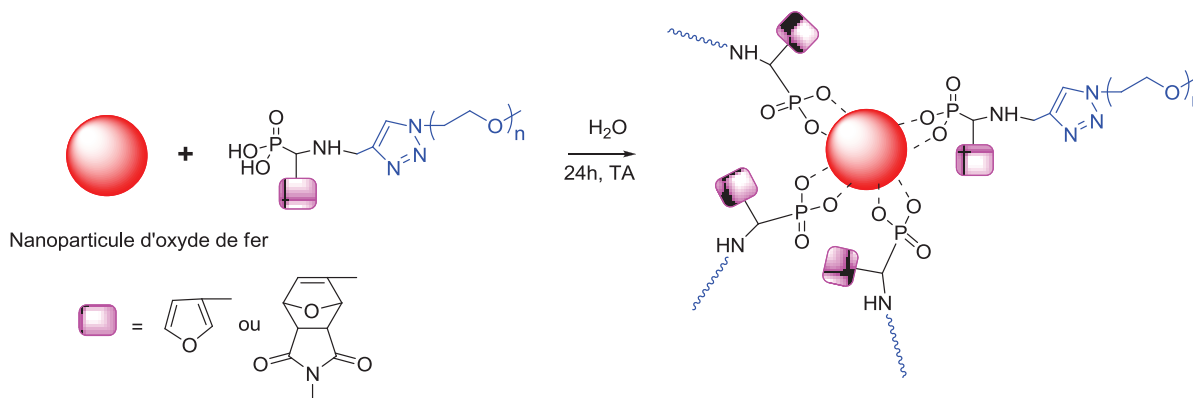


Schéma IV-6. Stabilisation et fonctionnalisation des nanoparticules d'oxyde de fer nues par un POE à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane ou oxanorbornène.

La réaction de greffage à la surface des nanoparticules a été réalisée par agitation orbitale entre les POEs à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane ou oxanorbornène et les nanoparticules d'oxyde de fer nues, synthétisées précédemment, dans de l'eau ultra pure à température ambiante pendant 24 h. En fin de réaction, la solution a été filtrée sur un filtre poly(éthylène téréphtalate) de porosité 0,45 μm pour éliminer les nanoparticules non stabilisées. Les nanoparticules fonctionnalisées ont été lavées trois fois dans l'eau ultra pure par centrifugation (15 000 tours/min durant 40 min) pour éliminer l'excès de POE non greffé à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer. Les nanoparticules d'oxyde de fer fonctionnalisées ont ensuite été séchées sous vide. Elles se présentent sous la forme d'un solide noir qui a été analysé par FTIR-ATR, photoémission X (XPS), ATG, DLS et TEM. Ce solide noir a également été mis en contact avec de l'eau ultra pure, conduisant à la redispersion des nanoparticules. Cette dispersion s'est révélée stable pendant plusieurs mois, mettant en évidence l'efficacité de la stabilisation.

II-2. Mise en évidence de la fonctionnalisation des nanoparticules

Le greffage des poly(oxyde d'éthylène)s à extrémité acide phosphonique a été confirmé par spectroscopie FTIR-ATR. La Figure IV-5 montre les spectres FTIR-ATR des nanoparticules d'oxyde de fer avant et après greffage avec le poly(oxyde d'éthylène) à extrémité acide phosphonique **13b'** ainsi que le spectre FTIR-ATR de **13b'**. Nous observons sur le spectre FTIR-ATR des nanoparticules d'oxyde de fer après greffage (B, Figure IV-5) l'apparition de bandes d'absorption situées à 2856 cm^{-1} , à 1466 cm^{-1} et à 1263 cm^{-1} caractéristiques de la vibration d'élongation des liaisons C-H du POE, de la liaison C=C du cycle triazole et de la liaison P=O, respectivement, mettant en évidence la présence du poly(oxyde d'éthylène) à extrémité phosphonate à la surface des nanoparticules.

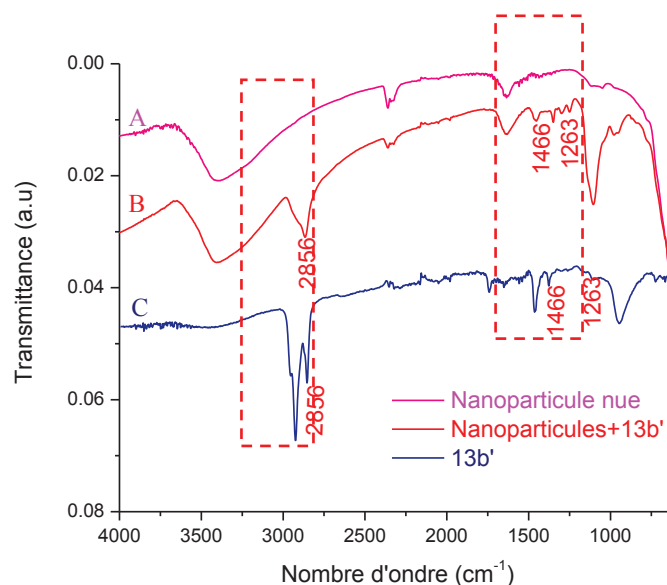


Figure IV-5. Spectres FTIR-ATR des nanoparticules d'oxyde de fer (A) avant et (B) après greffage avec **13b'** et de (C) **13b'**.

Néanmoins, la spectroscopie FTIR-ATR ne permet pas de démontrer que les POEs à extrémité acide phosphonique sont réellement liés à la surface des nanoparticules. L'analyse par photoémission X de la nanoparticule nue et de la nanoparticule après greffage par le POE à extrémité acide phosphonique **13a'** a été réalisée. Le spectre large de la nanoparticule nue (A, Figure IV-6) montre les signaux caractéristiques des liaisons Fe-O de la nanoparticule d'oxyde de fer à 712,08 eV et à 531,08 eV et du dioxyde de carbone adsorbé à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer²³ à 288,91 eV. Le spectre large de la nanoparticule greffée (B, Figure IV-6) montre l'apparition de deux signaux à 133,11 et 409,08 eV, correspondant au phosphore P_{2p} et à l'azote N_{1s}. Le spectre de la décomposition du pic haute résolution P_{2p} (Figure IV-7A) de la nanoparticule greffée confirme l'apparition d'un seul signal à 133,11 eV correspondant à la liaison P-O-Fe. L'examen du pic haute résolution N_{1s} de la nanoparticule greffée (Figure IV-7B) montre l'apparition de deux composantes à 339,92 eV et à 401,48 eV attribuées aux atomes d'azote du cycle triazole et du groupement aminophosphonate, respectivement. Quant à l'examen du pic haute résolution O_{1s} avant et après fonctionnalisation (Figure IV-8), il montre des contributions vers 530,24 eV, 531,00 eV et 532,00 eV correspondant aux atomes d'oxygène des liaisons Fe-O-Fe, Fe-OH et du dioxyde de carbone adsorbé à la surface de la nanoparticule, respectivement. L'intensité du pic vers 532,74 eV (Figure IV-8B) augmente après fonctionnalisation en raison de la contribution des atomes d'oxygène des liaisons P-O-Fe, confirmant l'ancrage du POE à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane sur les nanoparticules d'oxyde de fer. De même, on observe une augmentation de l'intensité du signal à 288,91 eV (Figure IV-6, B) caractéristique des liaisons incluant les atomes de carbone de **13a'**. Ces valeurs sont en accord avec celles de la littérature.^{24,25}

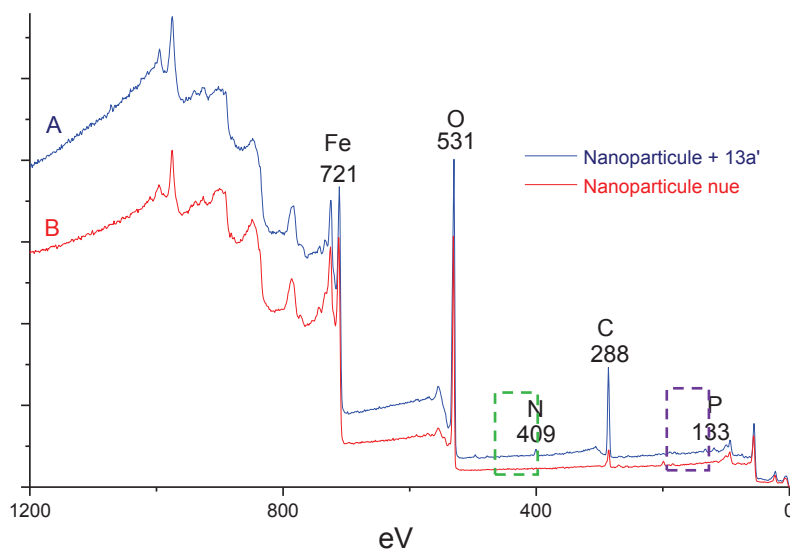


Figure IV-6. Spectres XPS (A) avant et (B) après greffage du poly(oxyde d'éthylène) à extrémité acide phosphonique **13a'** à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer.

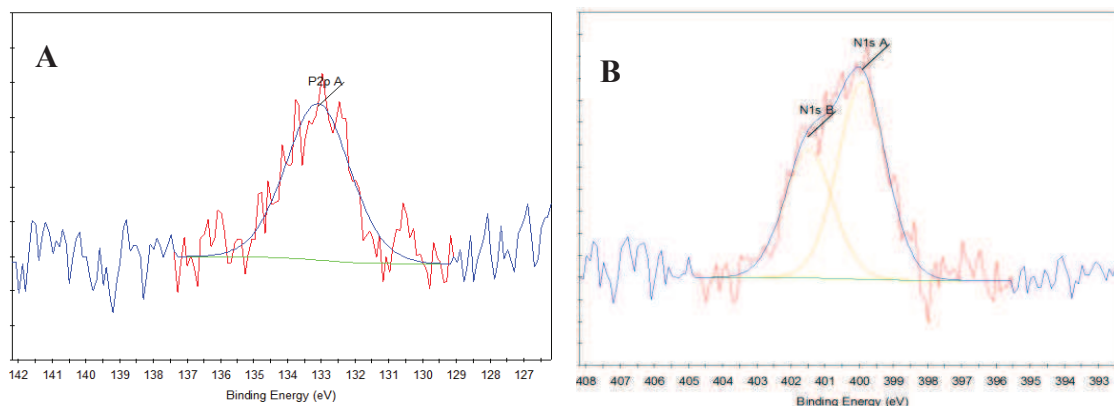


Figure IV-7. Spectres XPS de décomposition du pic haute résolution (A) P_{2p}, et (B) N_{1s} de la nanoparticule d'oxyde de fer fonctionnalisée par **13a'**.

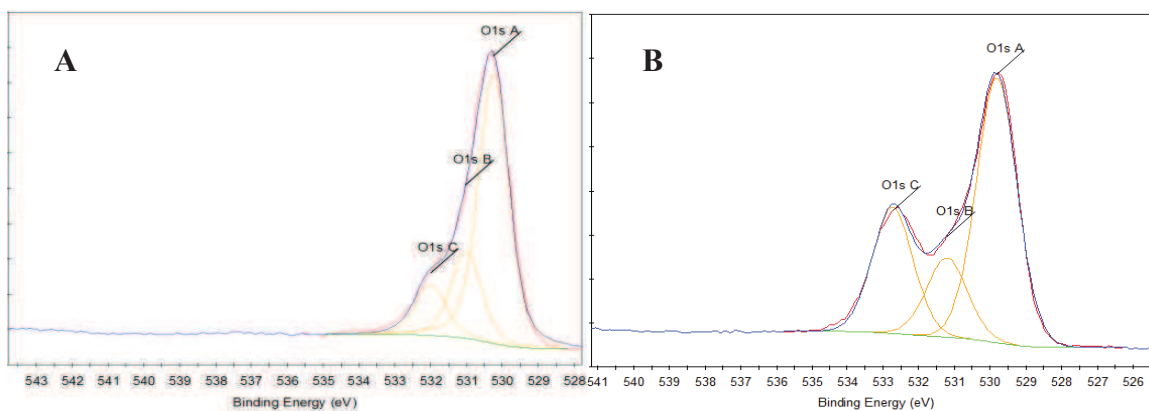


Figure IV-8. Spectres XPS de décomposition du pic haute résolution O_{1s} de la nanoparticule d'oxyde de fer (A) avant et (B) après fonctionnalisation par **13a'**.

II-3. Calcul de la densité de greffage

La densité de greffage des POEs à extrémité acide phosphonique à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer a été déterminée par ATG. En effet, l'ATG permet de déterminer la quantité de polymère présente à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer. Les analyses ont été effectuées sous argon avec une vitesse de montée en température de 10°C/min entre 20°C et 600°C. La Figure IV-9 regroupe les thermogrammes de la nanoparticule nue et des nanoparticules greffées par les POEs à extrémité acide phosphonique de masse molaire moyenne en nombre (\overline{M}_n) 2 000 (**13**, B & D, Figure IV-8) et 5 000 g.mol⁻¹ (**14**, C & E, Figure IV-9) et à fonctionnalité furane (**a'**, B & C, Figure IV-9) et oxanorbornène (**b'**, D & E, Figure IV-9). En absence de greffage, on observe une perte de masse de 5% (A, Figure IV-9) attribuée à la désorption d'eau de la surface de la nanoparticule nue. Les thermogrammes des nanoparticules greffées montrent une perte de masse beaucoup plus importante entre 250°C et 400°C comprise entre 13% et 19% (B à E, Figures IV-9), qui a été attribuée à la décomposition du POE, comme l'attestent les thermogrammes des POEs **13a'** et **13b'** (Figure IV-10), directement liée à la masse molaire du polymère. Les nanoparticules d'oxyde de fer après greffage présentent des pertes de masses élevées par rapport aux nanoparticules d'oxyde de fer nues, en raison de la présence de polymère à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer.

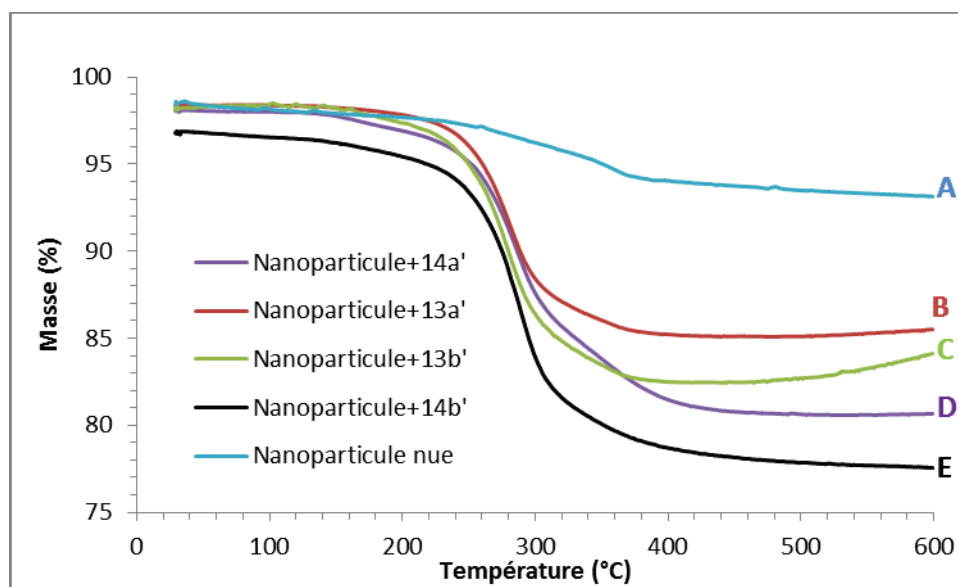


Figure IV-9. Thermogrammes ATG (A) de la nanoparticule nue et des nanoparticules greffées par le POE à extrémité acide phosphonique de \overline{M}_n (B) de 2 000 g.mol⁻¹ à fonctionnalité furane **13a'**, (C) de 2 000 g.mol⁻¹ à fonctionnalité oxanorbornène **14a'**, (D) de 5 000 g.mol⁻¹ à fonctionnalité furane **13b'** et (E) de 5 000 g.mol⁻¹ à fonctionnalité oxanorbornène **14b'** (rampe de température de 10°C/min de 20°C à 600°C sous argon).

La deuxième perte de masse observée sur les thermogrammes des POEs (Figure IV-10), observée à 530°C, a été attribuée à la décomposition de la partie phosphonate.²⁶ Cette perte de masse n'est pas observée sur les thermogrammes des nanoparticules greffées, mettant en évidence que la stabilisation des nanoparticules d'oxyde de fer par les POEs à extrémité acide phosphonique a bien eu lieu et que la liaison covalente entre les atomes d'oxygène des groupements phosphonate et les atomes de fer des nanoparticules subsistent.

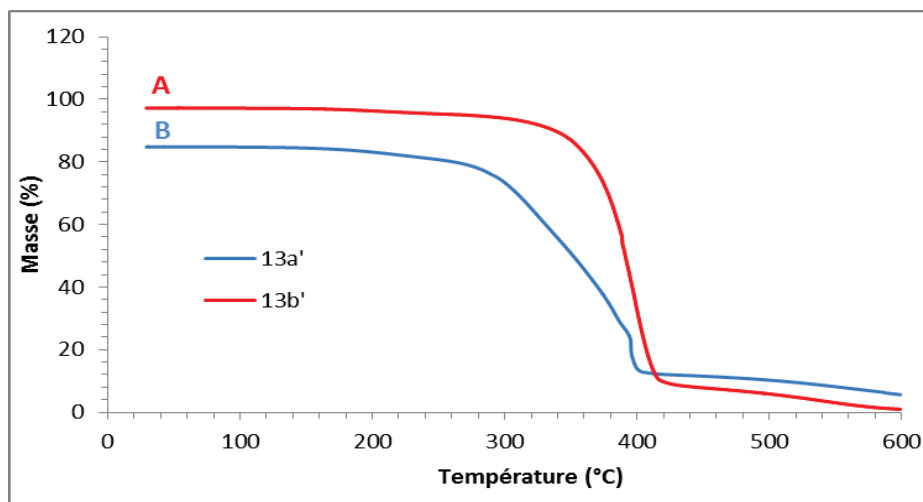


Figure IV-10. Thermogrammes ATG des POEs à extrémité acide phosphonique de \overline{M}_n de 2 000 g.mol⁻¹ à fonctionnalité (A) furane **13a'** et (B) oxanorbornène **13b'** (rampe de température de 10 °C/min de 20°C à 600°C sous argon).

Il est possible de corréler la perte de masse avec le nombre de chaînes par nanoparticule et ainsi déterminer la densité de greffage. Le nombre de chaînes polymères par nanoparticule d'oxyde de fer est calculé à partir de la différence de perte de masse (PM) entre les nanoparticules d'oxyde de fer greffées par le polymère et les nanoparticules nues lors de l'analyse ATG entre 20 °C et 500 °C (Equation 2).

$$PM_{\text{nette}} = PM - PM_{\text{nanoparticules nues}} \quad \text{Equation 2}$$

où PM est la perte de masse après greffage des POEs à la surface des nanoparticules,
 $PM_{\text{nanoparticules nues}}$ est la perte de masse des nanoparticules nues,
 et PM_{nette} est la perte de masse nette.

Le nombre de chaînes par nanoparticules (N) est ensuite obtenu par l'équation 3.

$$N = \frac{\left[\frac{(m^{\text{IONPs}} \times \text{PM}_{\text{nette}}(\%))}{100} \right]}{\left[\frac{(m^{\text{IONPs}} \times (100 - \text{PM}_{\text{nette}}(\%)))}{100} \times V^{\text{IONPs}} \times \rho^{\text{IONPs}} \right]} \quad \text{Equation 3}$$

où m^{IONPs} est la masse des nanoparticules utilisées pour l'analyse ATG, c'est-à-dire la masse de nanoparticules pesées avant analyse à laquelle on a retranché la perte de masse due à la désorption d'eau.

PM est la perte de masse nette,

$\overline{M}_n^{\text{POE}}$ est la masse molaire moyenne en nombre déterminée à partir de la masse du POE commercial à laquelle a été ajoutée la masse molaire des groupements acide phosphonique et furane ou oxanorbornène.

V^{IONPs} est le volume des nanoparticules nues calculé d'après leur rayon déterminé par TEM en considérant les nanoparticules parfaitement sphériques.

$\rho^{\text{IONPs}} = 5,17 \text{ g/cm}^3$ déterminé par diffraction des RX.

La densité de greffage des POEs à extrémité acide phosphonique à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer a ensuite été déterminée à partir de l'équation 4.

$$\text{Densité de greffage} = \frac{N}{S^{\text{IONPs}}} \quad \text{Equation 4}$$

où S^{IONPs} est la surface des nanoparticules nues déterminée par la méthode BET.

Les résultats obtenus (Tableau IV-1) montrent des densités de greffage comprises entre 0,12 et 0,30 chaîne par nm^2 de particule, qui semblent indépendants de la longueur de la chaîne polymère (entrées 2 et 4 pour le POE de \overline{M}_n 2 000 g.mol^{-1} , entrées 3 et 5 pour le POE de \overline{M}_n 5 000 g.mol^{-1}). Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que celles observées par Boyer *et al.*²¹, qui ont rapporté des densités de greffage de poly(acrylate d'oligoéthylène glycol)s à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité ω -dithiopyridine de 0,12 à 0,23 par nm^2 de particule. De même, Takahara *et al.*²⁷ ont obtenu des densités de greffage de poly(3-vinylpyridine)s ou de polystyrènes à extrémité acide phosphonique de 0,12 à 0,20 chaîne par nm^2 de particule.

