



Université des Sciences et Technologies de Lille
Ecole Doctorale Sciences de la Matière, du Rayonnement et
de l'Environnement

THESE

Pour l'obtention du grade de
Docteur de l'Université des Sciences et Technologies de Lille
Spécialité Molécules et Matière Condensée

Dopamine : une molécule de choix pour l'immobilisation de
polymères sur des substrats à base de titane
Application à l'élaboration de surfaces « intelligentes » et à la
fonctionnalisation de stents métalliques

Présentée et soutenue par

William LAURE

Le 28 Novembre 2014

Fouzia BOULMEDAIS, Chargée de Recherches, ICS - Strasbourg

Examinatrice

Mathias DESTARAC, Professeur, IMRCP - Toulouse

Rapporteur

Christophe DETREMBLEUR, Directeur de Recherches FNRS, CERM - Liège

Rapporteur

Joël LYSKAWA, Maître de Conférences, UMET - Lille

Examineur

Patrice WOISEL, Professeur, UMET - Lille

Directeur

Philippe ZINCK, Professeur, UCCS - Lille

Examineur

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier très sincèrement mon directeur de thèse Patrice Woisel de m'avoir permis de réaliser ces travaux au sein de son équipe de recherche. J'aimerais plus particulièrement souligner que sans sa ténacité et sa détermination, aucun financement doctoral n'aurait pu être décroché et je n'aurais sans doute jamais pu découvrir le sujet qui m'a tenu en haleine durant ces trois dernières années. Evidemment, je lui témoigne également toute ma reconnaissance pour la confiance qu'il m'a accordée ainsi que pour l'ensemble des conseils pertinents qu'il m'a prodigué.

Merci à Alexandre Legris, directeur du laboratoire UMET de l'Université de Lille 1 pour m'avoir permis de réaliser les travaux de recherche présentés dans ce mémoire.

Mes remerciements vont ensuite tout naturellement à Joël Lyskawa, Maître de Conférences, pour m'avoir accompagné tout au long de ce travail et pour m'avoir transmis de nombreuses connaissances. Je tiens avant tout à mettre en avant sa disponibilité, sa patience et sa gentillesse envers moi. Nous nous sommes très rapidement bien entendu, notamment à la pailasse, peut être en raison d'un mode de fonctionnement sensiblement similaire...

Je souhaite également remercier David Fournier, Maître de Conférences, pour ses nombreux conseils en polymérisation qui m'ont grandement aidé à mener à bien mes diverses études. Je le remercie pour sa sympathie et sa générosité ainsi que pour le temps qu'il m'a consacré pour tenter de clarifier certaines curiosités de polyméristes. Par ailleurs, j'ai particulièrement apprécié notre petit séjour chez nos voisins belges.

Je tiens à remercier Mathias Destarac, Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse et Christophe Detrembleur, Directeur de Recherches à l'Université de Liège, qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail en qualité de rapporteurs. J'associe également à ces remerciements Fouzia Boulmedais, Chargée de Recherches à l'Institut Charles Sadron de Strasbourg et à Philippe Zinck, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Lille pour avoir accepté de participer à ce jury.

Remerciements

J'adresse ensuite mes remerciements à l'ensemble des personnes ayant participé de près ou de loin à ces travaux de recherches. Je pense plus particulièrement à Jonathan Sobocinski, chirurgien cardio-vasculaire au CHRU de Lille sans qui le travail concernant la fonctionnalisation des stents métalliques n'aurait pu aboutir. Je suis également très reconnaissant envers Arnaud Beaurain, Ingénieur de Recherches, pour sa sympathie et pour l'ensemble des caractérisations XPS réalisées sur mes échantillons et envers Sophie Barrau, Maître de Conférences, pour m'avoir consacré de son temps pour les analyses AFM. Merci à Francine Cazier de l'Université du Littoral Côte d'Opale, Sabine Szunerits de l'Institut de Recherche Interdisciplinaire (IRI, Lille) pour m'avoir permis d'utiliser leurs installations.

J'aimerais remercier Aurélie Malfait, Ingénieur d'Etudes, aussi bien pour ses analyses GPC que pour sa gentillesse et sa bonne humeur. J'ai particulièrement apprécié de partager le laboratoire en sa compagnie pendant quelques temps ; je regrette tout de même qu'elle n'ait pas fait réellement de vrais pots d'anniversaire.

Je souhaite également remercier Lucy Platts, stagiaire britannique que j'ai eu la chance d'encadrer durant quelques mois et qui a participé activement à l'avancement de mes travaux. Merci également aux autres stagiaires Nicolas L., Nicolas P. et Yannick Y. pour leur participation.

J'associe à ces remerciements Nicolas Tabary, Maître de Conférences, dont la présence a indéniablement contribué à la bonne humeur du labo. Je le remercie pour sa simplicité et sa gentillesse et je retiendrais plus particulièrement les (longues) discussions et soirées footballistiques que l'on a pu partager.

Elles furent mes voisines de gauche successivement et ont partagé quelques points communs. Que ce soit la première, au rire communicatif et au penchant pour la collection de petites assiettes (sales) ou la seconde, d'une générosité débordante et toujours conciliante, toutes deux ont surtout égayé mes journées avec leurs touches musicales si personnelles (ou pas). Un grand merci à Léna et à Florence pour leur gentillesse, leur bonne humeur et pour nos moments partagés.

Que mes collègues se sentent concernés par ces remerciements à savoir Adeline, Cécile, François, Khaled, Jonathan(s), Nérinel, Jatupol, Safa, Cédric, Guillaume, Frédéric,

Remerciements

Bernard, Maryse, Stéphanie, Jean-Noël et Michel pour les échanges que j'ai pu avoir avec eux ainsi que pour leurs services rendus.

Enfin, je ne pourrais terminer sans remercier celle qui partage ma vie depuis maintenant presque cinq années et qui était par la même occasion ma collègue de bureau. Merci à toi Camille pour TOUT et également pour la réalisation de mes gâteaux d'anniversaire qui auront permis de faire croire que j'étais un bon pâtissier.

Liste des abréviations

ACN	Acétonitrile
AFM	Microscopie à Force Atomique
AO	Acide Orange II
APTES	3-aminopropyltriéthoxysilane
CD	Cyclodextrine
CE	Conforme aux exigences
CHRU	Centre Hospitalier Régional Universitaire
CoCr	Alliage de Cobalt-Chrome
CTA	Agent de transfert de chaîne
CTR	Acide citrique
CV	Voltampérométrie/voltammogramme cyclique
DA	Diels-Alder
DA1	Première réaction de Diels-Alder
DA2	Seconde réaction de Diels-Alder
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimide
DES	Stent à libération de médicament
DF	Dopamine-Furane
DM	Dopamine-Maléimide
DMp	Dopamine-Maléimide protégée
DMAP	4-diméthylaminopyridine
DMF	Diméthylformamide
EDCI	1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide
GRB	Groupe de Recherche sur les Biomatériaux
HI	Indice Hémolytique
HPLC	Chromatographie en phase liquide à haute performance
HPMEC	Cellules endothéliales microvasculaires pulmonaires humaines
HS-Fc	6-hexanethiol ferrocène
IR/ATR	Infrarouge / Réflexion Totale Atténuée
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
ITO	Oxyde d'indium-étain
LPPR	Liste des Produits et Prestations Remboursables

Liste des abréviations/symboles

MEB	Microscopie Electronique à Balayage
NHS	<i>N</i> -hydroxysuccinimide
NIPAM	<i>N</i> -isopropylacrylamide
NiTiNOL	Alliage de nickel et de titane
-NO ₂	Nitro
OEGA	Acrylate d'oligo (éthylène glycol)
PBMA	Poly (méthacrylate de <i>n</i> -butyle)
PBS	Tampon phosphate salin
PDA	Polydopamine
PDMS	Polydiméthylsiloxane
PEG	Poly (éthylène glycol)
PET	Poly (éthylène téréphtalate)
PEVA	Poly (éthylène- <i>co</i> -vinyl acétate)
PLA	Acide poly (lactique)
PLGA	Acide poly (lactique- <i>co</i> -glycolique)
polyCD	Polymère de cyclodextrine
PRC	Polymérisation Radicalaire Contrôlée
PTX	Paclitaxel
PVA	Acide poly (vinylique)
PVDF-HFP	Polyfluorure de vinylidène - hexafluoropropylène
RAFT	Polymérisation par transfert réversible d'addition/fragmentation
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
rDA	Rétro Diels-Alder
SEC	Chromatographie d'exclusion stérique
SIBS	Copolymères à blocs styrène isobutylène styrène
TA	Température ambiante
TBO	Toluidine Blue O
TCEP	tris(2-carboxyéthyl)phosphine
TFEA	Acrylate de 2,2,2-trifluoroéthyle
THF	Tétrahydrofurane
Ti-cp	Titane commercialement pur
Ti-DF	Surface de titane fonctionnalisée par l'ancre Dopamine-Furane
Ti-DM	Surface de titane fonctionnalisée par l'ancre Dopamine-Maléimide
Ti-DMp	Surface de titane fonctionnalisée par l'ancre Dopamine-Maléimide protégée

TiO ₂	Dioxyde de titane
UMET	Unité Matériaux Et Transformations
UV	Ultra-violet
VEGF	Facteur de croissance des cellules vasculaires endothéliales
XPS	Spectroscopie de Photoélectrons X

Liste des symboles

A	cm ²	Aire de la surface
[A] ₀	mol.L ⁻¹	Concentration initiale en amorceur
[CTA] ₀	mol.L ⁻¹	Concentration initiale en agent de transfert de chaîne
Đ		Indice de polymolécularité
δ	ppm	Déplacement chimique
E _{po}	V	Potentiel d'oxydation
E _{ré}	V	Potentiel de réduction
F	C.mol ⁻¹	Constante de Faraday
Γ	molécules.cm ⁻²	Taux de recouvrement
h	mm	Hauteur
λ	nm	Longueur d'onde
M _n _{RMN}	g.mol ⁻¹	Masse molaire moyenne en nombre évaluée par RMN
M _n _{SEC}	g.mol ⁻¹	Masse molaire moyenne en nombre déterminée par SEC
M _p _{SEC}	g.mol ⁻¹	Masse molaire déterminée au sommet du pic par SEC
M _w	g.mol ⁻¹	Masse molaire moyenne en poids
[M] ₀	mol.L ⁻¹	Concentration initiale en monomère
n		Nombre d'électron(s)
Na	mol ⁻¹	Nombre d'Avogadro
Q	coulomb	Quantité de charges
Rdt	%	Rendement
τ	%	Taux de conversion en polymère
Ø	mm	Diamètre des échantillons métalliques

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE 1 : Etude bibliographique	5
Introduction	9
I. Le Titane : structure, propriétés et fonctionnalisation chimique	9
I.1. Généralités	9
I.2. Caractéristiques	10
I.3. Oxydation chimique de surface	12
I.3.1. Traitements acides	13
I.3.2. Traitements basiques	13
I.3.3. Traitements peroxydes.....	13
I.4. Ancres chimiques pour la fonctionnalisation du titane	14
I.4.1. Sites actifs.....	14
I.4.2. Ancres chimiques	15
I.4.2.a. Les silanes	16
I.4.2.b. Les acides carboxyliques et les dérivés d'acides phosphoniques	18
I.4.2.c. Les catéchols	20
II. La dopamine : un outil de choix pour la fonctionnalisation chimique du titane	23
II.1. La fonctionnalisation du titane par la dopamine et des (macro)molécules dérivées de dopamine	23
II.1.1. Fonctionnalisation du titane par la dopamine	23
II.1.2. Fonctionnalisation du titane par des (macro)molécules dérivées de dopamine	25
II.2. La fonctionnalisation du titane par des polymères modifiés à l'aide du motif dopamine	25
II.2.1. Greffage de polymères incorporant le motif catéchol en chaîne latérale.....	26
II.2.2. Greffage de polymères incorporant le motif catéchol en extrémité de chaîne .	28
III. La polydopamine, un polymère bio-inspiré aux propriétés adhésives exceptionnelles	31
III.1. Généralités	31
III.2. Préparation et mécanisme.....	32
III.3. Exploitation de la réactivité latente de la PDA pour la fonctionnalisation du titane	35

IV. L'utilisation de la chimie « Click » pour la fonctionnalisation du titane	36
IV.1. La « Click-Chemistry » : présentation	36
IV.2. La cycloaddition de Huisgen [3+2] catalysée au cuivre I (CuAAC).....	37
IV.2.1. Généralités	37
IV.2.2. La réaction de CuAAC appliquée à la fonctionnalisation de surfaces de titane	38
IV.3. La cycloaddition de Diels-Alder	40
IV.3.1. Généralités	40
IV.3.2. La réaction de Diels-Alder appliquée à la fonctionnalisation de surfaces de titane	41
IV.4. La réaction de thiol-ène.....	44
IV.4.1. Généralités	44
IV.4.2. La réaction de thiol-ène appliquée à la fonctionnalisation de surfaces de titane	44
Conclusion	46
Références Bibliographiques	47

CHAPITRE 2 : Elaboration de plateformes de titane aux propriétés physico-chimiques modulables à l'aide d'ancres fonctionnalisées à base de dopamine

59

Introduction

63

I. Synthèse, caractérisation et immobilisation des ancres chimiques à base de dopamine sur des surfaces de titane

64

I.1. Synthèse et caractérisation des ancres Dopamine-Furane et Dopamine-Maléimide 64

I.2. Immobilisation des ancres sur les surfaces de titane

66

I.2.1. Apprêtage des échantillons.....

66

I.2.2. Fonctionnalisation chimique des surfaces de titane.....

66

I.2.3. Caractérisation des plateformes Ti-DF et Ti-DM.....

67

II. Post-fonctionnalisation des plateformes de titane modifiées *via* la réaction de Diels-Alder

70

II.1. Post-fonctionnalisation des plateformes de titane à l'aide de sondes électrochimiques fonctionnalisées par un motif furane ou maléimide

70

II.2. Recyclage des plateformes grâce au caractère thermoréversible de la réaction de Diels-Alder.....

74

II.3. Elaboration de plateformes de titane aux propriétés physico-chimiques de surface interchangeables.....	78
Conclusion	82
Références bibliographiques	83

CHAPITRE 3 : Elaboration de polymères fonctionnalisés en extrémité de chaîne par polymérisation RAFT 85

Introduction	89
---------------------------	----

I. Choix de la structure des polymères parfaitement définis 90

I.1. Rappels bibliographiques sur la Polymérisation Radicalaire Contrôlée (PRC)	90
I.2. La polymérisation radicalaire par transfert de chaîne réversible par addition fragmentation (RAFT).....	92
I.3. Nature des polymères employés pour la fonctionnalisation de surfaces	94

II. Synthèse et caractérisation de polymères fonctionnalisés en extrémité de chaîne par un motif furane ou maléimide 96

II.1. Synthèses et caractérisations des agents de transfert CTA3 et CTA4 incorporant une entité furane ou maléimide protégé	97
II.2. Polymérisation RAFT en présence des agents de transfert CTA3 et CTA4	99
II.2.1. Polymérisation RAFT en présence de l'agent de transfert CTA3	99
II.2.2. Polymérisation RAFT en présence de l'agent de transfert CTA4	101
II.3. Déprotection des polymères fonctionnalisés par l'agent de transfert CTA4	103

III. Synthèse et caractérisation d'un PNIPAM fonctionnalisé en extrémité de chaîne par une sonde ferrocène 106

III.1. Synthèse et caractérisation de l'agent de transfert fonctionnalisé par le motif ferrocène.....	107
III.2. Polymérisation RAFT du NIPAM en présence de l'agent de transfert CTA5	108
III.3. Génération de fonctions thiols à partir du polymère CTA5-PNIPAM	110

IV. Synthèse et caractérisation de polymères fonctionnalisés en extrémité de chaîne par un motif nitro-catéchol..... 113

IV.1. Synthèse et caractérisation d'agents de transfert fonctionnalisés par un motif (nitro) catéchol.....	114
IV.2. Polymérisation RAFT à l'aide de l'agent de transfert CTA6.....	115
IV.3. Polymérisation RAFT à l'aide de l'agent de transfert CTA7.....	119