II-4. Détermination de la taille et de la morphologie des nanoparticules fonctionnalisées

La TEM a été utilisée pour évaluer la taille des nanoparticules d'oxyde de fer fonctionnalisées par les POEs à extrémité acide phosphonique. Les clichés TEM montrent que les nanoparticules greffées sont bien dispersées après stabilisation par les POEs à extrémité acide phosphonique et présentent une forme sphérique (Figure IV-11). Ces clichés TEM montrent la présence d'une couche gris clair recouvrant les nanoparticules mettant en évidence que le greffage des POEs à extrémité acide phosphonique à la surface des nanoparticules a bien eu lieu, et confirment les résultats obtenus avec les analyses FTIR-ATR et XPS. Les tailles des particules sont environ de 13 nm pour des nanoparticules d'oxyde de fer nues, de 15 nm et 19 nm pour les nanoparticules greffées par des POEs de \overline{M}_n de 2 000 g.mol⁻¹ fonctionnalisées respectivement par le furane **13a'** et l'oxanorbornène **14a'** et de 21 nm et 25 nm pour les nanoparticules greffées par des POEs de \overline{M}_n de 5 000 g.mol⁻¹ fonctionnalisées respectivement par le furane **14b'** et l'oxanorbornène **14b'** (Tableau IV-1). La taille apparente des nanoparticules d'oxyde de fer greffées par les POEs augmente ainsi avec la longueur de la chaîne POE.²⁸

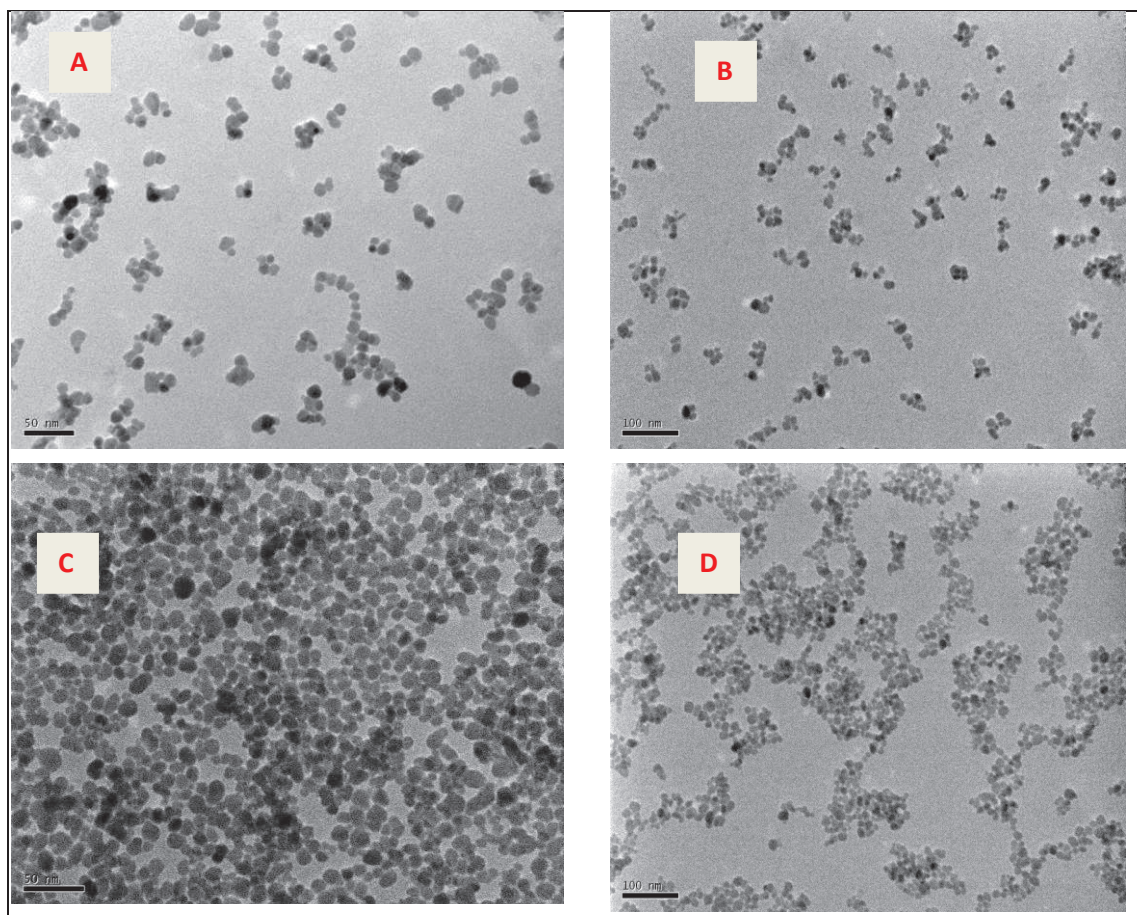


Figure IV-11. Clichés TEM des nanoparticules d'oxyde de fer fonctionnalisées par (A) **13a'**, (B) **13b'**, (C) **14a'** et (D) **14b'**.

La DLS a ensuite été utilisée pour déterminer la taille des nanoparticules stabilisées dans l'eau. Les résultats (Figure IV-12 et Tableau IV-1) montrent que la taille des nanoparticules varie de 20 nm à 80 nm et augmente avec l'augmentation de la \overline{M}_n des polymères qui stabilisent la surface des nanoparticules d'oxyde de fer. La polydispersité est comprise entre 0,2 et 0,4 (Figure IV-12 et Tableau IV-1).

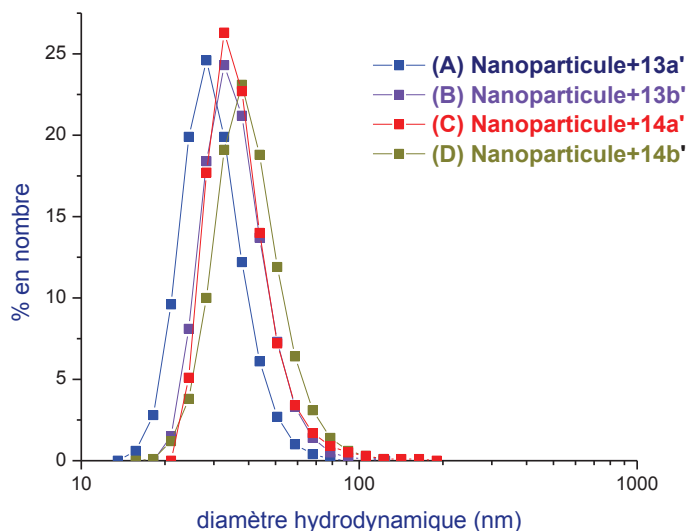


Figure IV-12. Distribution des tailles des nanoparticules greffées (A) **13a'**, (B) **13b'**, (C) **14a'** et (D) **14b'** obtenue par les mesures DLS.

Comme pour les nanoparticules nues, la taille des nanoparticules greffées par les POEs à extrémité acide phosphonique déterminée par DLS est plus élevée que celle observée par TEM. En effet, l'analyse TEM détermine le diamètre des nanoparticules après séchage sous vide sur une grille de cuivre tandis que la DLS détermine le diamètre hydrodynamique qui englobe une couche d'eau hydratée adsorbée à la surface des nanoparticules.^{29,30}

En conclusion, le greffage des nanoparticules d'oxyde de fer par les POEs à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane ou oxanorbornène a été mis en évidence par FTIR-ATR, XPS et ATG. Les nanoparticules présentent une taille moyenne de 15 - 25 nm déterminée par TEM et un diamètre hydrodynamique de 20 - 80 nm par DLS. La densité de greffage, calculée d'après les analyses ATG, est comprise entre 0,12 et 0,30 chaîne par nm² de particule.

Tableau IV-1. Caractérisation des nanoparticules d'oxyde de fer greffées par les POEs à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane ou oxanorbornène.

Entrée	Echantillon	Perte de masse (%)	Densité de greffage chaîne/nm ²	Diamètre TEM (nm)	Diamètre DLS (nm)	Polydispersité	Potentiel zêta (mV)
1	nanoparticule nue	5	-	13	22 (± 5)	0,32(± 0,02)	+42 (± 2)
2	13a'	13	0,20	15	29 (± 5)	0,28 (± 0,05)	- 11 (± 2)
3	13b'	16	0,12	21	36 (± 5)	0,44 (± 0,03)	- 1 (± 1)
4	14a'	19	0,30	19	34 (± 4)	0,27 (± 0,05)	- 9 (± 1)
5	14b'	14	0,16	25	37 (± 4)	0,42 (± 0,02)	- 3 (± 1)

II-5. Etude de la stabilité des nanoparticules greffées

La stabilité des nanoparticules greffées a été étudiée en fonction du temps (Figure IV-13) et de la température (Figure IV-14) par des mesures de DLS. Nous constatons que les particules restent stables après 16 jours dans l'eau.

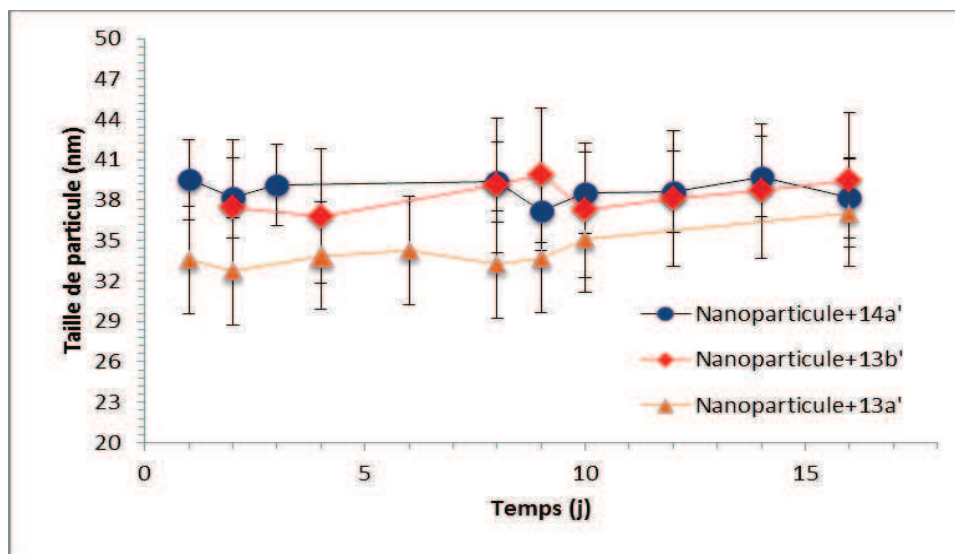


Figure IV-13. Evolution de la taille des nanoparticules d'oxyde de fer greffées en fonction du temps.

Les résultats montrent également que les nanoparticules greffées sont stables jusqu'à 65°C (Figure IV-14), quel que soit le POE utilisé lors de la stabilisation. Par contre, les nanoparticules greffées par **14b'** de $\overline{M}_n = 5\ 000\ \text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ et à fonctionnalité oxanorbornène sont déstabilisées au-delà de cette température contrairement aux autres nanoparticules.

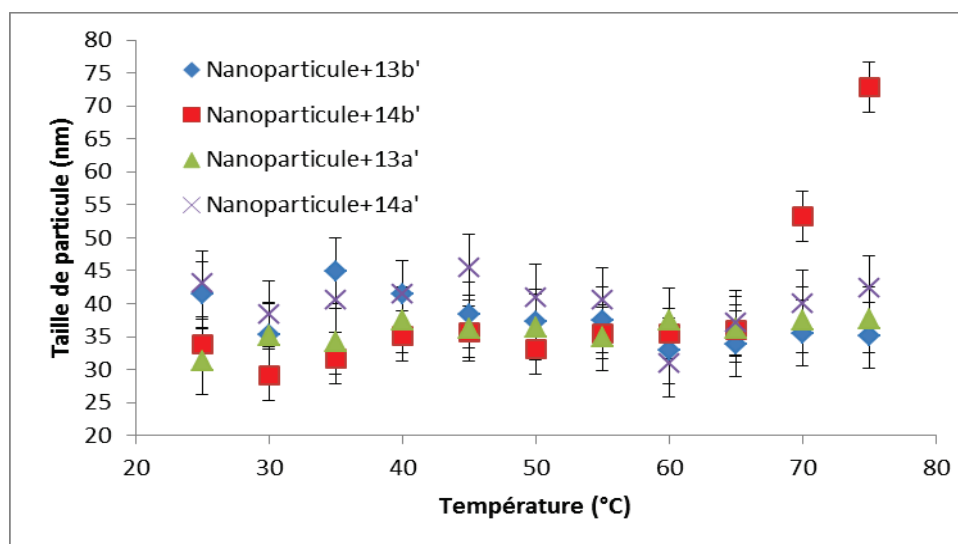


Figure IV-14. Evolution de la taille des nanoparticules d'oxyde de fer greffées en fonction de la température.

La stabilité des nanoparticules a également été examinée dans un tampon phosphate (pH = 7,4) contenant du sérum albumine bovine (BSA, 0,1 g.L⁻¹) pour mimer les conditions physiologiques (Figure IV-15). Les nanoparticules d'oxyde de fer greffées par **13b'** et **14a'** sont stables pendant 24 h sans apparition de précipité, ni variation significative de la taille déterminée par DLS. Par contre, celles greffées par **13a'** ne sont pas stables puisqu'un précipité apparaît au bout de 24 h. Les résultats montrent l'influence de la longueur du POE sur l'aptitude à résister à l'adsorption d'une protéine²⁸ puisque l'augmentation de la longueur de la chaîne de POE (Figure IV-15, **13a'** et **13b'**) améliore la stabilisation colloïdale des nanoparticules d'oxyde de fer.³⁰

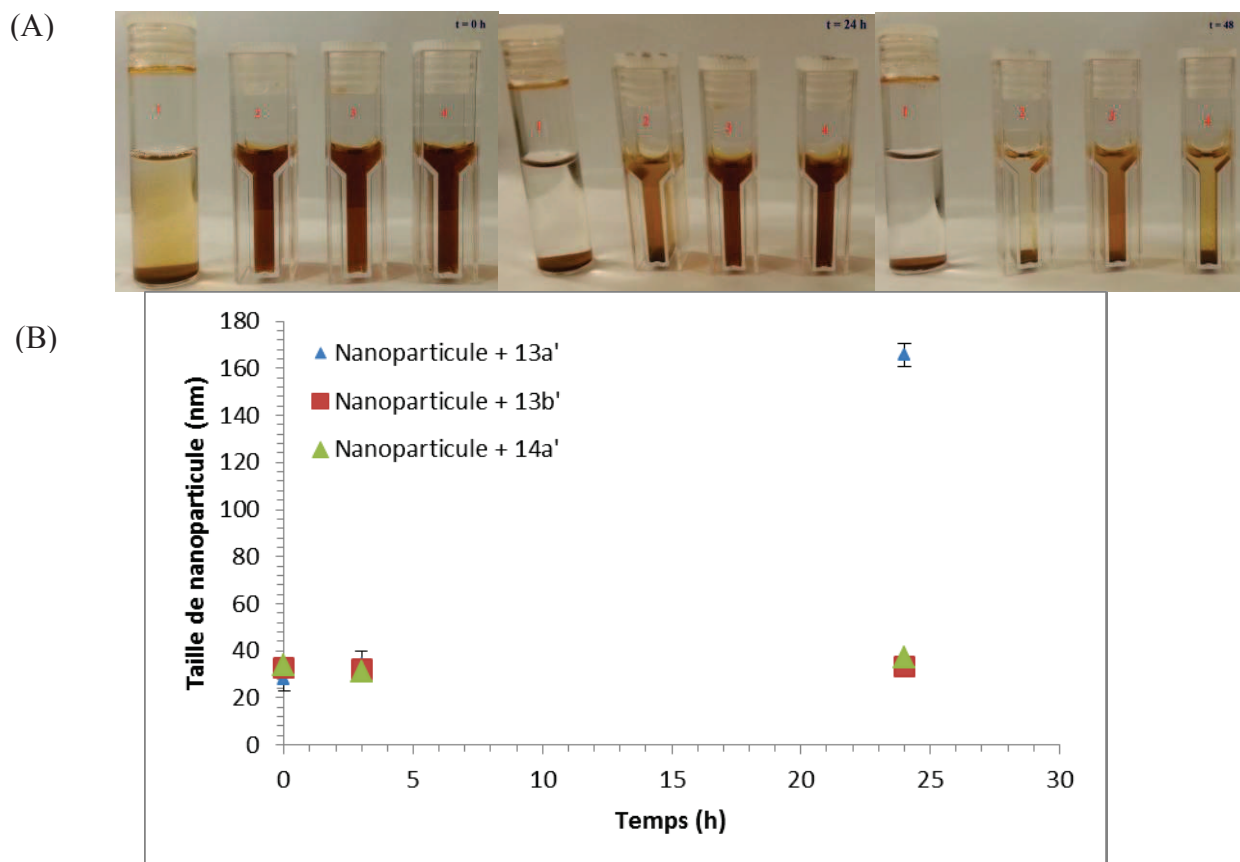


Figure IV-15. Taille et stabilité des nanoparticules greffées par des POEs à extrémité acide phosphonique : (A) Images des nanoparticules et (B) Evolution de la taille des nanoparticules avec le temps après incubation dans un tampon phosphate (concentration 0,1 M ; pH = 7,4) contenant BSA (0,1g/L). Le flacon 1 contient les nanoparticules nues, les cuves 2, 3 et 4, les nanoparticules greffées par **13a'**, **13b'** et **14a'**, respectivement.

Nous observons également que l'augmentation de la concentration en BSA de 0,02 g.L⁻¹ à 0,2 g.L⁻¹ n'a pas d'influence sur la stabilité des nanoparticules d'oxyde de fer greffées par les POEs **13b'** et **14b'** incubées dans un tampon phosphate (pH = 7,4, 0,1M) pendant 24 h (Figure IV-16). Au-delà de 24 h, nous observons un début de précipitation de ces nanoparticules.

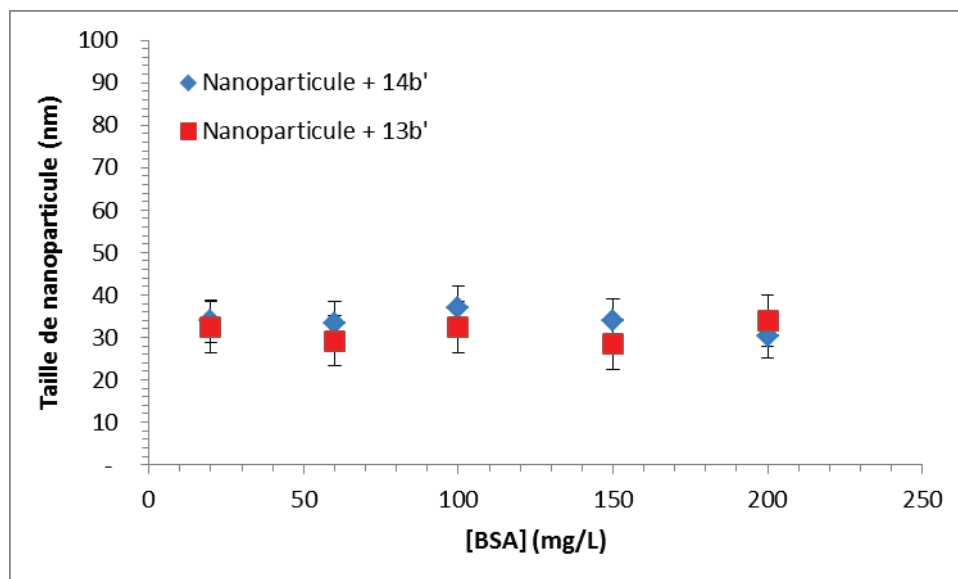


Figure IV-16. Evolution de la taille des nanoparticules greffées par **13b'** et **14b'** dans un tampon phosphate (concentration 0,1 M ; pH = 7,4) en fonction de la concentration en BSA.

L'évolution de la taille des nanoparticules et des potentiels zêta ont également été mesurés en fonction du pH (Figure IV-17). La charge des nanoparticules d'oxyde de fer nues varie d'une valeur positive (+ 50 mV) à une valeur négative (- 50 mV) avec l'augmentation du pH de 2 à 10. Par contre, la charge des nanoparticules greffées par **13b'** et **14b'** varie peu, proche d'un potentiel zêta neutre à pH = 6,3. La charge des nanoparticules greffées par **13a'** et **14a'** à pH = 6,3 est un peu plus importante (Figure IV-17B). Il semble que la longueur de la chaîne du POE influence la charge des nanoparticules. La charge des nanoparticules greffées par **13b'** et **14b'** sont du même ordre de grandeur que celle observée par Sandiford *et al.*⁸, qui ont rapporté la synthèse de nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques fonctionnalisées par du POE de masse \overline{M}_n de 5 000 g.mol⁻¹ à extrémité diacide diphosphonique avec un potentiel zêta environ de zéro à pH = 7. Ce résultat confirme la présence d'une couronne de polymère à la surface des nanoparticules en raison du caractère non chargé du POE. De plus, les particules greffées sont stables en fonction du pH (pH = 2,6 - 10,7), confirmant l'efficacité du greffage du groupement phosphonate à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer.