Conclusion	121
-------------------------	-----

Références bibliographiques	122
--	-----

CHAPITRE 4 : Immobilisation de polymères fonctionnels pour l'élaboration de matériaux stimulables	125
--	-----

Introduction	129
---------------------------	-----

I. Immobilisation de polymères fonctionnalisés en extrémité de chaîne sur les plateformes Ti-DF et Ti-DM pour l'élaboration de surfaces thermo-stimulables	129
---	-----

I.1. Immobilisation des polymères et caractérisations des plateformes Ti-DF et Ti-DM post-fonctionnalisées.....	130
---	-----

I.1.1. Immobilisation des polymères élaborés à partir des CTA4' et CTA3 sur les plateformes Ti-DF et Ti-DM.....	130
---	-----

I.1.2. Caractérisations des plateformes post-fonctionnalisées.....	131
--	-----

I.1.3. Etude des propriétés physico-chimiques de surface	135
--	-----

I.2. Etude du recyclage des plateformes Ti-DF et Ti-DM fonctionnalisées.....	136
--	-----

I.2.1. Détachement des polymères fluorés immobilisés sur les plateformes Ti-DF et Ti-DM par rDA.....	136
--	-----

I.2.2. Modification des propriétés physico-chimiques de surface : permutation de la balance hydrophile/hydrophobe	139
---	-----

II. Exploitation des plateformes à base de Dopamine-Maléimide pour l'immobilisation d'un polymère fonctionnel <i>via</i> la réaction de thiol-ène	142
--	-----

II.1. Immobilisation de polymères sur une plateforme Ti-DM par réaction de thiol-ène	142
--	-----

II.1.1. Preuve du concept : fonctionnalisation de la plateforme Ti-DM par une sonde électrochimique.....	143
--	-----

II.1.2. Immobilisation du polymère CTA5'-PNIPAM et caractérisation des plateformes Ti-DM post-fonctionnalisées par XPS et CV	148
--	-----

II.1.3. Etude de la morphologie des revêtements par Microscopie à Force Atomique (AFM).....	150
---	-----

III. Immobilisation de polymères fonctionnalisés par un groupement nitro-catéchol pour l'élaboration de surfaces photosensibles	152
--	-----

III.1. Les dérivés du nitrobenzène pour l'élaboration de surfaces photosensibles	152
--	-----

III.1.1. Les dérivés o-nitrobenzène	152
---	-----

III.1.2. Les nitro-catéchols	153
------------------------------------	-----

III.2. Immobilisation des polymères préparés à partir du CTA6 sur le titane et caractérisations des surfaces fonctionnalisées	154
III.2.1. Identification du fragment catéchol par électrochimie	154
III.2.2. Analyses des surfaces par IR/ATR et par XPS	156
III.2.3. Etude de l'influence du greffage sur les propriétés physico-chimiques de surface	158
III.3. Stimulation des plateformes par irradiation UV	159
III.3.1. Etude de l'influence de l'irradiation en solution	160
III.3.2. Preuve du concept : étude de l'effet de l'irradiation sur la mouillabilité d'une surface d'ITO fonctionnalisée par un polymère fluoré intégrant en extrémité de chaîne un motif nitro-catéchol	161
Conclusion	165
Références bibliographiques	166

CHAPITRE 5 : Exploitation des propriétés d'ancrage de la polydopamine pour l'élaboration de stents « actifs »

Introduction	173
I. Contexte de l'étude	174
I.1. L'athérosclérose	174
I.2. Angioplastie et stenting	175
I.2.1. Généralités	175
I.2.2. Complications post-opératoires	176
I.2.3. Les stents actifs : une solution originale	177
II. Stratégie de fonctionnalisation de surface pour l'élaboration d'un dispositif permettant la libération prolongée de principes actifs	179
II.1. Revêtement du substrat par des polymères bio-inspirés	180
II.1.1. Le polymère de cyclodextrine (polyCD)	180
II.1.2. La polydopamine (PDA)	183
II.2. Support métallique à base de CoCr vs NiTiNOL	184
III. Fonctionnalisation de surfaces en CoCr par greffage d'un polymère « réservoir »...	185
III.1. Préparation et apprêtage de la surface des échantillons	185
III.2. Fonctionnalisation des surfaces par greffage d'un film adhésif de polydopamine (CoCr-PDA)	186

III.2.1. Optimisation du temps de fonctionnalisation des surfaces par la PDA.....	186
III.2.2. Optimisation du traitement thermique effectué sur les plateformes CoCr-PDA	187
III.3. Fonctionnalisation des plateformes CoCr-PDA par un polymère à base de cyclodextrine (polyCD)	192
III.3.1. Optimisation de la température de polycondensation du polyCD	192
III.3.2. Optimisation du temps de polycondensation du polyCD	193
IV. Caractérisation des surfaces fonctionnalisées	195
IV.1. Microscopie Electronique à Balayage (MEB).....	195
IV.2. Spectroscopie de Photo-électrons X (XPS)	197
IV.3. Evaluations biologiques	198
V. Comportement du revêtement polymère en milieu physiologique.....	199
V.1. Etude de la dégradation du film polymère de polyCD	199
V.2. Etude de la libération d'un médicament : le paclitaxel (PTX)	201
VI. Transposition de la stratégie à un stent métallique en CoCr.....	204
Conclusion	206
Références bibliographiques.....	207
 CONCLUSION GENERALE.....	 213
 Partie expérimentale.....	 217
Annexes.....	261

INTRODUCTION GENERALE

Les matériaux à base de titane sont employés dans de nombreux domaines d'application tels que l'aéronautique, l'armement et les nanotechnologies en raison de leurs exceptionnelles propriétés mécaniques, thermiques, électriques et leur excellente résistance à la corrosion. Par ailleurs, grâce à leur caractère biocompatible, le titane et ses alliages sont couramment employés en médecine, notamment pour la conception d'instruments chirurgicaux ou d'implants de substitution. Toutefois, la fonctionnalisation chimique de tels dispositifs est souvent requise afin d'améliorer leurs performances physico-chimiques et/ou biologiques ou dans l'objectif de concevoir de nouveaux dispositifs intelligents. De nombreuses approches ont déjà été explorées afin de moduler les propriétés physico-chimiques de ces matériaux. Cependant, celles-ci requièrent des conditions de greffage parfois trop drastiques ou les revêtements obtenus s'avèrent instables en milieu physiologique, ce qui limite leur utilisation. Récemment, inspiré par les phénomènes d'adhésion observés dans la nature, d'autres outils plus pertinents ont émergé, permettant ainsi l'immobilisation de (macro)molécules fonctionnelles sur le titane de manière durable et dans des conditions opératoires beaucoup plus douces. Néanmoins, ces différentes stratégies conduisent à un greffage robuste et permanent et donc, dans la majorité des cas, à des matériaux aux propriétés physico-chimiques de surface qualifiées de « figées ». Dans ce contexte, la création de nouveaux matériaux aux propriétés physico-chimiques modulables et contrôlées est indispensable, notamment en vue de concevoir des surfaces de titane recyclables aux fonctionnalités commutables.

Les travaux effectués dans le cadre de cette thèse s'inscrivent dans une thématique émergente de l'axe biomatériaux fonctionnels développée au sein de l'équipe du Professeur Patrice Woisel du laboratoire Unité Matériaux Et Transformations (UMET). L'objectif majeur de ce travail consiste à développer de nouvelles méthodologies de greffage de polymères parfaitement définis sur des substrats à base de titane en vue de concevoir des surfaces stimulables aux propriétés physico-chimiques modulables. Nous avons plus particulièrement exploité les propriétés adhésives de la dopamine afin d'immobiliser sur les matériaux, diverses (macro)molécules fonctionnalisées. Les propriétés physico-chimiques des matériaux élaborés ont alors pu être modulées sous l'influence de stimuli tels que la température ou le rayonnement ultra-violet. Par ailleurs, l'équipe est très impliquée dans la Fédération de Recherche sur les Biomateriaux du Nord-Pas-De-Calais et l'une de ses missions est de mettre

au point des approches innovantes adaptées à la fonctionnalisation de dispositifs implantables. C'est dans ce cadre que s'inscrit la dernière étude reportée dans ce manuscrit qui a pour objectif d'exploiter les remarquables propriétés d'adhésion de la polydopamine pour la fonctionnalisation d'implants vasculaires métalliques (stent) par un polymère à base de cyclodextrine agissant comme système de libération prolongée de principes actifs. Cette étude a été réalisée en collaboration avec le Groupe de Recherche sur les Biomatériaux de l'Université de Lille 2 (INSERM U1008), dans le cadre des travaux de thèse de Jonathan Sobocinski, chirurgien cardio-vasculaire au CHRU de Lille.

Ce manuscrit s'articule donc en cinq parties :

Dans une première partie consacrée à l'étude bibliographique, nous présenterons i) les différents outils couramment employés pour fonctionnaliser les surfaces de titane, ii) les différentes stratégies mises en œuvre pour greffer des (macro)molécules incorporant le motif dopamine sur de telles surfaces et iii) l'aptitude du motif dopamine à former des films hautement adhésifs de polydopamine. Enfin, nous terminerons cette étude en présentant les principales réactions de chimie « click » pouvant être employées dans le cadre de la fonctionnalisation du titane.

La seconde partie sera consacrée à l'élaboration de nouvelles plateformes à base de titane dont les propriétés physico-chimiques de surface peuvent être modulées sur commande en vue de concevoir des matériaux recyclables et réutilisables.

La troisième partie du document décrira, quant à elle, la synthèse de plusieurs polymères parfaitement définis fonctionnalisés en extrémité de chaîne qui seront utilisés dans la quatrième partie de ce manuscrit pour fonctionnaliser les surfaces de titane, notamment par l'intermédiaire de réactions appartenant au concept de « Click-Chemistry ». Nous étudierons également l'influence que peut avoir l'application de stimuli sur les propriétés physico-chimiques de surface du matériau.

Enfin, la dernière partie du document sera consacrée à une étude appliquée qui consiste à fonctionnaliser un implant vasculaire par un système de libération d'agents thérapeutiques dans l'objectif de concevoir de nouveaux dispositifs cardio-vasculaires implantables.

CHAPITRE 1 : Etude bibliographique

Table des Matières

Introduction	9
 I. Le Titane : structure, propriétés et fonctionnalisation chimique	9
I.1. Généralités	9
I.2. Caractéristiques	10
I.3. Oxydation chimique de surface	12
I.3.1. Traitements acides	13
I.3.2. Traitements basiques	13
I.3.3. Traitements peroxydes.....	13
I.4. Ancres chimiques pour la fonctionnalisation du titane	14
I.4.1. Sites actifs.....	14
I.4.2. Ancres chimiques	15
I.4.2.a. Les silanes	16
I.4.2.b. Les acides carboxyliques et les dérivés d'acides phosphoniques	18
I.4.2.c. Les catéchols	20
 II. La dopamine : un outil de choix pour la fonctionnalisation chimique du titane	23
II.1. La fonctionnalisation du titane par la dopamine et des (macro)molécules dérivées de dopamine	23
II.1.1. Fonctionnalisation du titane par la dopamine	23
II.1.2. Fonctionnalisation du titane par des (macro)molécules dérivées de dopamine	25
II.2. La fonctionnalisation du titane par des polymères modifiés à l'aide du motif dopamine	25
II.2.1. Greffage de polymères incorporant le motif catéchol en chaîne latérale.....	26
II.2.2. Greffage de polymères incorporant le motif catéchol en extrémité de chaîne .	28
 III. La polydopamine, un polymère bio-inspiré aux propriétés adhésives exceptionnelles	31
III.1. Généralités	31
III.2. Préparation et mécanisme.....	32
III.3. Exploitation de la réactivité latente de la PDA pour la fonctionnalisation du titane	35

IV. L'utilisation de la chimie « Click » pour la fonctionnalisation du titane	36
IV.1. La « Click-Chemistry » : présentation	36
IV.2. La cycloaddition de Huisgen [3+2] catalysée au cuivre I (CuAAC).....	37
IV.2.1. Généralités	37
IV.2.2. La réaction de CuAAC appliquée à la fonctionnalisation de surfaces de titane	38
IV.3. La cycloaddition de Diels-Alder	40
IV.3.1. Généralités	40
IV.3.2. La réaction de Diels-Alder appliquée à la fonctionnalisation de surfaces de titane	41
IV.4. La réaction de thiol-ène.....	44
IV.4.1. Généralités	44
IV.4.2. La réaction de thiol-ène appliquée à la fonctionnalisation de surfaces de titane	44
Conclusion	46
Références Bibliographiques	47

Introduction

L'étude bibliographique présentée dans ce manuscrit sera consacrée dans un premier temps à la description des propriétés physiques et chimiques des matériaux à base de titane. Nous évoquerons plus particulièrement les différentes stratégies utilisées dans la littérature pour la fonctionnalisation chimique du titane. Nous justifierons ensuite le choix de la dopamine pour concevoir des plateformes de fonctionnalisation du titane et pour élaborer des architectures (macro)moléculaires capables d'être immobilisées sur des substrats. Nous évoquerons également son aptitude à former des films de polymère aux propriétés adhésives remarquables. Enfin, dans une dernière partie, nous présenterons trois grandes familles de réactions chimiques appartenant au concept de chimie « Click » qui peuvent être employées pour la fonctionnalisation chimique de matériaux à base de titane.

I. Le Titane : structure, propriétés et fonctionnalisation chimique

I.1. Généralités

Le titane est un élément très répandu sur Terre puisqu'il s'agit du quatrième métal le plus abondant dans l'écorce terrestre après l'aluminium, le fer et le magnésium ¹. Il fut découvert en 1791 par l'anglais William Gregor et nommé « Titane » par Klaproth en 1795 ² ; toutefois, ce n'est qu'à partir de 1910 qu'un métal ductile de haute pureté n'a pu être obtenu (Figure I.1).



Figure I.1: Barre de titane de très haute pureté

La généralisation du procédé d'extraction du titane pour des exploitations industrielles par le procédé Kroll ³ n'a d'ailleurs débuté que dans les années 1950. De nos jours, le titane sous sa forme métallique trouve des applications dans le domaine de la métallurgie où il permet

l'élaboration d'alliages qui offrent de nombreux avantages comparés aux alliages d'aluminium ou d'aciers. En effet, leur faible densité ($4,54 \text{ g.cm}^{-3}$), leur excellente résistance à la corrosion combinée à leurs propriétés mécaniques comparables à celles des aciers font qu'ils représentent des matériaux clés pour les domaines de l'aéronautique, de l'aérospatial ⁴⁻⁵ ou encore de l'armement ⁶. De plus, grâce à leur biocompatibilité, à des modules d'Young relativement faibles et leur absence de magnétisme, le titane et ses alliages sont largement employés dans le domaine médical ⁷.

I.2. Caractéristiques

D'un point de vue cristallographique, le titane se présente sous deux formes allotropiques, c'est-à-dire qu'il existe sous deux structures cristallines différentes ⁸ (Figure I.2):

- la phase α , hexagonale compacte de paramètres de maille $a_\alpha = 0,295 \text{ nm}$, $c_\alpha = 0,468 \text{ nm}$ et stable en dessous de 882°C
- la phase β , cubique centrée de paramètres de maille $a_\beta = 0,332 \text{ nm}$ et stable au-delà de 882°C

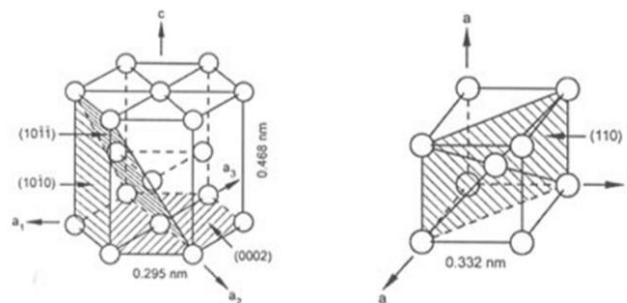


Figure I.2 : Structure cristalline du titane sous sa forme α (gauche) et β (droite)

La température de transition de phase $\alpha \rightarrow \beta$, plus communément appelée transus β (T_β), est largement influencée par l'addition d'éléments pouvant être contenus dans les alliages de titane. Les éléments qui sont le C, N, O et Al vont ainsi stabiliser la phase α , d'autres comme le Mn, Mo, V, Cr, Si, Ni ou le Fe vont stabiliser la phase β et certains tels que le Zr ou Sn sont qualifiés de neutres ⁹. Les alliages de titane peuvent ainsi être constitués soit exclusivement de phase α , soit exclusivement de phase β ou encore le plus souvent, par un mélange des deux. Par ailleurs, l'addition d'éléments comme par exemple le Fe, Al, Si, Zr, V ou le Mo

peuvent conférer à ces alliages des propriétés extrêmement modulables (ductilité, dureté, résistance à la chaleur, à la corrosion...) ⁹.