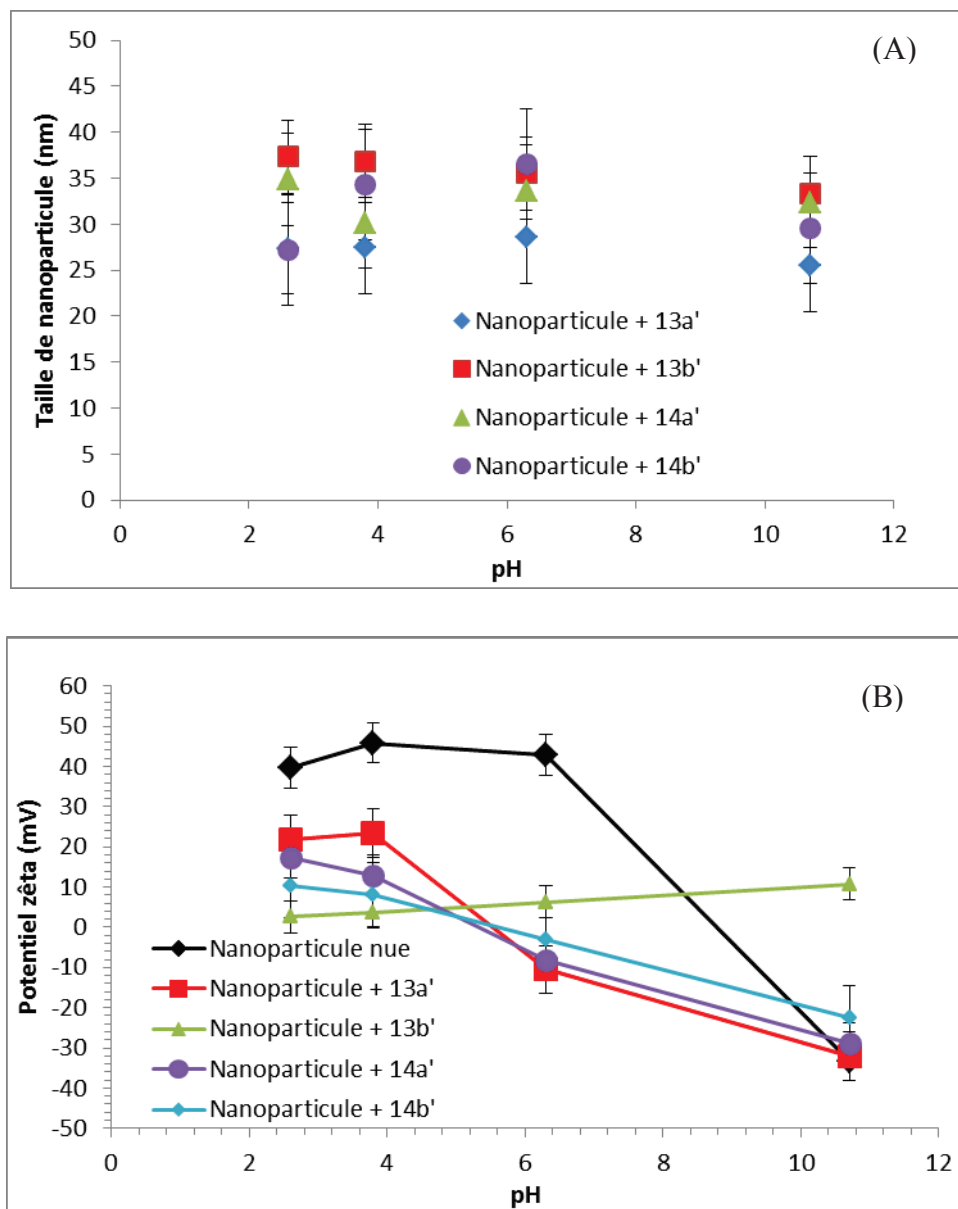


Figure IV-17. Influence du pH sur (A) la taille des nanoparticules greffées et (B) le potentiel zêta des nanoparticules greffées.

L'ensemble de ces résultats met en évidence que la stabilité des nanoparticules d'oxyde de fer augmente avec le greffage des POEs à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane ou oxanorbornène aussi bien dans l'eau pure que dans un tampon phosphate contenant des quantités variables de BSA, mimant des conditions semblables au milieu physiologique. De plus, la mesure du potentiel zêta confirme que ces POEs peuvent masquer la charge positive des nanoparticules, laissant espérer une adsorption limitée des protéines sur ces particules.

II-6. Cytotoxicité des nanoparticules greffées

Les applications potentielles des nanoparticules greffées en biotechnologie nécessitent de connaître leurs propriétés anti-fouling, qui peut les protéger du système réticulo-endothélial,³¹ ainsi que leur cytotoxicité.

Les propriétés anti-fouling ont été évaluées à partir de la méthode Bradford³² en utilisant le BSA comme modèle de protéine plasmatique. La méthode Bradford évalue la quantité de BSA adsorbée après 24 h d'incubation avec une dispersion de nanoplaquettes de graphite (GNP) à 0,1 mg.mL⁻¹ de BSA. Après incubation, les GNPs ont été éliminées de la solution par centrifugation et le surnageant a été analysé pour déterminer la présence de BSA 'libre'. La différence de concentration en BSA avant et après incubation avec les nanoparticules donne la quantité de BSA adsorbée à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer. Les résultats (Tableau IV-2) montrent une faible adsorption du BSA sur les nanoparticules greffées par rapport aux nanoparticules nues, en raison du caractère hydrophile et neutre de la couche polymère sur les nanoparticules. La présence d'un polymère connu pour repousser les protéines à la surface des nanoparticules diminue l'adsorption des protéines sur les nanoparticules greffées, les rendant compatibles avec le milieu physiologique.^{33,34,35,36,37}

Tableau IV-2. Résultats d'adsorption de la BSA à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer.

Entrée	Echantillon	Absorption à 595 nm	Adsorption de BSA (ug BSQ/mg IONPs)
1	nanoparticule nue	0,052	17,74
2	13a'	0,059	4,84
3	13b'	0,059	4,84
4	14a'	0,058	5,65

L'évaluation de la viabilité *in vitro* des cellules en présence des nanoparticules d'oxyde de fer fonctionnalisées par les POEs à extrémité acide phosphonique a été effectuée en utilisant le test standard Alamar Blue.³⁸ Le test est basé sur l'aptitude des cellules vivantes à convertir le colorant redox bleu de résazurine non fluorescent (7-hydroxy-3H-phénoxazin-3-one 10-oxyde) en résorufine rose fluorescent, qui peut être détecté par spectrophotométrie visible à 532 nm. Les cellules non viables perdront rapidement leurs capacités métaboliques et ne génèrent pas de signal de couleur. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la viabilité des cellules. Les tests ont été réalisés sur des cellules MRC-5 (cellules de poumons d'embryons humains, de type fibroblastique). Les cellules sont inoculées avec une densité de 5 000 cellules par mL dans des plaques transparentes 96 puits (100 µL par puits). Après 24 h de culture, le milieu est ensuite

éliminé par retournement de la microplaque. Une gamme de solutions dans l'eau ultra pure de nanoparticules greffées par les POEs à extrémité acide phosphonique de concentrations comprises entre 0,04 et 443 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ est préparée. Les cellules sont exposées à ces solutions de nanoparticules pendant 72 h. La microplaque est vidée par retournement. 20 μL de solution de bleu de résazurine sont ensuite ajoutés dans les puits pour évaluer le pourcentage de survie des cellules. La microplaque est incubée pendant 6 h. La quantité de cellules vivantes par puits est évaluée par mesure de la fluorescence par spectrophotométrie visible. Les nanoparticules greffées par **13a'** et **13b'** ont été testées et les résultats montrent une viabilité des cellules de 100%, montrant que ces nanoparticules sont non toxiques pour des concentrations inférieures à 0,443 $\mu\text{g/mL}$ (Figure IV-18).

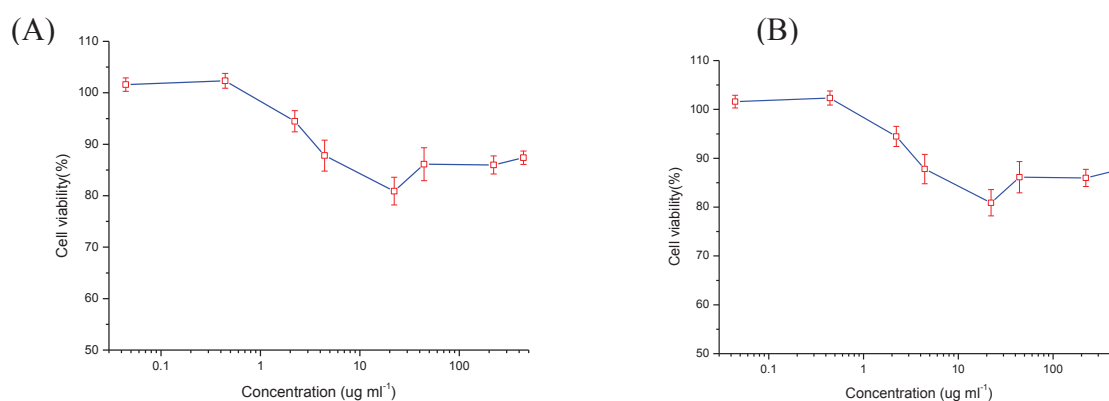


Figure IV-18. Evaluation de la viabilité des cellules en présence de nanoparticules d'oxyde de fer fonctionnalisées par les POEs à extrémité acide phosphonique (A) **13a'** et (B) **13b'** sur les cellules MRC-5 en fonction de la concentration.

L'une des applications potentielles des nanoparticules d'oxyde de fer greffées est leur utilisation en IRM, car la présence du cœur magnétique dans les nanoparticules peut être exploitée pour améliorer le contraste des images obtenues en IRM.³⁹ Nous avons donc mesuré les relaxivités des nanoparticules greffés par **13a'**, **13b'** et **14a'** à différentes concentrations en réalisant les dilutions dans l'eau (Figure IV-19). Nous observons, dans chaque cas, que la vitesse de relaxation transversale (R_2) augmente linéairement avec la concentration en fer, indiquant que la relaxivité (r_2) est constante sur la gamme de concentration étudiée. Ce comportement montre qu'il n'y a pas d'agrégation des particules sous l'effet du champ magnétique pendant le temps de mesure de quelques minutes. Les valeurs de r_2 (Tableau IV-3) comprises entre 155 et 206 s^{-1} par mM de fer sont du même ordre de grandeur que celles d'agents de contraste commerciaux comme le Resovist et l'Endorem, dont les relaxivités sont de l'ordre de 150 à 160 s^{-1} par mM de fer.⁴⁰

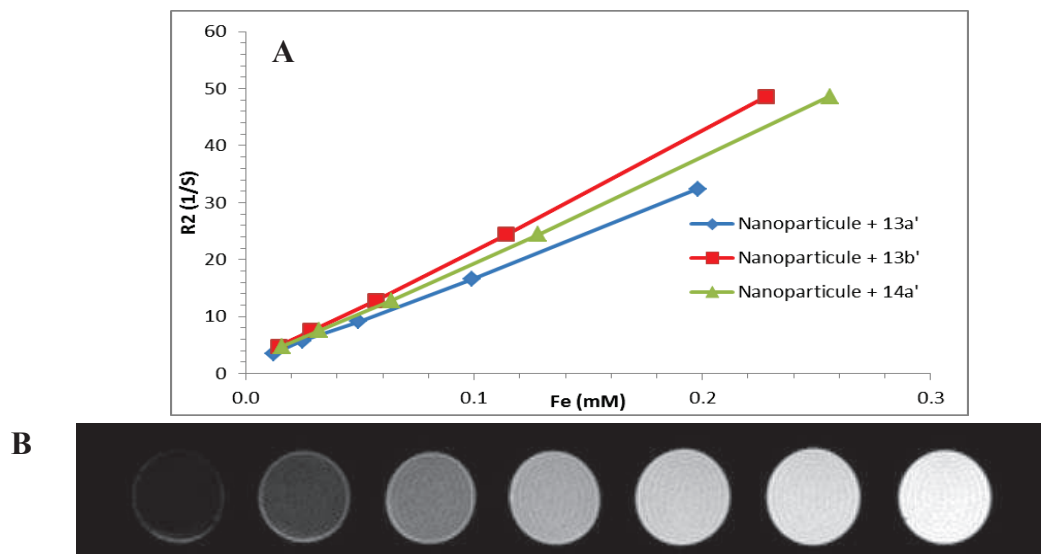


Figure IV-19. (A) Courbes de vitesse de relaxation transversale R_2 en fonction de la concentration en fer et (B) Clichés IRM des nanoparticules d'oxyde de fer greffées par **13a'** par concentrations décroissantes.

Tableau IV-3. Résultats des mesures de relaxivité r_2 des nanoparticules d'oxyde de fer fonctionnalisées par **13a'**, **13b'** et **14a'**.

Entrée	Echantillon	r_2 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)
1	Nanoparticule+ 13a'	155 ± 3
2	Nanoparticule+ 13b'	206 ± 3
3	Nanoparticule+ 14a'	183 ± 3

En conclusion, les nanoparticules d'oxyde de fer fonctionnalisées par les POEs à extrémité acide phosphonique présentent une cytotoxicité compatible avec les applications biologiques envisagées. De plus, leur relaxivité s'est révélée comparable à celles d'agents de contraste commerciaux, confirmant leur potentiel en tant qu'agent de contraste en IRM.

III- Réactivité de la fonctionnalité furane ou oxanorbornène sur les nanoparticules greffées

Les nanoparticules d'oxyde de fer greffées par des POEs sont fonctionnalisées soit par un groupement furane, susceptible de réagir selon une réaction de Diels-Alder thermoréversible avec une (bio)molécule à fonctionnalité maléimide, soit par un groupement oxanorbornène, susceptible de réagir selon une réaction de rétro Diels-Alder par stimuli thermique. Nous avons, dans un 1^{er} temps, étudié la réactivité des cycles furane des nanoparticules fonctionnalisées.

III-1. Réactivité de la fonctionnalité furane des nanoparticules greffées

L'étude de la réactivité du cycle furane a été réalisée par réaction de Diels-Alder avec un colorant à fonctionnalité maléimide : le tétraméthylrhodamine-5-C2 maléimide qui présente une absorbance à 552 nm dans le visible, afin de suivre la conversion de la réaction par spectrophotométrie UV-vis.

La réaction de Diels-Alder entre les nanoparticules d'oxyde de fer greffées par **13a'** et le tétraméthylrhodamine-5-C2 maléimide (Schéma IV-7) a été effectuée dans l'eau ultra pure à température ambiante pendant 14 jours. La solution obtenue a ensuite été dialysée avec une membrane de seuil de coupure de 3,5 kDa pour éliminer le colorant en excès. L'eau de dialyse a été renouvelée plusieurs fois jusqu'à disparition totale de la bande d'absorption à 552 nm mesurée par spectrophotométrie UV-vis, caractéristique du colorant libre.

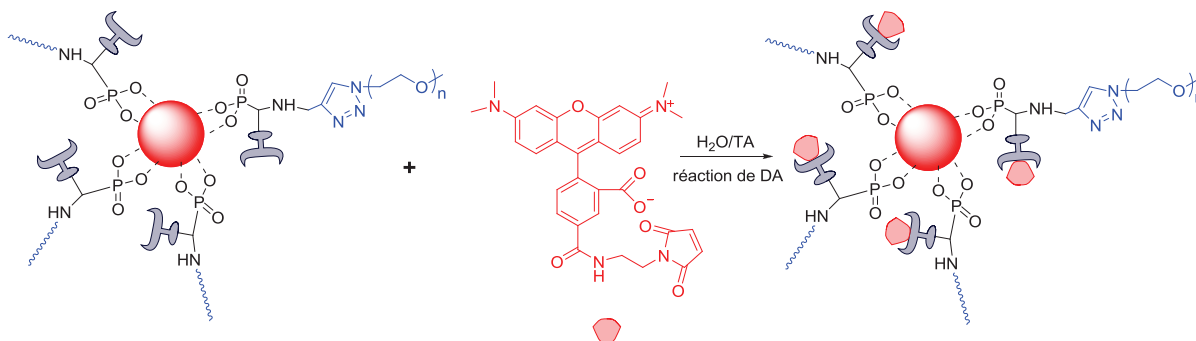


Schéma IV-7. Réaction de Diels-Alder entre les nanoparticules d'oxyde de fer greffées par **13a'** et le tétraméthylrhodamine-5-C2 maléimide.

Le spectre UV-vis (Figure IV-20) des nanoparticules après réaction de Diels-Alder montre l'apparition de nouvelles bandes d'absorption à 404 nm et à 550 nm, caractéristiques du colorant. Il semble donc que la réaction de Diels-Alder se soit produite. De plus, l'analyse par DLS (Figure IV-21) des nanoparticules après réaction avec le colorant montre que la taille des nanoparticules augmente de 56 nm à 97 nm et la polydispersité est $0,19 \pm 0,02$ sans agrégation.

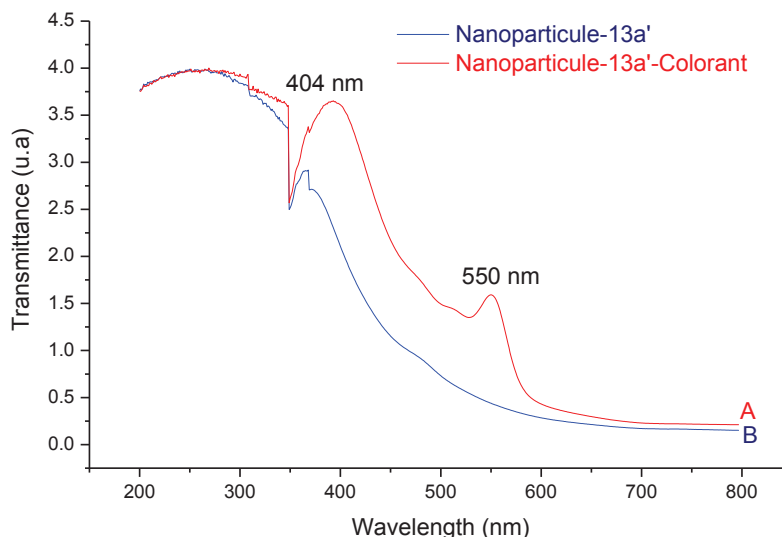


Figure IV-20. Spectres UV-vis des nanoparticules d'oxyde de fer greffées par **13a'** (A) avant, (B) après réaction avec le colorant.

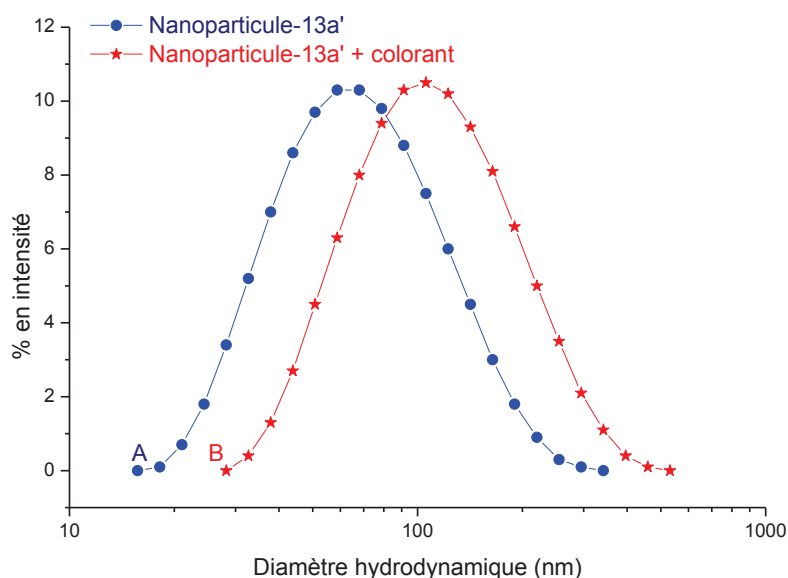


Figure IV-21. Distribution des tailles des nanoparticules greffées **13a'** dans l'eau (A) avant et (B) après réaction avec le colorant par DLS.

Nous avons également utilisé la microscopie de temps de vie de fluorescence (FLIM) pour évaluer l'efficacité de la réaction de Diels-Alder entre les nanoparticules d'oxyde de fer greffées par **13a'** et le tétraméthylrhodamine-5-C2 maléimide (NP-**13a'**-Rho). Cette technique consiste à exciter par un laser l'élément à caractériser, qui réémet ensuite un signal lumineux en se désexcitant. Ce signal de fluorescence, de très faible intensité, est ensuite mesuré par un détecteur optique très sensible aux très bas niveaux de lumière, un compteur de photons. Ce détecteur ultrasensible associé à un corrélateur temporel permet de reconstituer le signal de fluorescence. La technique de Time Correlated Single Photon Counting (TCSPC) est

particulièrement adaptée pour déterminer le temps de vie du tétraméthylrhodamine-5-C2 maléimide libre et de NP-**13a'**-Rho. La Figure IV-22 montre que le temps de vie (τ) du tétraméthylrhodamine-5-C2 maléimide libre est de 2 s (Figure IV-22, courbe verte). Le temps de vie des NP-**13a'**-Rho avant dialyse (Figure IV-22, courbe rouge) est également de 2 s en raison de la présence de colorant en excès. Après dialyse, τ diminue de 2 s à 1,6 s (Figure IV-22, courbe bleue) et a été associé à l'effet d'extinction de la fluorescence en raison de la formation de la liaison entre le tétraméthylrhodamine-5-C2 maléimide et la fonction furane proche du cœur des nanoparticules d'oxyde de fer,^{41,42,43} mettant en évidence que cette réaction a bien eu lieu.