De manière générale, les alliages à base de titane possèdent une bonne résistance mécanique mais une moins bonne résistance à la corrosion comparée au titane commercialement pur (Ti-cp). Ce dernier existe sous quatre déclinaisons selon sa composition chimique en oxygène et en fer (Tableau I.1).

Tableau I.1 : Composition chimique du titane "commerciale pur" selon la norme DIN 17850

Composition chimique (% en poids)						
	Base	Fe max	O max	N max	C max	H max
Grade 1 (cp 1)	Ti	0,15	0,12	0,05	0,06	0,013
Grade 2 (cp 2)	Ti	0,2	0,18	0,05	0,06	0,013
Grade 3 (cp 3)	Ti	0,25	0,25	0,05	0,06	0,013
Grade 4 (cp 4)	Ti	0,3	0,35	0,05	0,06	0,013

En effet, le titane a la capacité de former spontanément au contact de l'air ou de l'eau, une couche stable et protectrice d'oxyde de quelques nanomètres d'épaisseur qui possède la particularité d'accroître la résistance du métal à la corrosion. Cette couche d'oxyde naturelle se compose d'un mélange de TiO , de Ti_2O_3 et de TiO_2 , cette dernière étant la plus stable. Le TiO_2 se trouve naturellement sous trois formes cristallines à pression atmosphérique : brookite (orthorhombique), anatase et rutile (quadratique) ¹⁰. Ces deux dernières formes allotropiques sont les plus fréquentes et peuvent être assimilées à des structures tétraédriques de cations titane entourées par des octaèdres d'anions d'oxyde (Figure I.3). Le rutile est la forme thermodynamiquement la plus stable et peut être obtenue en chauffant au-dessus de 700°C la forme anatase de l'oxyde de titane ¹¹.

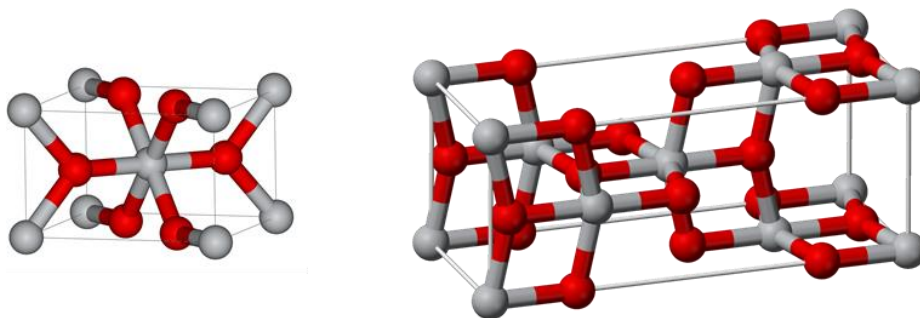


Figure I.3 : Structures cristallines du rutile (gauche) et de l'anatase (droite). Les atomes de titane sont représentés par des sphères grises et ceux de l'oxygène par des sphères rouges

Le film d'oxyde de titane formé naturellement à la surface du titane métallique est amorphe dans un premier temps puis le processus de cristallisation apparaît avec l'épaississement. Diverses organisations s'effectuent alors au sein du matériau métallique ^{7, 12}. De manière schématique, on observe sur la surface métallique une première couche de titane d'une dizaine de nanomètres caractérisée par la présence de quelques atomes d'oxygène. Une seconde couche, principalement constituée d'oxyde de titane TiO_2 de forme anatase (quelques nanomètres), est ensuite observée. Enfin, une dernière couche composée essentiellement de fonctions hydroxyles est présente à l'extrême surface du matériau ¹³ (Figure I.4).

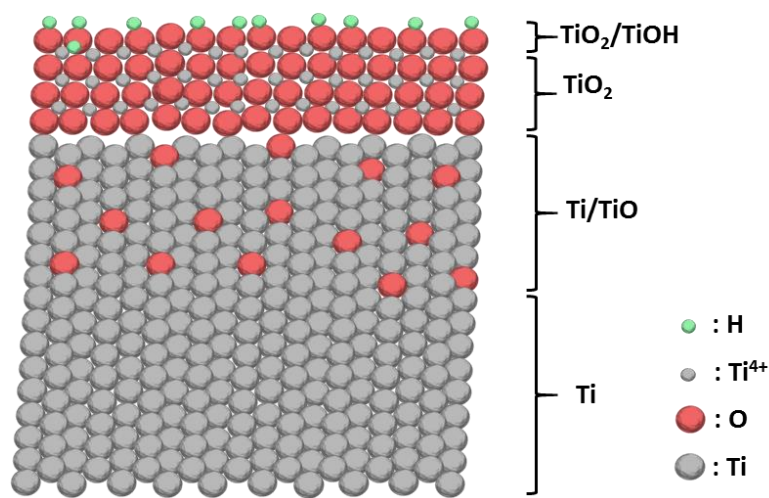


Figure I.4: Représentation schématique d'une surface de titane passivée naturellement (adapté de ¹³)

I.3. Oxydation chimique de surface

Le film d'oxyde présent à la surface du titane joue un rôle important sur les propriétés physico-chimiques du matériau. Toutefois, en fonction de l'application envisagée, pour la fonctionnalisation du titane par exemple, il est généralement nécessaire d'accroître l'épaisseur de cette couche d'oxyde afin d'augmenter le nombre de sites d'accroche en extrême surface. Outre les méthodes physiques employant des ondes électromagnétiques *via* l'utilisation d'enceintes plasma ¹⁴⁻¹⁵ ou des techniques électrochimiques telles que l'oxydation anodique ¹⁶⁻¹⁷, l'activation de la surface est souvent réalisée par voie chimique ¹⁸.

Les principaux traitements chimiques peuvent être regroupés en trois catégories : les traitements acides, basiques et à base de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

1.3.1. Traitements acides

Les traitements acides sont fréquemment employés afin de décontaminer la surface de titane mais également pour générer une couche épaisse de TiO_2 (≈ 10 nm).

Parmi les traitements acides, le protocole le plus utilisé consiste à immerger la surface de titane dans une solution d'acide nitrique (10-30% v/v) et d'acide fluorhydrique (1-3% v/v) ^{12, 19}. L'efficacité du traitement est due à la présence d'acide fluorhydrique qui attaque immédiatement le TiO_2 et réagit avec le Ti pour former des fluorures de titane ainsi que de l'hydrogène ²⁰. Cependant, la formation de ce dernier est susceptible de provoquer une fragilisation du titane lorsqu'il diffuse au sein du matériau. Le phénomène peut toutefois être limité en maintenant un ratio de HNO_3/HF à 10/1 permettant de minimiser la génération d'hydrogène libre ¹². D'autres solutions acides telles que celles à base de mélanges d'acide sulfurique et d'acide chlorhydrique peuvent également être utilisées pour l'oxydation et/ou la décontamination des surfaces ²¹⁻²³.

1.3.2. Traitements basiques

Les traitements basiques, quant à eux, génèrent à la surface du titane un film d'une épaisseur d'environ 1 μm avec une grande porosité. Il est constitué d'oxyde de titane (sous forme rutil ou anatase) et d'une matrice cristalline de titanate de sodium, comparable à la structure de l'hydroxyapatite poreuse ²⁴⁻²⁵. Ce procédé est apparu pour la première fois dans les travaux de Kim *et al.* ²⁶ et consiste à traiter le titane par une solution concentrée de NaOH chauffée à 60°C suivi d'un recuit à haute température (400-800°C). D'autres traitements alternatifs, consistant à employer une solution alcaline diluée à ébullition, ont également été développés ²³.