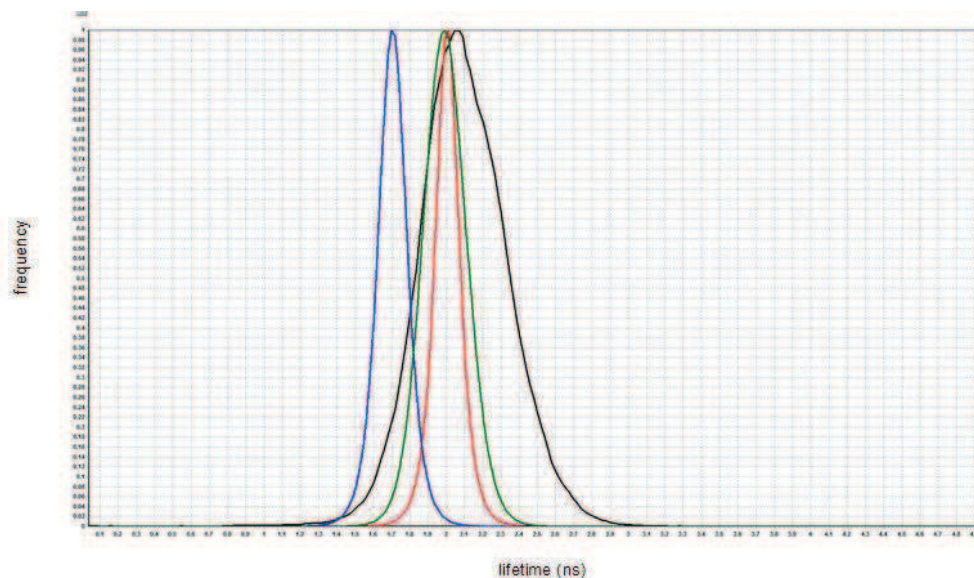


Figure IV-22. Distribution des temps de vie du tétraméthylrhodamine-5-C2 maléimide (courbe verte), des nanoparticules d'oxyde de fer greffées par **13a'** à fonctionnalité tétraméthylrhodamine-5-C2 maléimide avant dialyse (courbe rouge), après dialyse (courbe bleue) et après rétro Diels-Alder en présence de NaCl (courbe noire).

III-2. Réactivité de la fonctionnalité oxanorbornène des nanoparticules greffées

L'aptitude des nanoparticules greffées par des POEs à fonctionnalité oxanorbornène à libérer une (bio)molécule à fonctionnalité maléimide selon une réaction de rétro Diels-Alder a été étudiée. Pour des raisons de disponibilité en produits, cette réaction a été étudiée à partir de nanoparticules d'oxyde de fer qui ont été greffées par des POEs possédant déjà la fonctionnalité oxanorbornène. La réaction de rétro Diels-Alder a été effectuée à 70 °C selon les conditions précédemment établies au chapitre III, page 97 (Schéma IV-8).

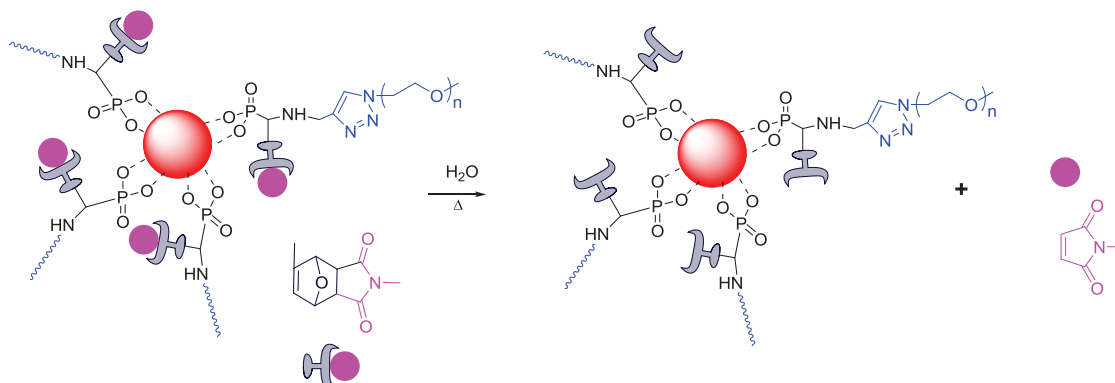


Schéma IV-8. Réaction de rétro Diels-Alder des nanoparticules d'oxyde de fer greffées par le POE **14a'** à extrémité acide phosphonique.

La réaction de rétro Diels-Alder des nanoparticules d'oxyde de fer greffées par **14a'** a été testée dans l'eau ultra pure à 70°C pendant 24 h. Les nanoparticules obtenues sont récupérées par centrifugation et lavées plusieurs fois avec de l'eau ultra pure désoxygénée pour éliminer le *N*-méthylmaléimide libéré. La réaction a été suivie par spectroscopie FTIR-ATR. La Figure IV-23 montre la superposition des spectres FTIR-ATR enregistrés à $t = 0$, $t = 16$ h et $t = 64$ h. La bande à 1466 cm^{-1} ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$ triazole) a été utilisée comme référence. On observe sur le spectre enregistré à $t = 0$ de la nanoparticule greffée par le POE **14a'** à fonctionnalité oxanorbornène, outre les bandes de vibration d'élongation caractéristiques du POE à 2856 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-H}}$), 1466 cm^{-1} ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$ triazole) et 1263 cm^{-1} ($\nu_{\text{P}=\text{O}}$), une bande à 1697 cm^{-1} , caractéristique de la vibration d'élongation de la liaison C=O du cycle du maléimide de l'oxanorbornène⁴⁴ (A, Figure IV-23). Nous remarquons que la bande à 1697 cm^{-1} diminue avec l'augmentation de la durée de réaction, mettant en évidence que cette réaction a eu lieu. La conversion de la réaction de rétro Diels-Alder, calculée par comparaison des aires des bandes à 1697 cm^{-1} après 64 h et à 1466 cm^{-1} ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$ triazole), est estimée à 98%.

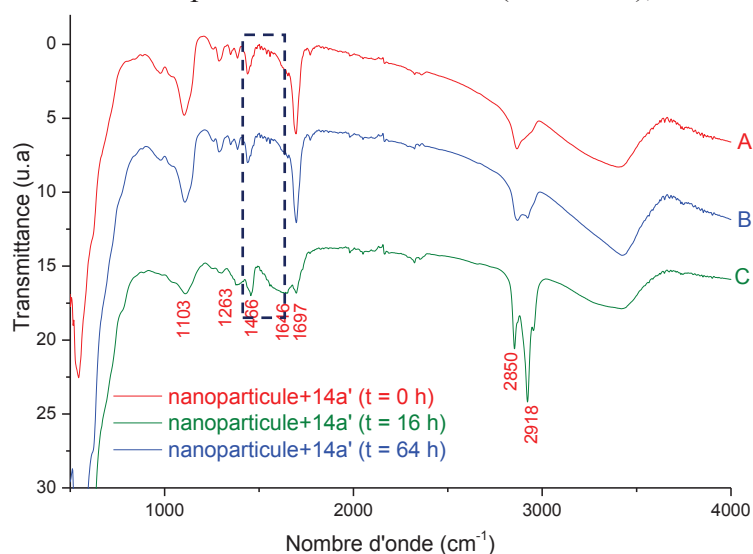


Figure IV-23. Spectre FTIR-ATR de la réaction de rétro Diels-Alder sur les nanoparticules d'oxyde de fer greffées par **14a'** effectuée à 70°C pour des durées de réaction (A) $t = 0$, (B) $t = 16$ h et (C) $t = 64$ h.

Le suivi de la réaction de rétro Diels-Alder a également été réalisé par FLIM. Les nanoparticules NP-**13a'**-Rho ont subi une réaction de rétro Diels-Alder dans l'eau pendant 48 h à 70°C. Les résultats montrent, qu'après réaction, le temps de vie reste inchangé à 1,6 s (Figure IV-22, courbe bleue). Il semble que le colorant, même libéré, soit toujours suffisamment proche du cœur des nanoparticules en raison d'interactions charge-charge et empêche l'extinction de sa fluorescence.⁴⁵ Nous avons donc ajouté une solution de chlorure de sodium (NaCl) pour pouvoir supprimer la répulsion électrostatique entre le tétraméthylrhodamine-5-C2 maléimide et les nanoparticules. Une solution de NaCl 0,1 mol.L⁻¹ a donc été ajoutée dans la solution de NP-**13a'**-Rho obtenue après réaction de rétro Diels-Alder pour mimer la concentration de NaCl dans le plasma sanguin. Nous avons observé que le temps de vie des nanoparticules est de 2 s (Figure IV-22, courbe noire) grâce à la diminution de l'extinction de fluorescence du tétraméthylrhodamine-5-C2 maléimide libéré quand il s'est éloigné du cœur des nanoparticules.⁴⁵ Ces résultats confirment que la réaction de rétro Diels-Alder de NP-**13a'**-Rho s'est bien produite.

En conclusion, nous avons montré la réactivité des cycles furane des nanoparticules d'oxyde de fer greffées par **13a'** vis-à-vis d'une réaction de Diels-Alder. De même, nous avons mis en évidence la possibilité d'une réaction de rétro Diels-Alder par stimuli thermique avec une conversion quasi-quantitative.

CONCLUSION

La stabilisation de nanoparticules d'oxyde de fer par des poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éthers à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane ou oxanorbornène a été réalisée selon la stratégie 'grafting onto'. Les analyses FTIR-ATR et de photoémission X ont montré la présence du polymère à la surface des nanoparticules et l'établissement de liaisons P-O-Fe, mettant en évidence que le greffage des POEs à extrémité acide phosphonique à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer a bien eu lieu. La densité de greffage des nanoparticules d'oxyde de fer fonctionnalisées par les POEs à extrémité acide phosphonique, déterminée par analyse thermogravimétrique, est comprise entre 0,12 et 0,30 chaîne/nm² de particule. La taille des nanoparticules, déterminée par microscopie électronique en transmission, est de l'ordre de 13 nm pour des nanoparticules d'oxyde de fer nues et de 15-25 nm pour des nanoparticules greffées. La taille des nanoparticules en solution dans l'eau, obtenue par diffusion dynamique de la lumière, est comprise entre 20 nm et 80 nm et la polydispersité de l'ordre de 0,2 à 0,4. Cette taille n'est pas influencée par le pH.

Les nanoparticules greffées ont montré des propriétés anti-fouling et une cytotoxicité compatibles avec des applications biologiques. De plus, les relaxivités des nanoparticules greffés par **13a'**, **13b'** et **14a'** mesurées sont du même ordre de grandeur que celles des agents de contraste commerciaux utilisés en IRM.

La réactivité de la fonctionnalité furane des nanoparticules greffées vis-à-vis d'une réaction de Diels-Alder avec des molécules modèles à fonctionnalité maléimide a été mise en évidence par FLIM et par spectrophotométrie UV-visible. De même, le caractère thermoréversible de cette réaction a été validé par FLIM et par spectroscopie FTIR-ATR, et a montré une conversion quasi-quantitative de la réaction de rétro Diels-Alder. Ces résultats ouvrent des perspectives tout à fait intéressantes pour l'utilisation de ces nanoparticules greffées dans les domaines de la vectorisation et de la libération par hyperthermie.

Références

- ¹ Reddy, L. H.; Arias, J. L.; Nicolas, J.; Couvreur, P. *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 5818-5878.
- ² Schladt, D. T.; Schneider, K.; Schild, H.; Tremel, W. *Dalton Trans. Mater.* **2011**, *40*, 6315-6344.
- ³ Diels, O.; Alder, K. *Liebigs Ann. Chem.* **1928**, *98*, 468.
- ⁴ Cao, P.; Tong, L.; Hou, Y.; Zhao, G.; Guerin, G.; Winnik, M. A. *Langmuir* **2012**, *28*, 12861-12870.
- ⁵ Sandiford, L.; Phinikaridou, A.; Protti, A.; Meszaros, L. K.; Cui, X.; Yan, Y.; Frodsham, G.; Williamson, P. A.; Gaddum, N.; Botnar, R. M.; Blower, P. J.; Green, M. A.; de Rosales, R. T. M. *ACS Nano* **2013**, *7*, 500-512.
- ⁶ Liu, X.; Liu, H.; Zhou, W.; Zheng, H.; Yin, X.; Li, Y.; Guo, Y.; Zhu, M.; Ouyang, C.; Zhu, D.; Xia, A. *Langmuir* **2010**, *26*, 3179-3185.
- ⁷ Yamashita, S.; Fukushima, H.; Niidome, Y.; Mori, T.; Katayama, Y.; Niidome, T. *Langmuir* **2011**, *27*, 14621-14626.
- ⁸ Wu, W.; He, Q.; Jiang, C. *Nanoscale Res. Lett.* **2008**, *3*, 397-415.
- ⁹ Cornell, R. M.; Schwertmann, U. *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrence and Uses*; VCH: New York, **1996**, 28-29.
- ¹⁰ Verwey, E. J. *Nature* **1939**, *144*, 327-328.
- ¹¹ Coey, J. M. D.; Berkowitz, A. E.; Balcells, L. I.; Putris, F. F.; Parker, F. T. *Appl. Phys. Lett.* **1998**, *72*, 734-736.
- ¹² Soeya, S.; Hayakawa, J.; Takahashi, H.; Ito, K.; Yamamoto, C.; Kida, A.; Asano, H.; Matsui, A. *Appl. Phys. Lett.* **2002**, *80*, 823-825.
- ¹³ Wu, J. H.; Ko, S. P.; Liu, H. L.; Kim, S.; Ju, J. S.; Kim, Y. K. *Mater. Lett.* **2007**, *61*, 3124-3129.
- ¹⁴ Lu, A. H.; Salabas, E.; Schüth. *Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1222-1244.
- ¹⁵ Massart, R. *IEEE. Trans. Magn.* **1981**, *MAG-17*, 1247-1248.
- ¹⁶ Bee, A.; Massart, R.; Neveu, S. *J. Magn. Magn. Mater.* **1995**, *149*, 6-9.
- ¹⁷ Scherrer, P. *Göttingen Nachrichten* **1918**, *2*, 98-100.
- ¹⁸ Moersdorf, D.; Hugounenq, P.; Truong, P. L.; Mamlouk-Chaouachi, H.; Felder-Flesch, D.; Begin-Colin, S.; Pourroy, G.; Bernhardt, I. *Adv. Biosci. Biotech.* **2010**, *1*, 439-443.
- ¹⁹ Belin, T.; Millot, N.; Villieras, F.; Bertrand, O.; Bellat, J. P. *J. Phys. Chem.* **2004**, *108*, 5333-5340.
- ²⁰ Daou, T. J.; Greneche, J. M.; Lee, S. J.; Lee, S.; Lefevre, C.; Bégin-Colin, S.; Pourroy, G. *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 8794-8799.
- ²¹ Boyer, C.; Bulmus, V.; Priyanto, P.; Teoh, W. Y.; Amal, R.; Davis, T. P. *J. Mater. Chem.* **2009**, *19*, 111-123.
- ²² Boyer, C.; Priyanto, P.; Davis, T. P.; Pissuwan, D.; Bulmus, V.; Maria, K.; Teoh, W. Y.; Amal, R.; Carroll, M.; Woodware, R.; Pierre, T. S. *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 255-265.
- ²³ Vogelson, C. T.; Keys, A.; Edwardsa, C. L.; Barron, A. R. *J. Mater. Chem.* **2003**, *13*, 291-296.
- ²⁴ Nooney, M. G.; Murrell, T. S.; Corneille, J. S.; Rusert, E. I.; Rossner, L. R.; Goodman, D. W. *J. Vac. Sci. A* **1996**, *14*, 1357-1361.
- ²⁵ Daou, T. J.; Bégin-Colin, S.; Grenèche, J. M.; Thomas, F.; Derory, A.; Bernhardt, P.; Legaré, P.; Pourroy, G. *Chem. Mater.* **2007**, *19*, 4494-4505.
- ²⁶ Jiang, D. D.; Yao, Q.; Mckinney, A. M.; Wilkie, C. A. *Polym. Degrad. Stab.* **1999**, *63*, 423-434.
- ²⁷ Matsuno, R.; Yamamoto, K.; Otsuka, H.; Takahara, A. *Macromolecules* **2004**, *37*, 2203-2209.

- ²⁸ Tromsdorf, U. I.; Bruns, O. T.; Salmen, S. C.; Beisiegel, U.; Weller, H. *Nano Lett.* **2009**, *9*, 4434-4440.
- ²⁹ Horak, D.; Krystufek, M.; Spevacek, J. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2000**, *38*, 653-663.
- ³⁰ Liu, X. L.; Fan, H. M.; Yi, J. B.; Yang, Y.; Choo, E. S. G.; Xue, X. M.; Fan, D. D.; Ding, J. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 8235-8244.
- ³¹ Alexis, F.; Pridgen, E.; Molnar, L. K.; Farokhzad, O. C. *Mol. Pharm.* **2008**, *5*, 505-515.
- ³² Bradford, M. M. *Anal. Biochem.* **1976**, *72*, 248-254.
- ³³ Schwendel, D.; Dahint, R.; Herrwerth, S.; Schloerholz, M.; Eck, W.; Grunze, M. *Langmuir* **2001**, *17*, 5717-5720.
- ³⁴ Nuzzo, R. *Nat. Mater.* **2003**, *2*, 207-208.
- ³⁵ Prime, K. L.; Whitesides, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10714-10721.
- ³⁶ Zareie, H. M.; Boyer, C.; Bulmus, V.; Nateghi, E.; Davis, T. P. *ACS Nano* **2008**, *2*, 757-765.
- ³⁷ Li, D.; Teoh, W. Y.; Selomulya, C.; Woodward, R. C.; Amal, R.; Rosche, B. *Chem. Mater.* **2006**, *18*, 6403-6413.
- ³⁸ Mosmann, T. *J. Immuno. Methods* **1983**, *65*, 55-63.
- ³⁹ Yang, X.; Pilla, S.; Grailer, J. J.; Steeber, D. A.; Gong, S.; Chen, Y.; Chen, G.; *J. Mater. Chem.* **2009**, *19*, 5812-5817.
- ⁴⁰ Gossuin, Y.; Gillis, P.; Hocq, A.; Vuong, Q. L.; Roch, A. *Nanomed. Nanobiotechnol.* **2009**, *1*, 299-310.
- ⁴¹ Liu, S.; Xing, R.; Lu, F.; Rana, R. K.; Zhu, J.-J. *J. Phys. Chem. C.* **2009**, *113*, 21042-21047.
- ⁴² Qu, H.; Caruntu, D.; Liu, H.; O'Connor, C. J. *Langmuir* **2011**, *27*, 2271-2278.
- ⁴³ Lakowicz, J. R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Springer: New York **2006**.
- ⁴⁴ Magana, S.; Zerroukhi, A.; Jegat, C.; Mignard, N. *J. React. Funct. Polym.* **2010**, *70*, 442-448.
- ⁴⁵ Wang, Y.; Li, B.; Zhang, L.; Li, P.; Wang, L.; Zhang, J. *Langmuir* **2012**, *28*, 1657-1662.

CONCLUSION GENERALE

Le sujet de cette thèse concerne l'élaboration de polymères hydrophiles biocompatibles et fonctionnels pour la stabilisation et la (bio)fonctionnalisation de nanoparticules magnétiques d'oxyde de fer. Les nanoparticules d'oxyde de fer sont en effet particulièrement intéressantes en raison notamment de leur biocompatibilité, qui autorise leur utilisation *in vivo* tant pour le diagnostic (en tant qu'agents de contraste en imagerie par résonance magnétique) qu'en thérapie (en tant que vecteurs de principes actifs ou pour la thérapie génique). Pour une utilisation *in vivo*, il est indispensable de recouvrir les nanoparticules métalliques à l'aide de molécules ou polymères organiques. En particulier, les polymères permettent non seulement de stabiliser ces nanoparticules, mais peuvent également comporter d'autres groupements susceptibles de conférer une (ou des) propriété(s) spécifique(s) pouvant être utilisés pour une fonctionnalisation ultérieure. C'est dans ce contexte que se situe ce travail, qui visait à élaborer des ligands multifonctionnels dont la structure générale est présentée dans le Schéma 1 ci-dessous. Ces ligands renferment à la fois un groupement de type acide phosphonique pour l'ancrage à la surface des nanoparticules et deux fonctions orthogonales aptes à la chimie 'click' : en cycloaddition 1,3-dipolaire [3+2], d'une part, pour la fixation d'un polymère hydrophile destiné à la stabilisation des nanoparticules, et en cycloaddition [4+2] (réaction de Diels-Alder), d'autre part, pour la ligation thermoréversible d'une molécule d'intérêt biologique.