1.3.3. Traitements peroxydes

La dernière méthode d'oxydation chimique du titane se fait par l'intermédiaire de traitements peroxydes qui nécessitent l'utilisation d'un acide fort et de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ²⁷. En milieu acide, le peroxyde d'hydrogène réagit avec le titane pour former une couche d'oxyde amorphe. La morphologie de surface ainsi que l'épaisseur du film de TiO_2 vont

dépendre de la concentration en H_2O_2 et de la durée du traitement ²⁸. Dans cette optique, Wang *et al.* ont démontré que l'épaisseur de la couche de TiO_2 évoluait de façon linéaire en fonction du temps d'immersion de l'échantillon dans un mélange 30% $\text{H}_2\text{O}_2/\text{HCl}$ 0,1 mol.L⁻¹ ²⁹. De plus, des études spectroscopiques réalisées sur des surfaces de titane et apprêtées chimiquement *via* un traitement peroxyde, ont révélé l'existence de TiO_2 principalement, mais également la présence de groupements hydroxyles ³⁰⁻³¹.

Les différentes méthodes d'oxydation présentées ci-dessus permettent de générer des films d'oxyde de titane d'épaisseurs et de morphologies différentes. Dans le cadre de la fonctionnalisation chimique de surfaces de titane, un contrôle de la nature de la couche d'oxyde est essentielle afin d'envisager un greffage optimal des (macro)molécules. De plus, le traitement appliqué ne doit pas être trop agressif pour ne pas dénaturer le matériau et doit générer un film d'oxyde homogène avec une épaisseur contrôlée. Au vue des performances de chacun des traitements oxydants évoqués précédemment et en raison de la formation de fonctions hydroxyles réactives, le traitement au peroxyde semble représenter un bon compromis pour envisager le greffage d'espèces chimiques à la surface du titane.

I.4. Ancres chimiques pour la fonctionnalisation du titane

I.4.1. Sites actifs

Comme évoqué précédemment, une couche d'oxyde riche en fonctions hydroxyles peut être générée naturellement ou par oxydation chimique à la surface du titane. La représentation d'une surface d'oxyde de titane hydratée la plus fréquemment utilisée fait apparaître trois types de sites actifs sur lesquels des ligands spécifiques peuvent interagir pour former des interactions fortes ³² (Figure I.5) :

- les sites constitués d'atomes de titane hexavalents liés à cinq atomes d'oxygène impliqués dans le réseau et à une fonction hydroxyle localisée en surface (Figure I.5, vert)
- les sites correspondants à des fonctions oxoniums bloquées entre deux atomes de titane (Figure I.5, bleu)
- les sites correspondants aux atomes de titane se trouvant sur les arêtes des cristaux de TiO_2 et qui sont simplement liés à quatre groupes oxo (Figure I.5, rouge)

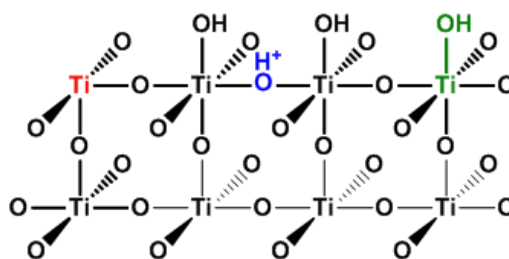


Figure I.5: Représentation des trois sites actifs présents en extrême surface de l'oxyde de titane

La chimisorption des composés organiques sur la couche de TiO₂ peut être assimilée à une réaction de type acide-base de Lewis ou de Brönsted ³³. Ainsi, trois types de chélation peuvent être distingués (Figure I.6) :

- une chélation de type monodentate dans laquelle le ligand vient se lier à un seul atome de titane (Figure I.6, vert)
- une chélation de type bidentate dans laquelle le ligand vient se lier à deux atomes de titane conduisant à la formation d'un pont (Figure I.6, rouge)
- une chélation de type bidentate impliquant un seul atome de titane se trouvant sur les arêtes des cristaux de TiO₂ (Figure I.6, bleu)

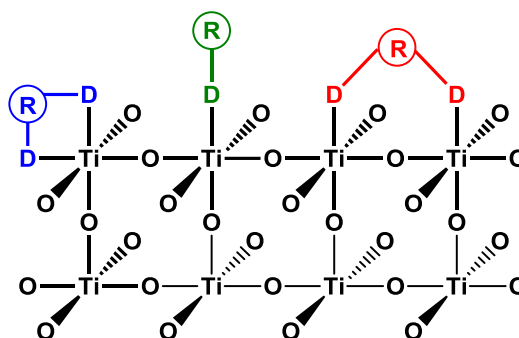


Figure I.6: Représentation des trois types d'interactions possibles entre un ligand et un substrat en titane. R représente la molécule greffée et D les ligands permettant l'accroche

I.4.2. Ancres chimiques

La fonctionnalisation chimique de surfaces de titane est incontournable pour améliorer les propriétés physico-chimiques et/ou biologiques du matériau. Toutefois, afin d'immobiliser des (macro)molécules sur les surfaces de titane, il s'avère indispensable de réaliser un ancrage solide avec le substrat. Grâce à la présence des sites réactifs évoqués précédemment, il

devient possible de manipuler et de modifier les propriétés de surface par l'intermédiaire de ligands spécifiques appelés « ancres chimiques ».

I.4.2.a. Les silanes

Les silanes sont les ancres chimiques les plus couramment utilisées pour la fonctionnalisation chimique de surfaces de matériaux tels que la silice ³⁴, l'hydroxyapatite ³⁵, les composites ³⁶, l'acier inoxydable ³⁷, les alliages de cobalt-chrome ³⁸⁻³⁹, le titane et ses alliages ^{13, 40-42}.

En ce qui concerne la fonctionnalisation des surfaces d'oxydes métalliques et plus particulièrement le TiO_2 , les trihalogéno- et alcoxysilanes sont les plus régulièrement employés. En effet, ces organosilanes, de formule générale $\text{R}'\text{-Si}(\text{R})_3$, sont composés d'un groupement R hydrolysable (halogénure ou alcoyle) qui réagit avec une ou plusieurs fonction(s) hydroxyle(s) du titane pour conduire à la formation de liaisons Ti-O-Si et d'un groupement R' porteur d'une fonction d'intérêt. Cette réaction donne naissance à deux types de structures possibles avec le TiO_2 : monodentate ou bidentate (Figure I.7).

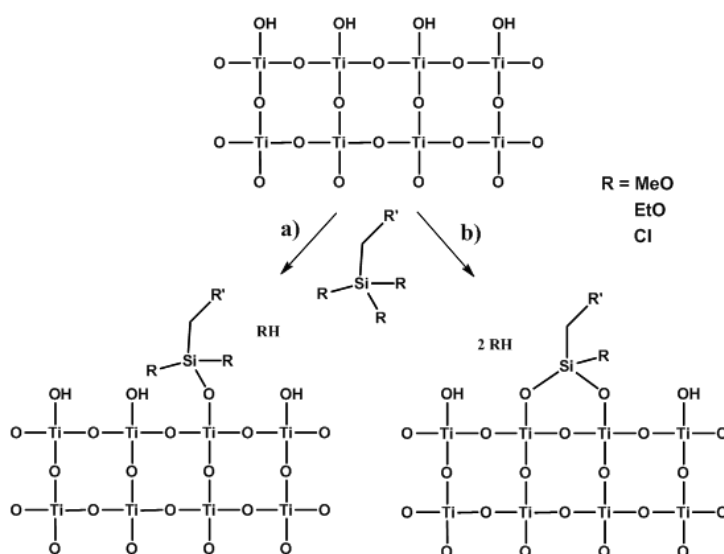


Figure I.7: Greffage de silane sur une surface de titane selon une structure monodentate (a) et bidentate (b)

La grande richesse de ces ancres réside dans la possibilité d'introduire un groupement fonctionnel (R') à la surface du substrat permettant ainsi une post-fonctionnalisation. Dans cette démarche, l'utilisation du 3-aminopropyltriéthoxysilane (APTES) est incontestablement

l'organosilane le plus fréquemment utilisé ⁴¹. En effet, ce composé permet d'introduire des fonctions de type amine primaire qui peuvent être ensuite exploitées pour greffer des molécules d'intérêts biologiques ⁴³.