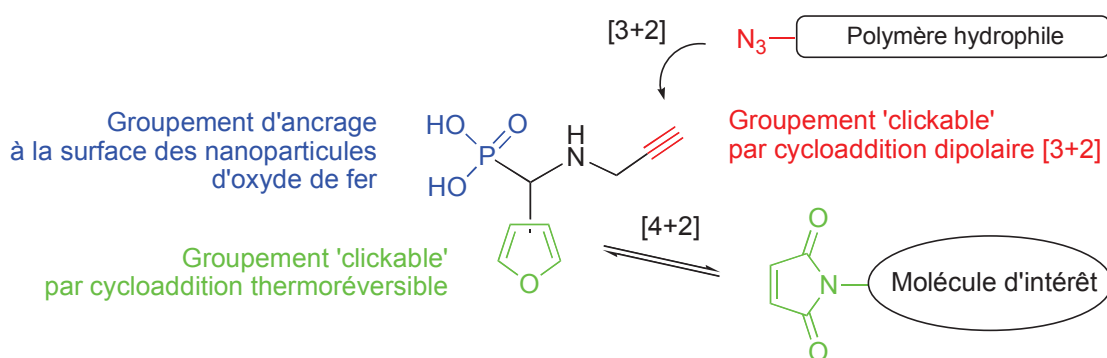


Schéma 1. Structure générale des ligands multi-fonctionnels étudiés dans ce travail.

Le polymère hydrophile retenu pour ce travail est le poly(oxyde d'éthylène) (POE) en raison de ses propriétés de biocompatibilité et de furtivité, ainsi que sa disponibilité commerciale. Le premier objectif a donc été de fonctionnaliser le POE par introduction (i) d'un groupement acide phosphonique dont les propriétés chélatantes vis-à-vis des oxydes métalliques (en particulier l'oxyde de fer) sont connues et (ii) d'un groupement fonctionnel dérivé du furane, susceptible de réagir avec des biomolécules à fonctionnalité maléimide, facilement accessibles, selon une réaction de Diels-Alder thermoréversible.

Dans un premier temps, nous avons synthétisé des POEs à extrémité acide phosphonique à partir d'un POE commercial de masse \overline{M}_n de 2 000 g.mol⁻¹, étendant ensuite aux POEs de masse \overline{M}_n de 5 000 g.mol⁻¹, selon deux stratégies originales combinant une réaction de la chimie des organophosphorés (réactions d'Atherton-Todd et de Kabachnik-Fields) et de chimie 'click' (cycloaddition 1,3-dipolaire entre un azoture et un alcyne catalysée au cuivre). La synthèse des POEs à extrémité hydrogénophosphonate de di(m)éthyle a tout d'abord été effectuée en deux étapes. La 1^{ère} étape a conduit à des *N*-di(m)éthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amines en utilisant la réaction d'Atherton-Todd qui permet d'introduire une fonction alcyne par réaction entre un hydrogénophosphonate de di(m)éthyle et la *N*-propargylamine. La *N*-diéthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine et de la *N*-diméthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine, non décrite dans la littérature, ont été obtenues avec des rendements de 55% et 22%, respectivement. Dans une 2^{ème} étape, ces *N*-alkoxyphosphorylprop-2-yn-1-amines ont été engagées dans une réaction de chimie 'click' avec un azoture de POE en présence du système catalytique CuBr/*N,N,N',N',N''*-pentaméthyl-diéthylène-triamine (PMDETA) pour conduire aux POEs à extrémité phosphonate de di(m)éthyle avec des rendements de 70 à 72%. Cependant, nous avons montré que la réaction de déalkylation des esters phosphoniques à l'aide du bromure de triméthylsilyle (TMSBr) conduit à la rupture de la liaison P-N, ce qui nous a amené à nous tourner vers une autre méthode.

Nous avons ainsi choisi de combiner la réaction de Kabachnik-Fields avec la chimie 'click' pour accéder aux ligands POEs à extrémité acide phosphonique. En effet, la liaison P-C est plus robuste que la liaison P-N, permettant la déalkylation ainsi que l'hydrolyse des esters phosphoniques intermédiaires. En outre, cette stratégie permet d'introduire la fonction 'clickable' supplémentaire (cycle furane) permettant une réaction ultérieure avec une (bio)molécule à fonctionnalité maléimide par cycloaddition [4+2] thermoréversible de Diels-Alder. Nous avons donc tout d'abord synthétisé avec de très bons rendements (85% à 90%) des aminophosphonates : le phényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle et les 2(3)-furanyle(prop-2-ynylamino)méthylphosphonates de diméthyle selon la réaction de Kabachnik-Fields. Cette réaction trois composants a été mise en œuvre en deux étapes à partir de la *N*-propargylamine, qui fournit la fonction 'clickable' en cycloaddition dipolaire [3+2], de l'hydrogénophosphonate de diméthyle, et d'un aldéhyde : le benzaldéhyde, qui a servi de modèle, et les 2- ou 3-carboxaldéhyde furanes qui apportent la seconde fonction 'clickable' orthogonale mobilisable en cycloaddition [4+2] thermoréversible. Les POEs à extrémité phosphonate de diméthyle et à fonctionnalité phényle ou furyle ont été obtenus par réaction de chimie 'click' entre les aminophosphonates et l'azoture du POE avec des conversions de 94% à 100%. Enfin, l'extrémité phosphonate de diméthyle de ces POEs a été déalkylée dans des conditions douces ainsi que par hydrolyse, procédure plus simple à mettre en œuvre. La spectrométrie de masse MALDI-TOF a permis de confirmer sans ambiguïté l'obtention des structures attendues.

L'aptitude du cycle furane de ces POEs à ancrer une (bio)molécule à fonctionnalité maléimide selon une réaction de Diels-Alder a ensuite été réalisée afin de disposer, après déalkylation, de POEs à extrémité acide phosphonique aptes à la fois à stabiliser des nanoparticules magnétiques et à libérer par chauffage une (bio)molécule selon un processus de rétro-Diels-Alder. Cette étude a été réalisée avec une molécule modèle, le *N*-méthylmaléimide. Les résultats ont montré l'influence de la position d'ancrage et de la nature des substituants sur la réactivité du cycle furane. En effet, le POE à fonctionnalité 3-furane a conduit à une conversion quantitative tandis qu'elle est limitée à 36% pour le POE à fonctionnalité 2-furane. L'ajout d'un groupement électrodonneur sur le cycle furane a également permis d'activer la réaction de Diels-Alder. Le POE à extrémité phosphonate de diméthyle et à fonctionnalité oxanorbornène a ensuite subi une réaction de rétro Diels-Alder par stimulus thermique en 11 h à 110°C dans le diméthylsulfoxyde deutéré (DMSO-d₆) ou dans le 1,1,1-trichloroéthane deutéré (TCE-d₂). Ces conditions ont ensuite été appliquées aux POEs à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité 3-furane. La réaction de Diels-Alder avec le *N*-méthylmaléimide a été réalisée avec une conversion de 94% dans le DMSO-d₆ en 5 jours. La réaction de rétro-Diels-Alder du POE à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité oxanorbornène a été menée avec succès dans le TCE-d₂ en 6 heures.

Les POEs à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane ou oxanorbornène obtenus ont ensuite été utilisés pour la stabilisation et la fonctionnalisation des nanoparticules d'oxyde de fer selon la méthode '*grafting onto*' qui consiste à ancrer des polymères possédant un (ou des) groupement(s) apte(s) à former des interactions avec la surface de nanoparticules d'oxyde de fer nues. La synthèse des nanoparticules d'oxyde de fer a été effectuée par coprécipitation afin d'obtenir une grande quantité de matériau. La taille des nanoparticules nues est environ de 10-13 nm par microscopie électronique en transmission (TEM) et leur diamètre hydrodynamique moyen est de l'ordre de 22 ± 5 nm par diffusion dynamique à la lumière (DLS). Ces nanoparticules présentent une forme sphérique et sont constituées d'un mélange de magnétite et de maghémite. Les nanoparticules greffées par les POEs à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane ou oxanorbornène présentent une taille moyenne de 15 à 25 nm déterminée par TEM, un diamètre hydrodynamique de 20 à 80 nm par DLS et une polydispersité de 0,2 à 0,4. La densité de greffage des nanoparticules d'oxyde de fer fonctionnalisées par les POEs à extrémité acide phosphonique est d'environ de 0,12 - 0,3 chaîne/nm². Elles sont stables après 16 jours dans l'eau et jusqu'à 65°C, ainsi que dans un tampon phosphate (pH = 7,4) contenant de la sérum albumine bovine (BSA) pendant 24 h dans le cas du POE de masse \overline{M}_n de 5 000 g.mol⁻¹. De plus, la stabilisation des nanoparticules d'oxyde de fer greffées par ce POE n'est pas influencée par la concentration de BSA incubée dans un tampon phosphate sur 24 h. Le potentiel zêta des nanoparticules greffées par le POE de masse \overline{M}_n = 5 000 g.mol⁻¹ est proche de zéro à pH = 6,3 ; il est de -11 mV à -9 mV dans le cas du POE de \overline{M}_n = 2 000 g.mol⁻¹. Ces potentiels zêtas confirment que les POEs ainsi élaborés

peuvent masquer la charge positive des nanoparticules, conduisant à une adsorption limitée des protéines sur ces particules. Les tests de cytotoxicité ont montré que les nanoparticules d'oxyde de fer stabilisées par les POEs à extrémité acide phosphonique présentent une cytotoxicité compatible avec les applications biologiques. De même, les nanoparticules d'oxyde de fer, une fois greffées, ont conservé leurs propriétés de relaxivité autorisant leur utilisation en imagerie médicale. Enfin, l'aptitude de ces nanoparticules fonctionnalisées par des groupements furane à immobiliser des molécules à fonctionnalité maléimide a été mise en évidence par spectrophotométrie UV-visible et par microscopie de temps de vie de fluorescence (FLIM) à l'aide d'un colorant, le tétraméthylrhodamine-5-C2-maléimide. La possibilité de libérer ce colorant sous l'effet d'un stimulus thermique a été validée par la technique FLIM. Ce comportement ouvre des perspectives tout à fait intéressantes dans le domaine de la vectorisation de principes actifs et leur délivrance ciblée par hyperthermie.

L'ensemble de ces résultats démontre que la stratégie mise en œuvre conduit avec de très bons rendements à des ligands multifonctionnels efficaces pour la stabilisation et la (bio)fonctionnalisation de nanoparticules magnétiques d'oxyde de fer. Cette méthodologie est particulièrement intéressante car elle peut s'appliquer à tout polymère possédant un groupe azoture et potentiellement à toutes les fonctions susceptibles de participer à des réactions de chimie 'click', en particulier les groupements aptes aux réactions de cycloaddition qui présentent l'avantage d'être bio-orthogonales, c'est-à-dire qu'elles sont réalisables dans les milieux biologiques, y compris *in vivo*. Dans ce contexte et en perspective à ce travail, les réactions de cycloaddition dipolaire [3+2] récemment décrites dans la littérature, ne nécessitant pas de catalyse au cuivre – toxique pour les organismes – seraient particulièrement intéressantes à considérer. Il en va de même de la recherche des moyens permettant d'abaisser la température de la réaction de rétro-Diels-Alder afin d'accéder à des systèmes susceptibles de libérer la molécule d'intérêt à des températures compatibles avec les milieux biologiques. Les ligands multifonctionnels ainsi élaborés constitueraient alors des candidats idéaux pour des applications en nanomédecine, à la fois pour le diagnostic et la thérapeutique, domaine qu'il est convenu aujourd'hui d'appeler la « théranostique ».

PARTIE EXPERIMENTALE

PRODUITS UTILISÉS

Solvants

L'acétate d'éthyle (AcOEt, $T_{\text{éb}} = 77^{\circ}\text{C}$), le dichlorométhane (DCM, $T_{\text{éb}} = 40^{\circ}\text{C}$), l'éther diéthylique ($T_{\text{éb}} = 35^{\circ}\text{C}$), ont été purifiés par distillation puis stockés sous atmosphère d'azote. L'acétonitrile (ACN, 99,8%, Sigma-Aldrich), le *N,N*-diméthylformamide (DMF, $\geq 99,8\%$, Sigma-Aldrich), l'éthanol (EtOH, $T_{\text{éb}} = 78^{\circ}\text{C}$), Le *n*-hexane (95%, Fisher Scientific), le méthanol (MeOH, 99,8%, Sigma-Aldrich), le tétrachlorure de carbone (CCl_4 , 99%, Acros) et le tétrahydrofurane (THF, $\geq 99,9\%$, Sigma-Aldrich) sont des produits commerciaux utilisés sans purification préalable ainsi que les solvants deutérés : le méthanol deutéré (CD_3OD), le diméthylsulfoxyde deutéré (DMSO-d_6), le chloroforme deutéré (CDCl_3), le 1,1,2,2-tétrachloroéthane deutéré (TCE-d_2) et l'eau deutéré (D_2O) (Euriso-Top, 99,9%). L'eau ultra pure a été obtenue à partir d'un système Millipore Direct Q et a une conductivité de $18,2 \text{ M}\Omega$ à 25°C .

Produits et réactifs

L'acide chlorhydrique (37%, Aldrich), l'ammoniaque $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (28 - 30%; Janssen Chimica), L'azoture de sodium (NaN_3 , Acros, 99%), le benzaldéhyde ($\geq 98\%$, Acros), le bromure de cuivre (CuBr , 99,999%, Sigma-Aldrich), le bromure de triméthylsilyle (TMSBr , 98%, Acros), le 2-carboxaldéhyde furane, le 3-carboxaldéhyde furane, le 5-méthyl-2-carboxaldéhyde furane (99%, Aldrich), le chlorure ferreux tétrahydraté $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (98%, Acros), le chlorure ferrique hexahydraté $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (97%, Aldrich), le chlorure de méthanesulfonyle (99,5%, Acros), le chlorure de sodium (NaCl), la 4-(*N,N*-diméthylamino)pyridine (DMAP), le *N,N,N',N'',N'''*-pentaméthyl-diéthylène-triamine (PMDETA, 99%, Sigma-Aldrich), le poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 2 000 (Sigma-Aldrich), le poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 5 000 (Sigma-Aldrich), la *N*-propargylamine (99%, Acros), le *N*-méthylmaléimide (98%, Alfa Aesar), le tétraméthylrhodamine-5-C2 maléimide, la silice pour la colonne de chromatographie (Kieselgel 60, 230-400 mesh Merck), le sel de sodium de l'acide éthylène diamine tétracétique (EDTA , 2Na, 99%, Acros), le sulfate de magnésium anhydre (MgSO_4), le sulfate de sodium anhydre et le tamis moléculaire 4Å sont des produits commerciaux utilisés sans purification. L'hydrogénophosphonate de diéthyle ($T_{\text{éb}} = 50^{\circ}\text{C}$, $P = 0,2 \text{ mmHg}$), l'hydrogénophosphonate de diméthyle ($T_{\text{éb}} = 40^{\circ}\text{C}$, $P = 0,2 \text{ mmHg}$) et la triéthylamine (TEA, $\geq 99\%$, Sigma-Aldrich) ($T_{\text{éb}} = 86^{\circ}\text{C}$, $P = 1 \text{ mmHg}$) ont été distillés avant utilisation.

MÉTHODES D'ANALYSE

Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton ^1H (200 MHz ou 400 MHz), du carbone ^{13}C (50,3 MHz ou 100,62 MHz) et du phosphore ^{31}P (81,01 MHz ou 161,96 MHz) ont été enregistrés sur des appareils Bruker Avance 200 et DPX 400, utilisant le tétraméthylsilane (TMS) et l'acide phosphorique comme références internes pour les RMN ^1H , ^{13}C et ^{31}P , respectivement. Les déplacements chimiques (δ) sont indiqués en partie par million (ppm). Les constantes de couplage (J) sont exprimées en Hertz (Hz) et les multiplicités sont désignées par singulet (s), doublet (d), triplet (t), quadruplet (q) et multiplet (m).

Spectrométrie de masse Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight (MALDI-TOF MS)

Les analyses par spectrométrie de masse à temps de vol avec désorption-ionisation par laser assistée par matrice (MALDI-TOF-MS) ont été réalisées par le Dr. J.-C. Soutif et E. Mebold au SCAS, Université d'Angers sur un appareil Bruker Biflex III. Les matrices utilisées sont l'acide α -cyano-4-hydroxycinnamique (HCCA) ou le *trans*-2-3-(4-*tert*-butylphényl)-2-méthyl-2-propénylidène $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2$ (DCTB) et l'étalon interne est le trifluoroacétate de potassium (KTFA), le trifluoroacétate de sodium (NaTFA) ou l'iodure de sodium (NaI).

Chromatographie d'exclusion stérique (SEC)

Les analyses SEC ont été effectuées sur un appareil équipé d'un injecteur automatique SpectraSYSTEM AS1000, d'une pré-colonne (Polymer Laboratories, PL gel 5 μm Guard, 50x7,5 mm) et d'un détecteur RI (SpectraSYSTEM RI-150). Le THF est utilisé comme éluant avec un débit de 1 mL/min à 35°C. L'étalonnage est assuré par des standards polystyrène dont la gamme de masses molaires au pic s'étend de 580 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ à 483 000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)

Les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés dans la région 4000-500 cm^{-1} avec un spectromètre Nicolet Avatar 370 DTGS en mode transmission à l'aide de pastilles NaCl pour les liquides et en mode réflexion totale atténuée (ATR) pour les solides. Les transmissions reportées sont exprimées en nombre d'onde (cm^{-1}).

Spectrophotométrie ultraviolet-visible (UV-vis)

Les spectres UV-vis ont été enregistrés dans la région 400 nm - 700 nm avec un appareil UNICAM UV/ VIS UV. Les cellules sont en deux, avec un trajet optique de 1 cm.

Méthode Brunauer-Emmett-Teller (BET)

La surface spécifique des nanoparticules d'oxyde de fer a été mesurée sur un appareil Micromeritics Tristar 3000 par l'isotherme d'adsorption et de désorption de l'azote à 77 K en utilisant de la méthode BET. Les nanoparticules nues sont séchées *in-situ* à 150°C pendant 3 h avant mesure, puis le volume d'azote adsorbé est mesuré à température de l'azote liquide. L'isotherme d'adsorption de l'azote permet de déterminer la surface spécifique des nanoparticules d'oxyde de fer.

Spectrométrie de masse haute résolution (SM-HR)

Les analyses de spectrométrie de masse haute résolution ont été effectuées sur un spectromètre Waters-Micromass GCT premier.

Diffusion dynamique de la lumière (DLS)

Les analyses de la diffusion dynamique de la lumière ont été réalisées sur un appareil Malvern Instrument Zetasizer NaNo ZS avec un laser He-Ne opérant à $\lambda = 633$ nm. Le signal diffusé par l'échantillon est collecté puis amplifié par un photomultiplicateur relié à un corrélateur de photons ALV/LES-5003.

Analyse Thermogravimétrique (ATG)

Les analyses ont été effectuées sur un appareil Pyris 1. L'échantillon est placé dans un creuset en platine puis pesé à l'aide d'une microbalance. Les mesures d'ATG sont réalisées dans un domaine de température allant de l'ambiante à 700°C avec une vitesse de chauffe de 5°C/min sous un courant d'azote.

Diffraction du rayon X (XRD)

Les diffractogrammes de poudre ont été effectués sur un diffractomètre Philips PANanalytical Xpert X-ray à 40 mA et à 45 kV utilisant la radiation Cu-K α ($\alpha = 1,541$ Å).

Microscopie électronique en transmission (TEM)

Les mesures ont été réalisées sur un microscope électronique à transmission FEI tecnai G2 20 TEM, opérant à 200 kV. Les échantillons sont préparés en plaçant une goutte de solution de

nanoparticules de concentration $0,2 \text{ mg.mL}^{-1}$ sur une grille de cuivre recouverte d'une membrane de collodion.

Spectroscopie de photo émission X (XPS)

Les mesures ont été effectuées sur un appareil EscaLab 220-IXL de VG Scientifique. L'instrument est fixé sur une radiation monochromatique Al-K α à 1486,60 eV et une source de puissance de 120 W. Un diamètre de spot de 5 mm avec une transmission d'énergie de 100 eV est utilisé pour les spectres larges et une transmission d'énergie de 20 eV est utilisé pour les décompositions. Le balayage est effectué sur une gamme d'énergies de liaison de 1200 à 0 eV avec une vitesse de 1,0 eV et un temps d'arrêt de 100 ms. Le balayage haute résolution a été réalisé à une vitesse de 0,2 eV et un temps d'arrêt de 250 ms. Les données ont été analysées par le logiciel XPS Peak Fit version 4.1.

Microscopie de temps de vie de fluorescence (FLIM)

Les mesures ont été effectuées sur un appareil PicoQuant Microtime200. L'excitation a été réalisée *via* une fibre couplée, la diode laser pulsée fonctionnant à 470 nm avec une largeur d'impulsion inférieure à 200 ps. L'émission a été collectée en utilisant un filtre passe-haut (Un filtre passe-haut est un filtre qui laisse passer les hautes fréquences et qui atténue les basses fréquences, c'est-à-dire les fréquences inférieures à la fréquence de coupure). à 500 nm et des détecteurs du FLIM (SPAD : single-photon avalanche diode) connectés à la technique de Time Correlated Single Photon Counting (TCSPC) pour mesurer le déclin de durée de vie de fluorescence. Les données ont été analysées par le logiciel SymphoTime (Picoquant).

Tests de cytotoxicité

Les fibroblastes pulmonaires fœtaux humains (les cellules MRC-5) ont été cultivées dans le milieu de Eagle modifié par Dulbecco (DMEM) contenant un mélange nutritif F-12, supplémenté avec 10% de sérum de veau fœtal (FBS) dans un flacon de culture cellulaire T-75 avec un bouchon ventilé. Les cellules ont été incubées à 37°C en atmosphère humide contenant 5% de CO $_2$ pendant 2 - 3 jours jusqu'à ce qu'une monocouche se soit formée d'environ 80% de la confluence. La densité cellulaire a été déterminée par le test d'exclusion au bleu de trypan (Sigma Aldrich). Pour le repiquage, les cellules ont été détachées avec 0,05% de trypsine EDTA (Invitrogen), colorées par le colorant bleu de trypan et chargées sur un hémocytomètre.

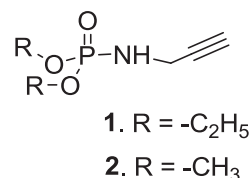
Mesure des relaxivités

Un Bruker Biospin, 9.4T BioSpec 94/20 USR couplé à un Transceiver RES ^1H 72mm Quad RF coil a été utilisé pour mesurer la pondération de T_2 . Une série d'échantillons (500 μL) avec une gamme de concentrations de 0,01 à 0,70 mM de Fe a été préparée dans l'eau et traitée aux ultrasons. Les mesures ont été effectuées à 20°C. Une image pondérée en T_2 a été acquise en utilisant une séquence Multi-coupes multi-écho (MPME) avec $T_R = 3000$ ms et 32 échos avec un espace de 10,686 ms entre chaque écho, une résolution spatiale (le champ FOV) de 5 x 5 cm, une taille de la matrice de 256 x 256, un temps de scrutation de 12 min, et une épaisseur de coupe de 1 mm.

Tests de stabilité

Les nanoparticules d'oxyde de fer ($0,1 \text{ g.L}^{-1}$) ont été suspendues dans un tampon phosphate (pH = 7,4) contenant du sérum albumine bovine (BSA, $0,1 \text{ g.L}^{-1}$). Les échantillons ont ensuite été mis sous agitation avec un agitateur orbitalaire pendant 24 h. Les nanoparticules d'oxyde de fer ont été éliminées par centrifugation. Le surnageant a été analysé par spectrophotométrie UV-vis selon la méthode Bradford pour déterminer la concentration de BSA.

SYNTHESE DE POLY(OXYDE D'ETHYLENE)S A EXTREMITÉ PHOSPHONATE PAR COMBINAISON DES REACTIONS D'ATHERTON-TODD ET DE CHIMIE 'CLICK'

***N*-di(m)éthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amines**

Dans un erlenmeyer de 100 mL contenant un barreau aimanté, sont introduits successivement : 0,05 mole de *N*-propargylamine, 0,06 mole de TEA, utilisée comme base, 10 mL de tétrachlorure de carbone et 25 mL de DCM. À ce mélange réactionnel, mis sous agitation magnétique à température ambiante (TA), est ajouté goutte-à-goutte une solution contenant 0,05 mole d'hydrogénophosphate de di(m)éthyle et 15 mL de tétrachlorure de carbone. La réaction est laissée sous agitation à TA pendant 24 h. Le *N*-di(m)éthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine est

isolé par dissolution du produit brut dans 50 mL de DCM, puis des lavages à l'eau (3x10 mL), le séchage de la phase organique sur sulfate de sodium anhydre, une filtration et l'évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif.

***N*-diéthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine (1)**. Le produit pur est obtenu après distillation ($T_{\text{éb}} = 92^{\circ}\text{C}$, $P = 0,65$ mmHg) sous forme d'une huile incolore. Rdt : 55 %.

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm) : 4,56 (s, 1H, NH-CH_2) ; 4,08 (m, $J = 4,25$ Hz, 4H, POCH_2CH_3) ; 3,68 (d, $J = 4,59$ Hz, 2H, NH-CH_2) ; 2,65 (q, $J = 4,96$ Hz, 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 1,33 (t, $J = 4,03$ Hz, 6H, CH_3).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100,62 MHz), δ (ppm) : 81,50 (d, $J = 5,29$ Hz, $\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 70,70 (s, $\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 61,91 (d, $J = 5,31$ Hz, POCH_2) ; 30,28 (s, NH-CH_2) ; 15,77 (d, $J = 7,37$ Hz, CH_3).

RMN ^{31}P (CDCl_3 , 161,96 MHz), δ (ppm) : 8,25.

FT-IR ($\nu \text{ cm}^{-1}$) : 3226 ($\nu_{\text{N-H}}$) ; 2994 et 2908 ($\nu_{\text{C-H}}$) ; 2115 ($\nu_{\text{C}\equiv\text{C}}$) ; 1635 ($\nu_{\text{N-H}}$) ; 1229 ($\nu_{\text{P=O}}$) ; 1166 ($\nu_{\text{P-O-C}}$) ; 1116, 1029 et 970 ($\nu_{\text{P-N-C}}$).

SM-HR [CI + H] : Calculée pour $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{NO}_3\text{P} + \text{H}^+$: 192,0790

Obtenue : 192,0790

***N*-diméthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine (2)**. Le produit pur est obtenu après recristallisation dans le mélange de solvants *n*-hexane : DCM (1:1) sous forme d'un solide jaune. Rdt : 22%, P_{F} : 65-68 $^{\circ}\text{C}$.

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm) : 3,73 (s, 6H, CH_3) ; 3,66 (d, $J = 4,35$ Hz ; 2H, NH-CH_2) ; 3,33 (s, 1H, NH) ; 2,29 (t, $J = 2,46$ Hz ; 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100,62 MHz), δ (ppm) : 81,27 (d, $J = 5,84$ Hz, $\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 71,20 (s, $\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 53,08 (d, $J_{\text{P-C}} = 5,29$ Hz, CH_3) ; 30,78 (s, NH-CH_2).

RMN ^{31}P (CDCl_3 , 161,96 MHz), δ (ppm) : 10,86.

FT-IR ($\nu \text{ cm}^{-1}$) : 3221 ($\nu_{\text{N-H}}$) ; 2955 et 2851 ($\nu_{\text{C-H}}$) ; 2110 ($\nu_{\text{C}\equiv\text{C}}$) ; 1220 ($\nu_{\text{P=O}}$) ; 1182 ($\nu_{\text{P-O-C}}$) ; 1103, 1033 et 990 ($\nu_{\text{P-N-C}}$).

SM-HR [CI + H] : Calculée pour $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{NO}_3\text{P} + \text{H}^+$: 164,0477

Obtenue : 164,0480

Azoture de poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther

Dans un ballon de 100 mL contenant un barreau aimanté sont introduits successivement : 2 mmoles de poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 2 000 ou 5 000, 0,12 g (1 mmole) de DMAP, 1,21 g (12 mmoles) de TEA fraîchement distillée et 30 mL de DCM. Le mélange réactionnel est mis sous agitation et refroidi à 0°C puis 1,37 g (12 mmoles) de chlorure de méthanesulfonyle sont ajoutés goutte-à-goutte *via* une ampoule à addition en 10 minutes. La réaction est laissée à TA pendant 24 h. En fin de réaction, on ajoute 100 mL de DCM, cette solution est lavée 3 fois avec HCl 0,5 N et 2 fois avec de l'eau salée. Cette phase organique est séchée sur sulfate de magnésium anhydre et précipitée dans l'éther diéthylique froid. Un solide blanc, le mésylate de poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther (POE-Ms), est obtenu avec un rendement de 96 %. Le POE-Ms (1,8 mmoles) et 2 g (18 mmoles) d'azoture de sodium sont ajoutés dans 20 mL de DMF. La réaction est laissée sous agitation pendant 24 h à TA. La solution est diluée dans 70 mL de DCM puis cette solution est lavée 2 fois avec de l'eau salée. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium anhydre, filtrée et le solvant est évaporé à l'évaporateur rotatif. La phase organique est précipitée dans l'éther diéthylique froid. Après filtration, le solide blanc cassé obtenu est mis à sécher sous vide à 40°C jusqu'à poids constant. Rdt : 78%.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm): 3,68 (OCH₂CH₂, 176H, s) ; 3,38 (3H, OCH₃, s).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100,62 MHz), δ (ppm) : 71,93 (CH₂-O-CH₃) ; 70,60 (CH₂-O-CH₂) ; 59,02 (OCH₃) ; 50,65 (CH₂-N₃).

FT-IR (ν cm⁻¹) : 2096 (ν_{N₃}) ; 2885 (ν_{CH₂}).

MALDI-TOF MS

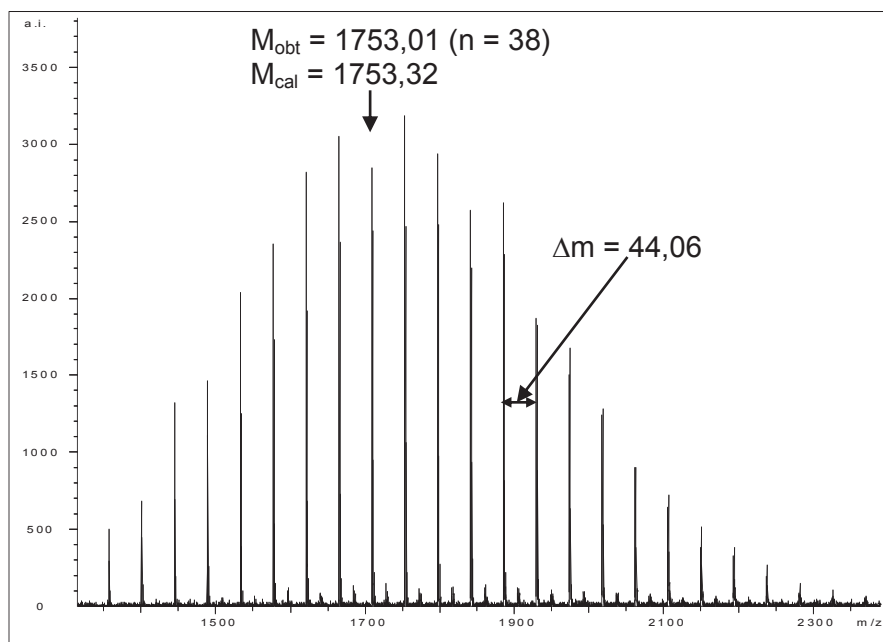
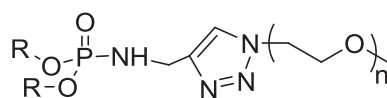


Figure PE-1. Spectre de masse MALDI-TOF de l'azoture de poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 2 000, matrice : *trans*-2-[3-(4-*tert*-butylphényl)-2-méthyl-2-propénylidène]malononitrile C₁₇H₁₈N₂ (DCTB).

Réaction de chimie 'click' entre l'azoture de poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther et la *N*-di(m)éthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine.



3. R = -C₂H₅

4. R = -CH₃

Dans un Schlenk A contenant un barreau aimanté sont introduits successivement 1 g (0,5 mmole) d'azoture de poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 2 000, 0,5 mmole de di(m)éthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine, 0,1 g (0,6 mmole) de PMDETA et 5 mL de DMF. La solution dans le Schlenk A est dégazée par plusieurs cycles congélation/décongélation. Dans un Schlenk B, est introduit 0,023 g (0,16 mmole) de CuBr puis plusieurs cycles vide/azote sont effectués. La solution du Schlenk A est transférée dans le Schlenk B *via* une canule. Le mélange est mis sous agitation magnétique pendant 24 h à TA. En fin de réaction, cette solution est diluée avec 50 mL de DCM puis le cuivre est éliminé par extraction avec une solution aqueuse

d'EDTA, 2Na (1 %). La phase organique est séchée sur sulfate de sodium anhydre, filtrée et le solvant est évaporé à l'évaporateur rotatif. Le liquide obtenu est précipité dans l'éther diéthylique froid. Après filtration, le solide jaune obtenu est mis à sécher sous vide à 40 °C jusqu'à poids constant.

Poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther à extrémité diéthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine (3). Rdt : 70 %.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 7,70 (s, 1H, triazole) ; 4,53 (t, *J* = 5,77 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 4,22 (d, *J* = 5,03 Hz, 2H, NH-CH₂) ; 4,06 (q, *J* = 4,86 Hz, 4H, P(O)OCH₂CH₃) ; 3,87 (t, *J* = 5,26 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 3,52-3,73 (m, 172H, CH₂-CH₂-O) ; 3,38 (s, 3H, O-CH₃) ; 2,16 (s, 1H, NH) ; 1,31 (t, *J* = 7,71 Hz, 6H, P(O)O-CH₂-CH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100,62 MHz), δ (ppm) : 146,83 (C=C-N_{triazole}) ; 122,75 (C=C-N_{triazole}) ; 71,56 (CH₂-O-CH₃) ; 70,39 (CH₂-O-CH₂) ; 69,25 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 61,96 (d, *J* = 5,6 Hz, P(O)OCH₂CH₃) ; 58,95 (CH₃-O) ; 50,35 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 36,72 (N-CH₂) ; 15,93 (d, *J* = 7,2 Hz, P(O)OCH₂CH₃).

RMN ³¹P (CDCl₃, 161,96 Hz), δ (ppm) : 8,31.

FT-IR (ν cm⁻¹) : 2882 (ν_{C-H}) ; 1466 (ν_{C=C triazole}) ; 1240 (ν_{P=O}) ; 1146 (ν_{P-O-C}) ; 1103 (ν_{P-N-C}).

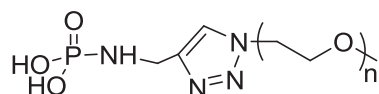
Poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther à extrémité diméthoxyphosphorylprop-2-yn-1-amine (4). Rdt : 72 %.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 7,70 (s, 1H, triazole) ; 4,53 (t, *J* = 5,33 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 4,22 (d, *J* = 4,82 Hz, 2H, NH-CH₂) ; 3,87 (t, *J* = 5,53 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 3,72 (s, 6H, P(O)O-CH₃) ; 3,60-3,68 (m, 172H, CH₂-CH₂-O) ; 3,38 (s, O-CH₃, 3H) ; 2,17 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100,62 MHz), δ (ppm) : 146,95 (C=C-N_{triazole}) ; 128,92 (C=C-N_{triazole}) ; 72,05 (CH₂-O-CH₃) ; 70,69 (CH₂-O-CH₂) ; 69,24 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 58,65 (CH₃-O) ; 53,15 (P(O)O-CH₃) ; 50,34 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 36,75 (N-CH₂).

RMN ³¹P (CDCl₃, 161,96 MHz), δ (ppm) : 10,86.

FT-IR (ν cm⁻¹) : 2882 (ν_{C-H}) ; 1466 (ν_{C=C triazole}) ; 1240 (ν_{P=O}) ; 1146 (ν_{P-O-C}) ; 1101 (ν_{P-N-C}).

Réactions de déalkylation

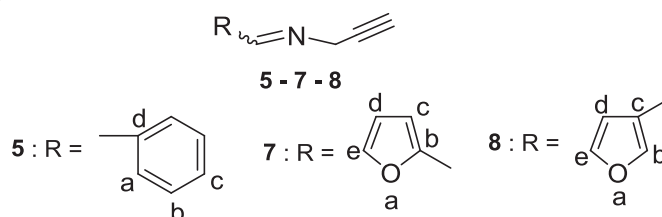
Procédure a - Dans un ballon de 100 mL contenant un barreau aimanté, sont introduits successivement 0,55 g (0,25 mmole) de **4** et 15 mL de DCM. Le mélange est mis sous atmosphère d'azote à 0°C, puis le bromure de triméthylsilyle (0,46 g, 1,35 mmole) est ajouté goutte à goutte. Le mélange est agité pendant 24 heures à TA. Le mélange réactionnel est ensuite ajouté goutte à goutte à 0,0432 g (1,35 mmole) de MeOH et l'agitation à TA est poursuivie pendant 24 heures. Après évaporation, une huile jaune est obtenue.

Procédure b - Dans un ballon de 100 mL contenant un barreau aimanté, sont introduits successivement 0,148 g (0,067 mmole) de **4** et 15 mL d'ACN. Le mélange est agité à 0°C puis on ajoute goutte à goutte 2 mmole (0,26 mL) de bromure de triméthylsilyle dans 10 mL d'ACN. Le mélange est ensuite mis sous agitation pendant 18 heures à TA. On ajoute ensuite 5 mL de MeOH. Le mélange est laissé pendant 2 heures à TA. Après évaporation, une huile jaune est obtenue.

Procédure c - Dans un ballon de 100 mL contenant un barreau aimanté, sont introduits successivement 0,22 g (0,1 mmole) de **4** et 15 mL de DCM. Le mélange est mis sous atmosphère d'azote à 0°C, puis on ajoute goutte à goutte 0,96 g (6,4 mmole) du bromure de triméthylsilyle. Le mélange est agité pendant 24 heures à TA. Au mélange réactionnel, est ensuite ajouté 50 mL d'EtOH et l'agitation à TA est poursuivie pendant 24 h. Le solvant est éliminé par évaporateur rotatif. On a obtenu une huile jaune.

SYNTHESE DE POLY(OXYDE D'ETHYLENE)S A EXTREMITE ACIDE PHOSPHONIQUE PAR COMBINAISON DES REACTIONS DE KABACHNIK-FIELDS ET DE CHIMIE 'CLICK'

Synthèses des imines



Dans un ballon de 100 mL contenant un barreau aimanté, sont mis successivement 0,05 mole de benzaldéhyde ou de 2(3)-carboxaldéhyde furane, 15 mL d'éther diéthylique et 1 g de tamis moléculaire 4Å. A ce mélange réactionnel, mis sous agitation magnétique à TA, est ajouté goutte-à-goutte une solution contenant 0,05 mole de *N*-propargylamine et 10 mL d'éther diéthylique. La réaction est laissée sous agitation à TA pendant 24 h.

***N*-benzylidèneprop-2-yn-1-amine (5).** Le produit pur est obtenu après distillation ($T_{\text{éb}} = 48\text{ }^{\circ}\text{C}$, $P = 0,18\text{ mmHg}$) sous forme d'une huile incolore. Rdt : 77 %.

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm) : 8,56 (t, $J = 1,84\text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}=\text{N}$) ; 7,75 (q, $J = 2,00\text{ Hz}$, 2H, H_a) ; 7,48-7,39 (q, $J = 2,20\text{ Hz}$, 3H, H_b & H_c) ; 4,50 (t, $J = 2,25\text{ Hz}$, 2H, CH_2) ; 2,52 (t, $J = 2,00\text{ Hz}$, 1H, $\equiv\text{CH}$).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100,62 MHz), δ (ppm) : 162,42 ($\text{CH}=\text{N}$) ; 135,88 (C_d) ; 131,15 (C_c) ; 128,67 (C_a) ; 128,34 (C_b) ; 79,09 ($\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 75,60 ($\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 47,20 ($\text{N}-\text{CH}_2$).

FT-IR ($\nu\text{ cm}^{-1}$) : 2112 ($\nu_{\text{C}\equiv\text{C}}$) ; 1644 ($\nu_{\text{CH}=\text{N}}$).

SM-HR [CI + H] : Calculée pour $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}+\text{H}^+$: 144,0813

Obtenue : 144,0818

***N*-(2-furanylidène) prop-2-yn-1-amine (7).** Le produit pur est obtenu après distillation ($T_{\text{éb}} = 45\text{ }^{\circ}\text{C}$, $P = 0,1\text{ mmHg}$) sous forme d'une huile jaune. Rdt : 79%.

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm) : 8,42 (t, $J = 3,89\text{ Hz}$, 1H, H_e) ; 7,32 (t, $J = 1,69\text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}=\text{N}$) ; 6,56 (d, $J = 3,62\text{ Hz}$, 1H, H_c) ; 6,28 (q, $J = 5,31\text{ Hz}$, 1H, H_d) ; 4,25 (t, $J = 4,45\text{ Hz}$, 2H, CH_2) ; 2,29 (t, $J = 4,88\text{ Hz}$, 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100,62 MHz), δ (ppm) : 151,62 ($\text{CH}=\text{N}$) ; 150,54 (C_b) ; 144,99 (C_e) ; 114,67 (C_c) ; 111,71 (C_d) ; 78,37 ($\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 76,45 ($\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 46,72 ($\text{N}-\text{CH}_2$).

FT-IR ($\nu \text{ cm}^{-1}$) : 2111 ($\nu_{\text{C}\equiv\text{C}}$) ; 1658 ($\nu_{\text{CH}=\text{N}}$).

SM-HR [CI + H] : Calculée pour $\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}+\text{H}^+$: 134,0606

Obtenue : 134,0605

N-(3-furanylidène) prop-2-yn-1-amine (8). Le produit pur est obtenu après distillation ($T_{\text{éb}} = 43 \text{ }^\circ\text{C}$, $P = 0,2 \text{ mmHg}$) sous forme d'une huile incolore. Rdt : 78%.

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm) : 8,50 (t, $J = 3,68 \text{ Hz}$, 1H, H_b) ; 7,75 (s, 1H, $\text{CH}=\text{N}$) ; 7,41 (q, $J = 3,43 \text{ Hz}$, 1H, H_e) ; 6,80 (q, $J = 1,97 \text{ Hz}$, 1H, H_d) ; 4,43 (t, $J = 4,63 \text{ Hz}$, 2H, CH_2) ; 2,52 (t, $J = 5,05 \text{ Hz}$, 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$).

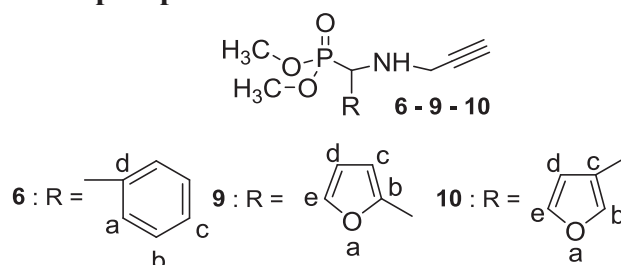
RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100,62 MHz), δ (ppm) : 153,99 ($\text{CH}=\text{N}$) ; 145,59 (C_e) ; 144,16 (C_b) ; 125,31 (C_c) ; 107,83 (C_d) ; 79,01 ($\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 75,79 ($\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 47,04 ($\text{N}-\text{CH}_2$).