Ainsi, dans une problématique cardio-vasculaire, l'équipe de Huang ⁴⁰ a exploité les propriétés d'ancrage de l'APTES afin de greffer de l'héparine et de la fibronectine sur des surfaces de titane pour améliorer l'hémocompatibilité et l'endothélialisation des substrats. D'autres molécules d'intérêts biologiques ont également pu être greffées par cette stratégie comme par exemple la cystéine ⁴⁴, des motifs RGD (Arginine-Glycine-Aspartate) ⁴⁴ ou d'autres types de peptides ⁴⁵.

Très récemment, Godoy-Gallardo *et al.* ont exploité cette stratégie pour introduire des motifs maléimide en surface et immobiliser des peptides capables de réduire l'adhésion bactérienne ainsi que la formation de biofilms sur le titane ⁴⁶ (Figure I.8). Dans ce cas, c'est la réaction de type « thiol-ène » qui a été utilisée pour opérer le greffage covalent en surface.

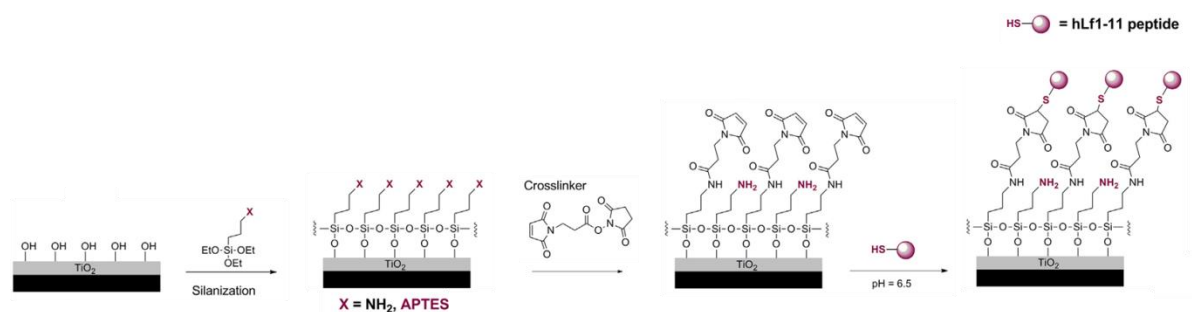


Figure I.8: Stratégie de fonctionnalisation permettant le greffage de peptides sur des surfaces de titane au moyen de l'APTES (adapté de ⁴⁶)

Enfin, des motifs polymérisables tels des fonctions acrylate (acrylate de 3-(trichlorosilyl)propyle) et méthacrylate (méthacrylate de 3-(triméthoxysilyl)propyle) ⁴⁷ ou encore des dérivés de silane porteurs d'un amorceur de polymérisation radicalaire par transfert d'atome (Si-ATRP) ⁴⁸ ont pu être immobilisés sur le titane pour générer des films polymères en surface.

Toutefois, la fonctionnalisation des surfaces de titane par les dérivés de silane s'effectue généralement dans des solvants anhydres de type toluène, *o*-xylène et très fréquemment à chaud ^{46, 49-50}. En effet, la présence d'eau engendre la polymérisation des

silanes et la formation d'agglomérats conduisant à la formation de surfaces non homogènes⁵¹⁻⁵². De plus, les revêtements à base de silane sont relativement instables en milieu aqueux⁵³⁻⁵⁴ et s'hydrolysent assez facilement à pH physiologique en moins d'une semaine⁵⁵⁻⁵⁷.

I.4.2.b. Les acides carboxyliques et les dérivés d'acides phosphoniques

Les acides carboxyliques, et plus particulièrement les acides aliphatiques à chaînes courtes⁵⁸, s'absorbent fortement à la surface du titane. L'acide formique a d'ailleurs été utilisé à de nombreuses reprises afin d'étudier les modes d'adsorption des acides carboxyliques sur le titane⁵⁹⁻⁶¹. La fonctionnalisation peut alors donner naissance à des structures monodentates ou bidentates, toutefois il a été démontré que de nombreux acides carboxyliques tels que les acides formique, acétique mais également des acides aminés (glycine, proline) s'adsorbent sur le titane sous la forme de ponts bidentates en raison d'une plus grande stabilité énergétique⁶²⁻⁶⁴. Malgré le côté attrayant de cette stratégie de fonctionnalisation du titane, cette dernière reste très peu utilisée car les liaisons esters formées restent hydrolysables en milieu aqueux et/ou alcalin⁶⁵.

Une meilleure stabilité à l'hydrolyse peut être obtenue en employant des ancres chimiques à base d'acides ou d'esters phosphoniques⁶⁶⁻⁶⁸. En effet, au contact de surfaces de titane, les acides phosphoniques et dérivés forment des liaisons de type Ti-O-P deux fois plus fortes que celle formées avec les acides carboxyliques⁶⁹. Le greffage des acides phosphoniques sur l'oxyde de titane s'opère alors par la formation de structures monodentates et/ou bidentates à travers des réactions de déshydratation (Figure I.9).

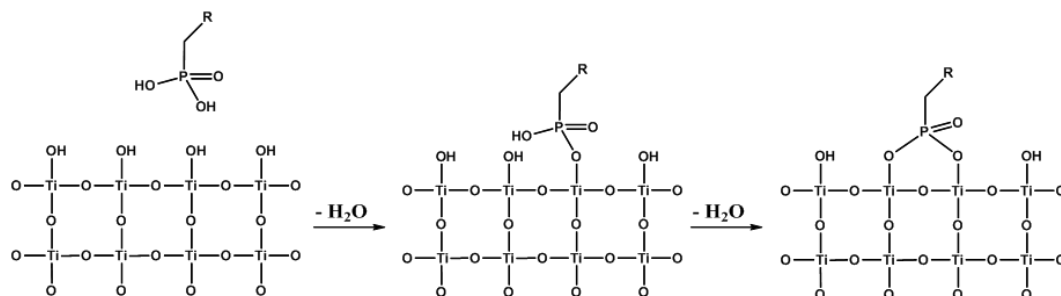


Figure I.9: Greffage d'acides phosphoniques sur une surface de titane par réaction de déshydratation

Les conditions de greffage des acides phosphoniques sont relativement souples puisque la fonctionnalisation s'effectue en général par simple immersion du matériau dans une solution de l'acide considéré aussi bien en milieu organique ⁷⁰ qu'en milieu aqueux ⁷¹. Toutefois, pour rendre ce greffage plus efficace, il est nécessaire de chauffer à reflux le milieu réactionnel lors de la fonctionnalisation ou bien d'effectuer un recuit du substrat après immobilisation ($T > 100^{\circ}\text{C}$) afin de favoriser les réactions de déshydratation ⁷². Les acides phosphoniques ont ainsi été très largement employés dans la modification de surfaces métalliques telles que les oxydes métalliques (oxydes d'aluminium, de cuivre, d'argent...) et certains alliages (acier, cobalt-chrome, titane...) ⁷³. Cette stratégie a ainsi permis d'introduire une large gamme de fonctions chimiques telles que des acides carboxyliques ⁷⁴, des amines ⁷⁵ ou des thiols ⁷⁶ qui ont été exploitées pour modifier les propriétés physico-chimiques de surface des substrats.

Par exemple, l'équipe de Schwartz ⁷⁷ a introduit des groupements maléimide à la surface du titane grâce à une ancre à base d'acide phosphonique dotée d'une fonction alcool (Figure I.10). Les plateformes ont ainsi permis d'immobiliser des motifs RGD à travers la réaction de type thiol-ène en vue d'améliorer l'ostéo-intégration des matériaux.