FT-IR ($\nu \text{ cm}^{-1}$) : 2112 ($\nu_{\text{C}\equiv\text{C}}$) ; 1647 ($\nu_{\text{CH}=\text{N}}$).

SM-HR [CI + H] : Calculée pour $\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}+\text{H}^+$: 134,0606

Obtenue : 134,0609

Synthèse des aminophosphonates



Dans un ballon de 100 mL muni d'un réfrigérant contenant un barreau aimanté sont introduits successivement 7 mmoles d'imine et 7 mmoles de hydrogénophosphonate de diméthyle. La réaction est laissée sous agitation à $60 \text{ }^\circ\text{C}$ (à partir de **7** et **8**) ou à $80 \text{ }^\circ\text{C}$ (à partir de **5**) pendant 8 h.

Phényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (6). Le produit pur est obtenu après chromatographie sur gel de silice avec les solvants AcOEt : ACN (80 : 20) sous forme d'une huile jaune. Rdt : 85 %.

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm) : 7,48 (d, $J = 6,43 \text{ Hz}$, 2H, H_a) ; 7,39-7,26 (m, $J = 6,42 \text{ Hz}$, 3H, H_b & H_c) ; 4,39 (q, $J = 4,09 \text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}-\text{NH}$) ; 3,65 (m, $J = 6,64 \text{ Hz}$, 6H, CH_3) ; 3,31 (m, $J = 3,09 \text{ Hz}$, 2H, CH_2) ; 2,29 (s, NH) ; 2,24 (q, $J = 2,01 \text{ Hz}$, 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100,62 MHz), δ (ppm) : 133,78 (d, $J = 6,25$ Hz, C_d) ; 128,37 (d, $J = 6,03$ Hz, C_c) ; 128,17 (d, $J = 2,59$ Hz, C_a) ; 127,83 (d, $J = 3,15$ Hz, C_b) ; 80,28 ($\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 71,93 ($\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 58,23 (d, $J = 5,63$ Hz, CH_3) ; 53,61 (t, $J = 4,51$ Hz, CHP) ; 35,87 (d, $J = 19,14$ Hz, N-CH_2).

RMN ^{31}P (CDCl_3 , 161,96 MHz), δ (ppm) : 25,06.

FT-IR ($\nu \text{ cm}^{-1}$) : 3431 ($\nu_{\text{N-H}}$) ; 2126 ($\nu_{\text{C}\equiv\text{C}}$) ; 1248 ($\nu_{\text{P=O}}$) ; 1146 ($\nu_{\text{P-O-C}}$).

SM-HR [CI + H] : Calculée pour $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NO}_3\text{P}+\text{H}^+$: 255,0946

Obtenue : 255,0817

2-Furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (9). Le produit pur est obtenu après chromatographie sur gel de silice avec les solvants AcOEt : ACN (80 : 20) sous forme d'une huile jaune. Rdt : 90 %.

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm) : 7,43 (d, $J = 16,04$ Hz, H_e) ; 6,48-6,27 (t, $J = 17,58$ Hz, 2H, H_c & H_d) ; 4,43 (d, $J = 18,93$ Hz, CH-NH) ; 3,72 (m, $J = 10,82$ Hz, 6H, CH_3) ; 3,36 (m, $J = 18,45$ Hz, 2H, CH_2) ; 2,38 (s, NH) ; 2,27 (d, $J = 7,26$ Hz, $\text{C}\equiv\text{CH}$).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100,62 MHz), δ (ppm) : 148,15 (C_b) ; 148,82 (C_e) ; 110,59 (C_c) ; 109,95 (C_d) ; 80,46 ($\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 72,46 ($\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 53,65 (CHP) ; 53,24 (d, $J = 6,24$ Hz, CH_3) ; 36,15 (N-CH_2).

RMN ^{31}P (CDCl_3 , 161,96 MHz), δ (ppm) : 22,86.

FT-IR ($\nu \text{ cm}^{-1}$) : 3426 ($\nu_{\text{N-H}}$) ; 2126 ($\nu_{\text{C}\equiv\text{C}}$) ; 1247 ($\nu_{\text{P=O}}$) ; 1146 ($\nu_{\text{P-O-C}}$).

SM-HR [CI + H] : Calculée pour $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{NO}_4\text{P}+\text{H}^+$: 244,0660

Obtenue : 244,0663

3-Furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (10). Le produit pur est obtenu après chromatographie sur gel de silice avec les solvants AcOEt : ACN (80 : 20) sous forme d'une huile jaune. Rdt : 87 %.

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm) : 7,46 (m, $J = 3,86$ Hz, 1H, H_b) ; 7,43 (m, $J = 3,78$ Hz, 1H, H_e) ; 6,52 (t, $J = 3,42$ Hz, 1H, H_d) ; 4,36 (d, $J = 17,08$ Hz, CH-NH) ; 3,75 (m, $J = 5,34$ Hz, 6H, CH_3) ; 3,39 (m, $J = 4,63$ Hz, 2H, CH_2) ; 2,29 (t, $J = 3,93$ Hz, $\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 2,18 (s, NH).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100,62 MHz), δ (ppm) : 143,44 (C_e) ; 141,83 (C_b) ; 118,63 (C_c) ; 110,28 (C_d) ; 80,67 ($\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 72,48 ($\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 53,52 (CHP) ; 49,55 (d, $J = 8,12$ Hz, CH_3) ; 35,70 (N-CH_2).

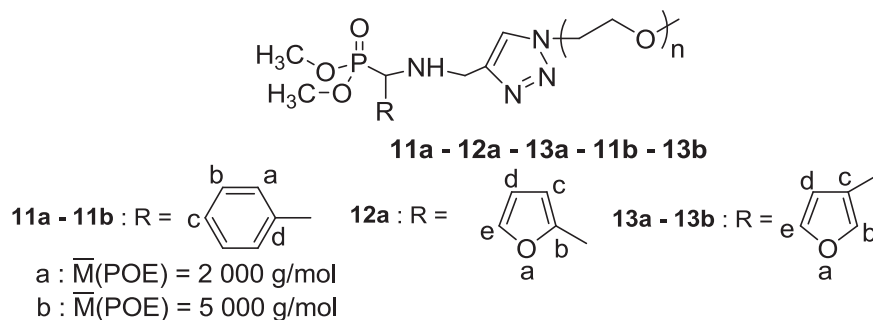
RMN ^{31}P (CDCl_3 , 161,96 MHz), δ (ppm) : 25,34.

FT-IR ($\nu \text{ cm}^{-1}$) : 3302 ($\nu_{\text{N-H}}$) ; 2116 ($\nu_{\text{C}\equiv\text{C}}$) ; 1245 ($\nu_{\text{P=O}}$) ; 1140 ($\nu_{\text{P-O-C}}$).

SM-HR [CI + H] : Calculée pour $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{NO}_4\text{P}+\text{H}^+$: 244,0660

Obtenue : 244,0670

Réaction de chimie ‘click’ entre l’azoture de poly(oxyde d’éthylène) monométhyl éther et le phényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle ou les 2(3)-furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle.



Dans un Schlenk A contenant un barreau aimanté sont introduits successivement 0,5 mmole d’azoture de poly(oxyde d’éthylène) monométhyl éther 2 000 ou 5 000, 0,5 mmole de phényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle ou de 2(3)-furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle, 0,1 g (0,6 mmole) de PMDETA et 5 mL de DMF. La solution dans le Schlenk A est dégazée par plusieurs cycles congélation/décongélation. Dans un Schlenk B, est introduit 0,023 g (0,16 mmole) de CuBr puis plusieurs cycles vide/azote sont effectués. La solution du Schlenk A est transférée dans le Schlenk B *via* une canule. Le mélange est mis sous agitation magnétique pendant 24 h à TA. En fin de réaction, cette solution est diluée avec 50 mL de DCM puis le cuivre est éliminé par extraction avec une solution aqueuse d’EDTA, 2Na (1 %). La phase organique est séchée sur sulfate de sodium anhydre, filtrée, et le solvant est évaporé à l’évaporateur rotatif. Le liquide obtenu est précipité dans l’éther diéthylique froid. Après filtration, le solide jaune obtenu est mis à sécher sous vide à 40 °C jusqu’à poids constant.

Poly(oxyde d’éthylène) monométhyl éther 2 000 à extrémité phényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (11a). Rdt : 70 %.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 7,51 (s, 1H, triazole) ; 7,46 (d, $J = 7,01$ Hz, 2H, H_a) ; 7,38 (m, $J = 4,62$ Hz, 1H, H_c) ; 7,26 (m, $J = 4,66$ Hz, 2H, H_b) ; 4,52 (t, $J = 3,89$ Hz, 2H, $N_{\text{triazole}}\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$) ; 4,39 (m, $J = 2,89$ Hz, 1H, CHP) ; 4,22 (d, $J = 5,60$ Hz, 2H, $NH\text{-CH}_2$) ; 3,86 (t, $J = 4,86$ Hz, 2H, $N_{\text{triazole}}\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$) ; 3,80 (s, 6H, $P(O)O\text{-CH}_3$) ; 3,74-3,65 (m, 172H, $CH_2\text{-CH}_2\text{-O}$) ; 3,38 (s, 3H, $O\text{-CH}_3$) ; 2,08 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100,62 MHz), δ (ppm) : 145,73 ($C=C\text{-N}_{\text{triazole}}$) ; 134,86 (C_d) ; 128,94 (C_c) ; 128,12 (C_a) ; 127,98 (C_b) ; 123,08 ($C=C\text{-N}_{\text{triazole}}$) ; 71,95 ($CH_2\text{-O-CH}_3$) ; 70,95 ($CH_2\text{-O-CH}_2$) ;

69,55 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 60,36 (CHP) ; 59,04 (O-CH₃) ; 53,58 (P(O)O-CH₃) ; 50,21 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 42,53 (N-CH₂).

RMN ³¹P (CDCl₃, 161,96 MHz), δ (ppm) : 25,52.

FT-IR (ν cm⁻¹) : 3436 (ν_{N-H}) ; 2883 (ν_{C-H}) ; 1466 (ν_{C=C triazole}) ; 1242 (ν_{P=O}) ; 1148 (ν_{P-O-C}).

Poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 2 000 à extrémité 2-furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (12a). Rdt : 76 %.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 7,62 (d, *J* = 6,66 Hz, 1H, triazole) ; 7,44 (d, *J* = 6,36 Hz, 1H, *H_e*) ; 6,43 (m, 1H, *H_c*) ; 6,38 (m, 1H, *H_d*) ; 4,50 (t, *J* = 2,39 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 4,25 (d, *J* = 8,86 Hz, 1H, CHP) ; 4,20 (d, *J* = 8,68 Hz, 1H, CHP) ; 3,94 (q, *J* = 7,89 Hz, 2H, NH-CH₂) ; 3,85 (m, *J* = 3,16 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 3,78 (s, 6H, P(O)O-CH₃) ; 3,72-3,51 (m, 172H, CH₂-CH₂-O) ; 3,37 (s, 3H, O-CH₃) ; 2,25 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100,62 MHz), δ (ppm) : 148,94 (*C_b*) ; 145,64 (C=C-N_{triazole}) ; 142,83 (*C_e*) ; 123,16 (C=C-N_{triazole}) ; 110,73 (*C_c*) ; 119,81 (*C_d*) ; 71,94 (CH₂-O-CH₃) ; 70,56 (-CH₂-O-CH₂) ; 69,52 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 59,02 (CHP) ; 53,98 (P(O)O-CH₃) ; 51,45 (CH₃-O) ; 50,21 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 42,63 (N-CH₂).

RMN ³¹P (CDCl₃, 161,96 MHz), δ (ppm) : 23,04.

FT-IR (ν cm⁻¹) : 3426 (ν_{N-H}) ; 2126 (ν_{C≡C}) ; 1247 (ν_{P=O}) ; 1146 (ν_{P-O-C}).

Poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 2 000 à extrémité 3-furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (13a). Rdt : 70 %.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 7,61 (s, 1H, triazole) ; 7,51 (d, *J* = 4,39 Hz, 1H, *H_b*) ; 7,44 (s, 1H, *H_e*) ; 6,55 (s, 1H, *H_d*) ; 4,52 (t, *J* = 5,18 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 4,12 (s, 1H, CHP) ; 4,08 (s, 1H, CHP) ; 3,86 (t, *J* = 5,42 Hz, 2H, NH-CH₂) ; 3,81 (t, *J* = 5,86 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 3,74 (s, 6H, P(O)O-CH₃) ; 3,72-3,52 (m, 172H, CH₂-CH₂-O) ; 3,38 (s, 3H, O-CH₃) ; 2,31 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100,62 MHz), δ (ppm) : 145,66 (C=C-N_{triazole}) ; 143,53 (*C_e*) ; 141,71 (*C_b*) ; 123,11 (C=C-N_{triazole}) ; 119,65 (*C_c*) ; 110,21 (*C_d*) ; 71,94 (CH₂-O-CH₃) ; 70,56 (-CH₂-O) ; 69,53 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 59,00 (CHP) ; 53,60 (P(O)O-CH₃) ; 51,45 (CH₃-O) ; 50,21 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 42,33 (N-CH₂).

RMN ³¹P (CDCl₃, 161,96 MHz), δ (ppm) : 25,40.

FT-IR (ν cm⁻¹) : 3466 (ν_{N-H}) ; 2882 (ν_{C-H}) ; 1467 (ν_{C=C triazole}) ; 1242 (ν_{P=O}) ; 1148 (ν_{P-O-C}).

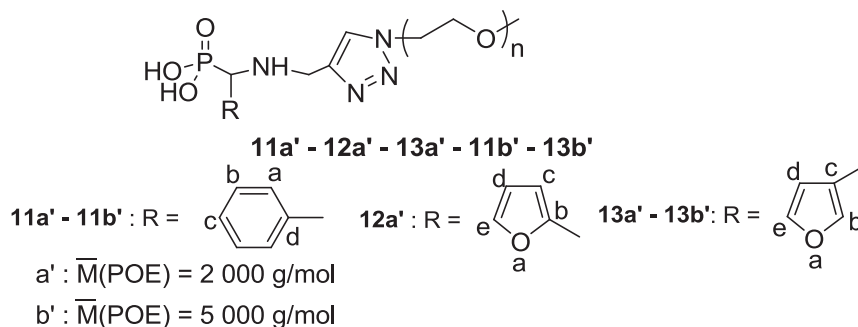
Poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 5 000 à extrémité phényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (11b). Rdt : 75 %.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 7,58 (s, 1H, triazole) ; 7,45 (s, 1H, *H_a*) ; 7,40 - 7,33 (m, 3H, *H_c* & *H_b*) ; 4,52 (t, *J* = 5,07 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 4,14 (m, 1H, CHP) ; 3,86 (t, *J* = 4,86 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 3,82-3,49 (m, 172H, CH₂-CH₂-O) ; 3,46 (t, *J* = 4,86 Hz, 2H, NH-CH₂) ; 3,38 (s, 3H, O-CH₃) ; 2,50 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100,62 MHz), δ (ppm) : 145,69 (C=C-N_{triazole}) ; 135,10 (*C_d*) ; 128,12 (*C_c*) ; 128,12 (*C_a*) ; 125,46 (*C_b*) ; 123,04 (C=C-N_{triazole}) ; 71,92 (CH₂-O-CH₃) ; 70,55 (CH₂-O-CH₂) ; 69,50 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 60,31 (CHP) ; 59,01 (O-CH₃) ; 53,64 (P(O)O-CH₃) ; 45,56 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 42,49 (N-CH₂).

RMN ³¹P (CDCl₃, 161,96 MHz), δ (ppm) : 25,47.

Déalkylations



Dans un ballon de 100 mL contenant un barreau aimanté sont introduits successivement 0,05 mmole du poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 2 000 ou 5 000 à extrémité phényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle ou à extrémité 2(3)-furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle et 5 mL de DCM. La solution est mise sous atmosphère d'azote. À ce mélange réactionnel, mis sous agitation magnétique à 0°C, est ajouté goutte-à-goutte une solution contenant 0,48 g (3,2 mmoles) du bromure de triméthylsilyle et 5 mL de DCM. Puis le mélange est agité pendant 24 heures à TA. Le solvant est éliminé par évaporation à l'évaporateur rotatif. Au mélange réactionnel, est ensuite ajouté 50 mL d'EtOH et l'agitation à TA est poursuivie pendant 24 h. Le solvant est éliminé par évaporation à l'évaporateur rotatif.

Poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 2 000 à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité phényle (11a'). Le produit pur est obtenu sous forme d'un solide jaune. Rdt : 68 %.

RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz), δ (ppm) : 8,12 (s, 1H, triazole) ; 7,52 (t, *J* = 8,5 Hz, 1H, *H_a*) ; 7,47-7,39 (m, 3H, *H_c*-*H_b*) ; 4,62 (t, *J* = 4,82 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 4,40 (s, 1H, CHP) ; 3,90 (d, *J* = 5,08 Hz, 2H, NH-CH₂) ; 3,80-3,48 (m, 172H, CH₂-CH₂-O) ; 3,45 (t, *J* = 4,68 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 3,35 (s, 3H, O-CH₃) ; 2,88 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (CD₃OD, 100,62 MHz), δ (ppm) : 142,35 (C=C-N_{triazole}) ; 134,46 (*C_d*) ; 132,54 (*C_c*) ; 131,87 (*C_a*) ; 130,39 (*C_b*) ; 127,86 (C=C-N_{triazole}) ; 72,96 (CH₂-O-CH₃) ; 71,56 (CH₂-O-CH₂) ; 70,16 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 62,43 (CHP) ; 58,86 (O-CH₃) ; 44,73 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 41,96 (N-CH₂).

RMN ³¹P (CD₃OD, 161,96 MHz), δ (ppm) : 13,29.

Poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 2 000 à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité 2-furane (12a'). Le produit pur est obtenu sous forme d'un solide marron. Rdt : 69 %.

RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz), δ (ppm) : 8,18 (s, 1H, triazole) ; 7,72 (s, 1H, *H_e*) ; 6,83 (t, *J* = 2,83 Hz, 1H, *H_c*) ; 6,58 (q, *J* = 2,21 Hz, 1H, *H_d*) ; 4,63 (t, *J* = 5,11 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 4,37 (q, *J* = 15,78 Hz, 1H, CHP) ; 3,90 (t, *J* = 5,08 Hz, 2H, NH-CH₂) ; 3,81 (d, *J* = 6,90 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 3,75-3,40 (m, 172H, CH₂-CH₂-O) ; 3,35 (s, 3H, O-CH₃) ; 2,88 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (CD₃OD, 100,62 MHz), δ (ppm) : 146,26 (*C_b*) ; 144,33 (C=C-N_{triazole}) ; 138,68 (*C_e*) ; 127,91 (C=C-N_{triazole}) ; 115,22 (*C_c*) ; 112,49 (*C_d*) ; 73,67 (CH₂-O-CH₃) ; 71,45 (-CH₂-O-CH₂) ; 70,25 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 59,12 (CHP) ; 58,29 (CH₃-O) ; 50,01 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 42,25 (N-CH₂).

RMN ³¹P (CD₃OD, 161,96 MHz), δ (ppm) : 10,68.

FT-IR (ν cm⁻¹): 3423 (ν_{OH}) ; 2881 (ν_{C-H}) ; 1468 (ν_{C=C triazole}) ; 1251 (ν_{P=O}).

Poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 2 000 à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité 3-furane (13a'). Le produit pur est obtenu sous forme d'un solide marron. Rdt : 78 %.

RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz), δ (ppm) : 8,19 (s, 1H, triazole) ; 7,88 (s, 1H, *H_b*) ; 7,68 (s, 1H, *H_e*) ; 6,76 (s, 1H, *H_d*) ; 4,63 (t, *J* = 5,61 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 4,38 (q, *J* = 14,42 Hz, 1H, CHP) ; 3,91

(t, $J = 5,61$ Hz, 2H, NH-CH₂) ; 3,80 (t, $J = 4,81$ Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 3,73-3,43 (m, 172H, CH₂-CH₂-O) ; 3,35 (s, 3H, O-CH₃) ; 2,89 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (CD₃OD, 100,62 MHz), δ (ppm) : 145,85 (C=C-N_{triazole}) ; 141,28 (C_e) ; 138,54 (C_b) ; 127,99 (C=C-N_{triazole}) ; 115,37 (C_c) ; 111,67 (C_d) ; 73,01 (CH₂-O-CH₃) ; 71,46 (-CH₂-O) ; 70,20 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 59,14 (CHP) ; 58,35 (CH₃-O) ; 51,63 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 41,56 (N-CH₂).

RMN ³¹P (CD₃OD, 161,96 MHz), δ (ppm) : 13,20.

FT-IR (v cm⁻¹): 3456(v_{OH}) ; 2880 (v_{C-H}) ; 1464 (v_{C=C triazole}) ; 1256 (v_{P=O}).

Poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 5 000 à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité phényle (11b'). Le produit pur est obtenu sous forme d'un solide jaune. Rdt : 90 %.

RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz), δ (ppm) : 8,15 (s, 1H, triazole) ; 7,60 (s, 1H, H_a) ; 7,54-7,47 (m, 3H, H_c-H_b) ; 4,57 (t, $J = 5,1$ Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 4,39 (s, 1H, CHP) ; 3,82 (d, $J = 5,60$ Hz, 2H, NH-CH₂) ; 3,69 (t, $J = 4,86$ Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 3,62-3,46 (m, 172H, CH₂-CH₂-O) ; 3,24 (s, 3H, O-CH₃) ; 2,94 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (CD₃OD, 100,62 MHz), δ (ppm) : 142,02 (C=C-N_{triazole}) ; 137,76 (C_d) ; 129,75 (C_c) ; 129,04 (C_a) ; 128,77 (C_b) ; 126,56 (C=C-N_{triazole}) ; 71,47 (CH₂-O-CH₃) ; 69,82 (CH₂-O-CH₂) ; 68,89 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 60,39 (CHP) ; 58,23 (O-CH₃) ; 56,20 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 49,76 (N-CH₂).

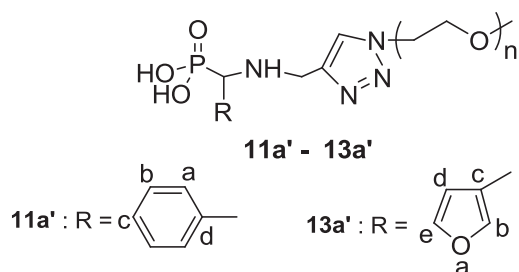
RMN ³¹P (CD₃OD, 161,96 MHz), δ (ppm) : 11,22.

FT-IR (v cm⁻¹): 3346 (v_{OH}) ; 2884 (v_{C-H}) ; 1466 (v_{C=C triazole}) ; 1240 (v_{P=O}).

Poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 5 000 à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité 3-furane (13b'). Le produit pur est obtenu sous forme d'un solide marron. Rdt : 80 %.

RMN ³¹P (CD₃OD, 161,96 MHz), δ (ppm) : 8,77.

Réaction d'hydrolyse



Dans un ballon 50 mL a été introduit 0,05 mmole de **11a** ou de **13a** avec 5 mL de solution d'HCl à 20% en masse. Le mélange réactionnel a été mis à reflux pendant 6 h. Le produit pur obtenu, après évaporation à l'évaporateur rotatif, est sous forme d'un solide jaune.

Poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 2 000 à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité phényle (11a'). Le produit pur est obtenu sous forme d'un solide jaune. Rdt : 68 %.

RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz), δ (ppm) : 8,13 (s, 1H, triazole) ; 7,60 (t, *J* = 8,5 Hz, 1H, *H_a*) ; 7,56-7,47 (m, 2H, *H_c*-*H_b*) ; 4,63 (t, *J* = 4,96 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 4,38 (s, 1H, *CHP*) ; 3,90 (d, *J* = 5,21 Hz, 2H, NH-CH₂) ; 3,81 (t, *J* = 5,61 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 3,70-3,52 (m, 172H, CH₂-CH₂-O) ; 3,36 (s, 3H, O-CH₃) ; 2,21 (s, 1H, *NH*).

RMN ¹³C (CD₃OD, 100,62 MHz), δ (ppm) : 141,25 (C=C-N_{triazole}) ; 131,71 (*C_d*) ; 130,83 (*C_c*) ; 130,32 (*C_a*) ; 129,57 (*C_b*) ; 125,57 (C=C-N_{triazole}) ; 80,43 (CH₂-O-CH₃) ; 73,65 (CH₂-O-CH₂) ; 67,62 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 58,32 (*CHP*) ; 58,12 (O-CH₃) ; 54,67 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 47,07 (N-CH₂).

RMN ³¹P (CD₃OD, 161,96 MHz), δ (ppm) : 13,29.

FT-IR (v cm⁻¹) : 3346 (ν_{OH}) ; 2884 (ν_{C-H}) ; 1466 (ν_{C=C triazole}) ; 1240 (ν_{P=O}).

Poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther 2 000 à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité 3-furane (13a'). Le produit pur est obtenu sous forme d'un solide marron. Rdt : 84 %.

RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz), δ (ppm) : 8,20 (s, 1H, triazole) ; 7,84 (s, 1H, *H_b*) ; 7,69 (s, 1H, *H_e*) ; 6,78 (s, 1H, *H_d*) ; 4,59 (t, *J* = 5,61 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 4,39 (q, *J* = 14,42 Hz, 1H, *CHP*) ; 3,89 (t, *J* = 5,61 Hz, 2H, NH-CH₂) ; 3,78 (t, *J* = 4,81 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 3,74-3,42 (m, 172H, CH₂-CH₂-O) ; 3,38 (s, 3H, O-CH₃) ; 2,86 (s, 1H, *NH*).

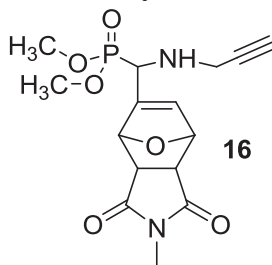
RMN ^{13}C (CD_3OD , 100,62 MHz), δ (ppm) : 145,76 ($\text{C}=\text{C}-\text{N}_{\text{triazole}}$) ; 141,30 (C_e) ; 138,56 (C_b) ; 127,87 ($\text{C}=\text{C}-\text{N}_{\text{triazole}}$) ; 115,42 (C_c) ; 111,67 (C_d) ; 73,12 ($\text{CH}_2\text{-O-CH}_3$) ; 71,40 ($-\text{CH}_2\text{-O}$) ; 70,18 ($\text{N}_{\text{triazole}}-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$) ; 59,23 (CHP) ; 58,35 ($\text{CH}_3\text{-O}$) ; 51,59 ($\text{N}_{\text{triazole}}-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$) ; 41,53 (N-CH_2).

RMN ^{31}P (CD_3OD , 161,96 MHz), δ (ppm) : 13,07.

FT-IR (v cm^{-1}): 3448(v_{OH}) ; 2881 ($\text{v}_{\text{C-H}}$) ; 1466 ($\text{v}_{\text{C}=\text{C}}$ triazole) ; 1256 ($\text{v}_{\text{P=O}}$).

SYNTHESE DE POLY(OXYDE D'ETHYLENE)S A EXTREMITE ACIDE PHOSPHONIQUE ET A FONCTIONNALITE OXANORBORNENYLE PAR REACTION DE DIELS-ALDER

Réaction de Diels-Alder entre 10 et le *N*-méthylmaléimide



Dans un ballon de 50 mL contenant un barreau aimanté sont introduits successivement 1 mmole du 3-furanyl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle, 1 mmol du *N*-méthylmaléimide et 1 mL de CDCl_3 . Puis le mélange est agité à 40°C en effectuant un suivi cinétique par spectroscopie RMN ^1H jusqu'à 5 jours.

3-oxanorbornényl(prop-2-ynylamino)méthylphosphonate de diméthyle (16)

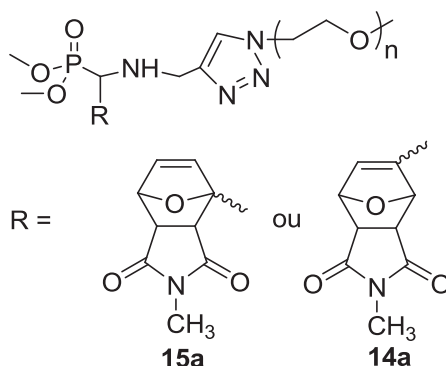
RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz), δ (ppm) : 6,38 (s, 1H, $\text{CH}=\text{C}$) ; 5,09 (t, $J = 7,94$ Hz, 2H, CH-O) ; 4,08 (d, $J = 17,10$ Hz, 1H, CH-NH) ; 3,72 (m, $J = 6,27$ Hz, 6H, O-CH_3) ; 3,41 (m, $J = 17,10$ Hz, 2H, CH_2) ; 3,08 (m, 2H, $\text{CHC}=\text{O}$) ; 2,84 (s, 3H, H_3CN) ; 2,26 (s, 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 1,98 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100,62 MHz), δ (ppm) : 176,30 ($\text{C}=\text{O}$) ; 145,51 ($\text{C}=\text{CH}$) ; 129,14 ($\text{C}=\text{CH}$) ; 82,68 (CH-O) ; 81,63 (CH-O) ; 80,62 ($\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 73,06 ($\text{C}\equiv\text{CH}$) ; 54,07 (CHP) ; 53,24 (CH_3) ; 51,63 ($\text{CHC}=\text{O}$) ; 35,90 (N-CH_2) ; 24,92 (CH_3N).

RMN ^{31}P (CDCl_3 , 161,96 MHz), δ (ppm) : 22,95 ; 23,10 ; 23,23 ; 23,98.

FT-IR (v cm^{-1}) : 3312 ($\text{v}_{\text{N-H}}$) ; 2955 ($\text{v}_{\text{C-H}}$) ; 2101 ($\text{v}_{\text{C}\equiv\text{C}}$) ; 1770 ($\text{v}_{\text{C-N-C}}$) ; 1691 ($\text{v}_{\text{C}=\text{O}}$) ; 1240 ($\text{v}_{\text{P=O}}$) ; 1147 ($\text{v}_{\text{P-O-C}}$).

Réaction de Diels-Alder entre **12a** ou **13a** et le *N*-méthylmaléimide



Dans un ballon de 50 mL contenant un barreau aimanté sont introduits successivement 0,2 g (0,09 mmole) de **12a** ou de **13a**, le *N*-méthylmaléimide (0,09 mmole, 0,45 mmole, 1,8 mmoles) et 5 mL de solvant (DMF, CDCl_3 , H_2O , CHCl_3 ou DMSO-d_6). En fin de réaction, le solvant est éliminé par évaporation à l'évaporateur rotatif. Le produit pur obtenu après précipitation dans l'éther diéthylique froid sous forme d'une poudre jaune.

Les conditions réactionnelles testées sont répertoriées dans le Tableau PE-1.

Tableau PE-1. Conditions opératoires utilisées pour déterminer l'influence de la substitution du furane

Solvant	[<i>N</i> -méthylmaléimide]/ [Polymère]	Température	Durée de réaction
CDCl_3	1	40°C	5 j
CDCl_3	5	40°C	5 j
CDCl_3	20	40°C	5 j
DMF	20	TA ou 40°C	5 j
CHCl_3	20	TA ou 40°C	1 j à 15 j
H_2O	20	TA ou 40°C	3h à 15 j
D_2O	20	77°C	5 j
DMSO-d_6	20	40°C	1 j à 30 j

Poly(oxyde d'éthylène) monométhyl éther à extrémité phosphonate de diméthyle et à fonctionnalité oxanorbornène (14a).

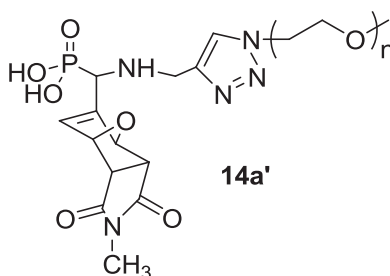
RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 7,66 (s, 1H, triazole) ; 6,46 (d, *J* = 6,17 Hz, 1H, CH=C) ; 5,23 (m, 2H, CH-O) ; 4,53 (t, *J* = 4,18 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 4,04 (m, 1H, CHP) ; 3,95 (t, *J* = 5,64 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 3,86 (m, 6H, P(O)O-CH₃) ; 3,78-3,52 (m, 172H, CH₂-CH₂-O) ; 3,46 (t, *J* = 4,87 Hz, 2H, NH-CH₂) ; 3,38 (s, 3H, O-CH₃) ; 3,26 (d, *J* = 6,95 Hz, 1H, CHC=O) ; 3,22 (d, *J* = 5,95 Hz, 1H, CHC=O) ; 2,97 (s, 3H, CH₃-N) ; 2,52 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100,62 MHz), δ (ppm) : 176,37 (C=O) ; 146,80 (C=CH) ; 145,13 (C=C-N_{triazole}) ; 133,57 (CH-O) ; 133,45 (CH-O) ; 123,18 (C=C-N_{triazole}) ; 122,89 (CH=C) ; 81,65 (CH₃-N) ; 71,90 (CH₂-O-CH₃) ; 70,53 (-CH₂-O) ; 69,41 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 58,99 (CH₃-O) ; 53,44 (P(O)O-CH₃) ; 52,56 (CHP) ; 50,23 (N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 48,51 (CHC=O) ; 42,88 (N-CH₂).

RMN ³¹P (CDCl₃, 161,96 MHz), δ (ppm) : 23,19 ; 23,35 ; 24,38 ; 24,43.

FT-IR (ν cm⁻¹): 2892 (ν_{C-H}) ; 1700 (ν_{C=O}) ; 1468 (ν_{C=C triazole}) ; 1241 (ν_{P=O}).

Réaction de Diels-Alder entre 13a' et le *N*-méthylmaléimide



Dans un tube RMN, sont introduits successivement 50 mg (0,023 mmole) de **13a'**, 50 mg (1,15 mmol) de *N*-méthylmaléimide et 5 mL de DMF, de D₂O ou de DMSO-d₆. Puis le mélange est laissé à 40°C pendant 5 jours.

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz), δ (ppm) : 8,23 (s, 1H, triazole) ; 6,73 (s, 1H, CH=C) ; 5,22 (m, 2H, CH-O) ; 4,58 (t, *J* = 5,25 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 4,38 (m, 1H, CHP) ; 3,84 (t, *J* = 5,98 Hz, 2H, N_{triazole}-CH₂-CH₂-O) ; 3,77-3,36 (m, 172H, CH₂-CH₂-O) ; 3,35 (t, *J* = 5,38 Hz, 2H, NH-CH₂) ; 3,24 (s, 3H, O-CH₃) ; 3,05 (m, 2H, CHC=O) ; 2,86 (s, 3H, CH₃-N) ; 2,51 (s, 1H, NH).

RMN ³¹P (DMSO-d₆, 161,96 MHz), δ (ppm) : 10,96 ; 10,00 ; 9,77 ; 9,06.

FT-IR (ν cm⁻¹): 3368(ν_{OH}); 2881 (ν_{C-H}) ; 1698 (ν_{C=O}) ; 1656 (ν_{C=C}) ; 1466 (ν_{C=C triazole}) ; 1241 (ν_{P=O}).

REACTION DE RETRO DIELS-ALDER

Dans un tube RMN, sont introduits successivement 50 mg de **14a'** ou **14b'**, 0,4 mL de TCE-d₂ ou de DMSO-d₆. Puis le mélange est laissé à 110°C en effectuant un suivi cinétique de la réaction.

SYNTHESE DE NANOPARTICULES D'OXYDE DE FER NUES

Dans un ballon tricol de 1 L sont introduits successivement 40 mL de FeCl₃.6H₂O 1M, 20 mL FeCl₂.4H₂O 2M et 5 mL d'acide chlorhydrique (HCl 1M). Le mélange est dilué par 600 mL d'eau ultra pure désoxygénée. 125 mL de NH₃.H₂O (28%) sont ajoutés goutte-à-goutte au mélange. La solution est agitée à TA pendant 5 h. Les nanoparticules obtenues sont récupérées par une décantation magnétique ou par centrifugation et lavées plusieurs fois avec de l'eau ultra pure désoxygénée pour éliminer les ions chlorure et l'excès de base, puis séchées sous vide. La poudre noire obtenue est dispersée ensuite dans de l'eau ultra pure désoxygénée et le pH est fixé à 5,5 par ajout d'HCl 0,1M et conduit à un ferrofluide de concentration 15 mg/mL.

SYNTHESE DE NANOPARTICULES D'OXYDE DE FER GREFFEES PAR POLY(OXYDE D'ETHYLEN) A EXTREMITÉ ACIDE PHOSPHONIQUE.

Dans un tube de 10 mL, sont mis successivement 33,78 mg de poly(oxyde d'éthylène) à extrémité acide phosphonique dissous dans 2 mL d'eau ultra pure, 1 mL de nanoparticules d'oxyde de fer (15 mg/mL) et 6 mL d'eau ultra pure. Le mélange est laissé pendant 24 h à TA. En fin de réaction, la solution a été filtrée sur un filtre poly(éthylène téréphtalate) (PTFE) de porosité 0,45 µm pour éliminer les nanoparticules non stabilisées. Les nanoparticules fonctionnalisées ont été lavées trois fois dans l'eau ultra pure par centrifugation (15 000 tours/min durant 40 min) pour éliminer l'excès de POE non greffé à la surface des nanoparticules d'oxyde de fer. Les nanoparticules d'oxyde de fer fonctionnalisées obtenues sont séchées sous vide et se présentent sous forme d'un solide noir.

REACTION DE DIELS-ALDER ENTRE LES NANOPARTICULES D'OXYDE DE FER GREFFEES PAR 13a' ET LE TETRAMETHYLRHODAMINE-5-C2 MALEIMIDE

Dans un tube de 10 mL, sont mis successivement 0,1 mL de nanoparticules d'oxyde de fer greffées par **13a'** (4,425 mg Fe/mL), 1 mg de colorant tétraméthylrhodamine-5-C2-maléimide et 4 mL d'eau ultra pure. Le mélange est laissé à TA pendant 14 jours. La solution obtenue a ensuite été dialysée avec une membrane de seuil de coupure de 3,5 kDa pour éliminer le colorant

en excès. L'eau de dialyse a été renouvelée plusieurs fois jusqu'à disparition totale de la bande d'absorption à 552 nm mesurée par spectrophotométrie, caractéristique du colorant libre.

Thèse de Doctorat

Thi Thanh Thuy NGUYEN

Poly(oxyde d'éthylène)s fonctionnels à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité réversible pour la stabilisation de nanoparticules magnétiques

Résumé

Le sujet de cette thèse concerne l'élaboration de polymères hydrophiles biocompatibles et fonctionnels pour la stabilisation et la bio-fonctionnalisation de nanoparticules d'oxyde de fer en vue d'une utilisation en tant qu'agents de contraste en imagerie par résonance magnétique et/ou en tant que vecteurs de principes actifs ou de thérapie génique. Pour ce travail de thèse, l'objectif a été de fonctionnaliser des poly(oxyde d'éthylène)s (POE) commerciaux, connus pour leurs propriétés d'hydrophilie, de biocompatibilité et de furtivité par un groupement acide phosphonique, pour chélater les nanoparticules d'oxyde de fer, et par un groupement furane, susceptible de réagir avec des biomolécules à fonctionnalité maléimide, facilement accessibles, selon une réaction de Diels-Alder thermoréversible.

Des POEs à extrémité acide phosphonique et à fonctionnalité furane ont été synthétisés selon deux stratégies originales combinant des réactions d'Atherton-Todd ou de Kabachnik-Fields et la cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen, réaction de chimie « click » très efficace, orthogonale, spécifique et réalisée dans des conditions douces.

Les POEs obtenus ont ensuite été greffés à la surface de nanoparticules d'oxyde de fer selon la stratégie 'grafting onto'. L'efficacité des POEs à stabiliser les nanoparticules d'oxyde de fer a été mise en évidence. De plus, les tests de cytotoxicité ont montré que ces systèmes sont biocompatibles. De plus, les nanoparticules d'oxyde de fer, une fois greffées, ont conservé leurs propriétés de relaxivité autorisant leur utilisation en imagerie médicale. Enfin, l'aptitude de ces nanoparticules fonctionnalisées par des groupements furane à immobiliser des molécules à fonctionnalité maléimide a été mise en évidence ainsi que la possibilité ultérieure à libérer ces molécules sous effet d'un stimulus thermique. Ce comportement réversible ouvre des perspectives tout à fait intéressantes dans le domaine de la vectorisation de principes actifs.

Mots-clés

Poly(oxyde d'éthylène) à extrémité acide phosphonique, Chimie « click », Kabachnik-Fields, Réaction de Diels-Alder, Nanoparticules d'oxyde de fer.

Abstract

The objective of this thesis was the preparation of biocompatible hydrophilic functionalized polymers for the stabilization and bio-functionalization of iron oxide nanoparticles (IONPs) for biomedical applications such as contrast agents in magnetic resonance imaging and/or targeted drug delivery. In this work, commercially available poly(ethylene oxide)s (PEO), which have hydrophilic, biocompatibility and furtivity properties have been functionalized by a phosphonic acid group, that strong anchors on IONPs, and by a furan group that can be coupled to maleimide-terminated biomolecules by a thermoreversible Diels-Alder reaction.

Phosphonic acid-terminated PEOs functionalized by a furane group were synthesized according to two original strategies combining an Atherton-Todd or a Kabachnik-Fields reaction and a 1,3-dipolar cycloaddition reaction. This latter reaction, also named 'click' reaction, is characterized by high yields, simple reaction conditions, fast reaction times, and high selectivity.

These PEOs were attached to the IONPs surface using the 'grafting onto' strategy. The subsequent polymer-stabilized IONPs were characterized, proving the presence of polymers on IONPs surfaces. Cytotoxicity studies revealed that the IONPs carriers were biocompatible. In addition, studies on the proton transverse relaxation enhancement properties of these stabilized IONPs indicated high relaxivities in the same range as iron oxide based commercially available contrast agents. Finally, polymer-stabilized IONPs were successfully functionalized by maleimide-functionalized molecules according to the Diels-Alder reaction and the subsequent release of these molecules *via* a thermal stimulus has been proven. Consequently, this type of controlled-release system could be expanded to drug therapy responding to external stimuli.

Key Words

Phosphonic acid-terminated poly(ethylene oxide), 'Click' reaction, Kabachnik-Fields reaction, Diels-Alder reaction, Iron oxide nanoparticles.