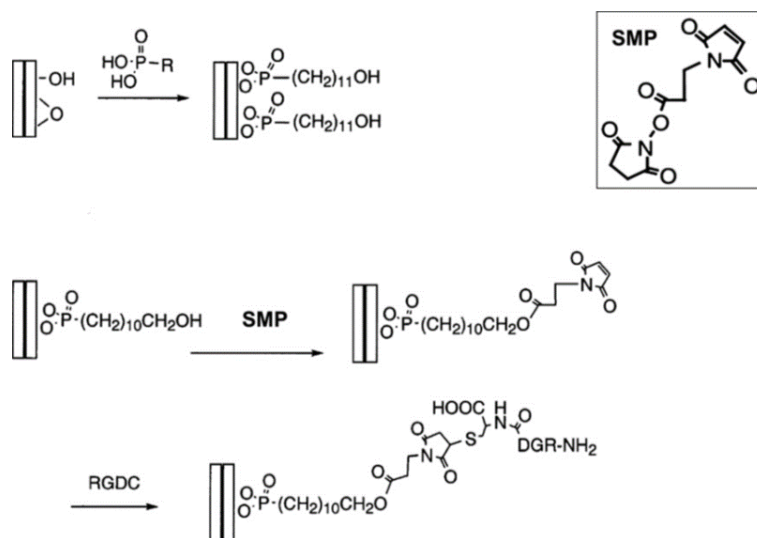


Figure I.10 : Stratégie de fonctionnalisation permettant le greffage de motifs RGD sur des surfaces de titane au moyen d'une ancre à base d'acide phosphonique (adapté de ⁷⁷)

L'utilisation des dérivés d'acides phosphoniques présente néanmoins des inconvénients. En effet, une fonctionnalisation optimale des surfaces de titane implique l'emploi de températures élevées ($> 100^{\circ}\text{C}$), rendant impossible l'immobilisation simultanée de molécules

biologiques sensibles à la température. De plus, contrairement aux acides carboxyliques facilement disponibles, les acides phosphoniques fonctionnalisés nécessitent des synthèses relativement contraignantes qui requièrent la plupart du temps de longues mises en œuvre avec des étapes de protection et de déprotection ⁷⁸.

I.4.2.c. Les catéchols

Les catéchols (ou 1,2-dihydroxybenzène en nomenclature IUPAC) sont des motifs aux excellentes propriétés adhésives que l'on retrouve dans certaines molécules naturelles présentes chez les organismes vivants. Ces motifs, qui apparaissent en grande proportion dans les protéines adhésives sécrétées par les moules marinières (mussel adhesive protein MAP), jouent un rôle primordial dans le mécanisme d'adhésion des byssus de ces mollusques sur les surfaces ⁷⁹ (Figure I.11).

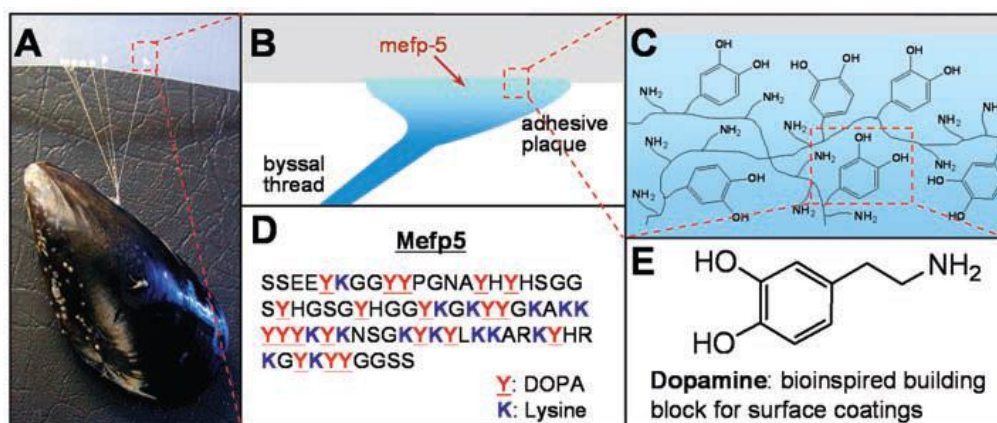


Figure I.11: Mise en évidence des excellentes propriétés adhésives des moules sur les surfaces grâce notamment à la sécrétion de la protéine mep5 (B) riche en motifs catéchols (C, D, E) ⁷⁹

Les excellentes propriétés adhésives de ces molécules ont d'ailleurs été utilisées à de nombreuses reprises pour fonctionnaliser efficacement divers matériaux inorganiques et organiques tels que la silice ⁸⁰, des surfaces métalliques ⁸¹⁻⁸², céramiques ⁸³ mais également certains polymères hydrophobes comme le PTFE ⁸⁴. L'un des atouts majeurs de cette ancre repose sur les conditions utilisées pour l'immobilisation qui font intervenir une simple étape de dip-coating dans un solvant protique (le plus souvent H₂O voire MeOH) à température ambiante.

Concernant la fonctionnalisation des surfaces à base de titane, des études réalisées par microscopie à force atomique ont mis en évidence le rôle essentiel joué par les catéchols dans le processus d'immobilisation. En effet, il a été démontré qu'une force de 805 ± 131 pN était nécessaire pour rompre les interactions existantes entre le motif catéchol et la surface de titane, ce qui souligne la robustesse du greffage ⁸⁵. Bien que le mécanisme spécifique d'adhésion de ces motifs sur certains substrats ne soit pas totalement connu ⁸⁶, il semblerait que les catéchols adhèrent aux surfaces de titane par chélation et/ou qu'ils interagissent très fortement avec la surface à travers des interactions supramoléculaires (liaisons hydrogènes) ⁸⁷⁻⁸⁸ (Figure I.12).

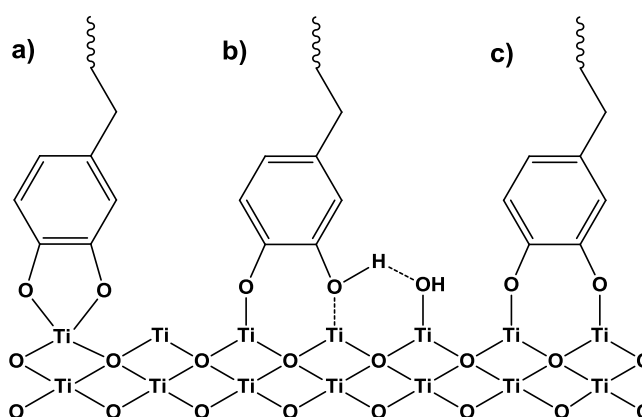


Figure I.12: Modes de greffage des catéchols sur une surface de titane selon une structure bidentate (a), monodentate avec liaison hydrogène avec un hydroxyle voisin (b) et pont bidentate (c)

Par ailleurs, les complexes formés entre les matériaux à base de titane et les catéchols s'avèrent être stables en milieu aqueux dans une gamme de pH comprise entre 3 et 10, avec un maximum d'absorption situé entre pH = 6 et pH = 8 ⁸⁹. De plus, grâce à l'électro-activité du motif catéchol, il est possible de vérifier l'efficacité du greffage par de simples analyses électrochimiques et d'estimer la densité de greffage en considérant notamment la quantité de charge nécessaire à l'oxydation des espèces ⁹⁰⁻⁹¹ (Figure I.13).

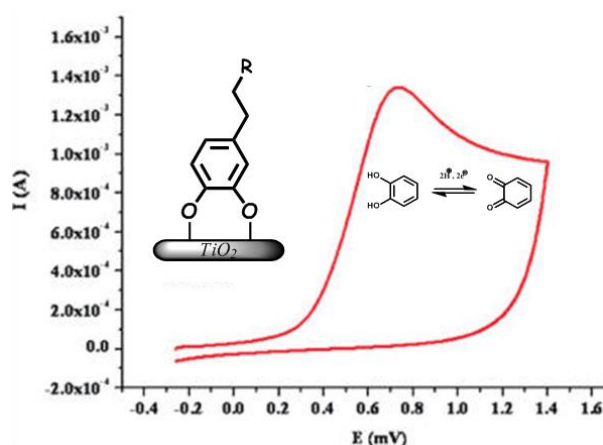


Figure I.13: Voltampérogramme cyclique d'une surface de titane modifiée à l'aide d'une ancre catéchol fonctionnalisée (adapté de ⁹¹)

Parmi les différents motifs catéchols fonctionnalisés disponibles commercialement, la dopamine (3,4-dihydroxyphényl éthylamine) est sans doute la plus employée. En effet, cette ancre bénéficie, outre ses excellentes propriétés d'ancrage, d'une chimie extrêmement riche (Figure I.14).

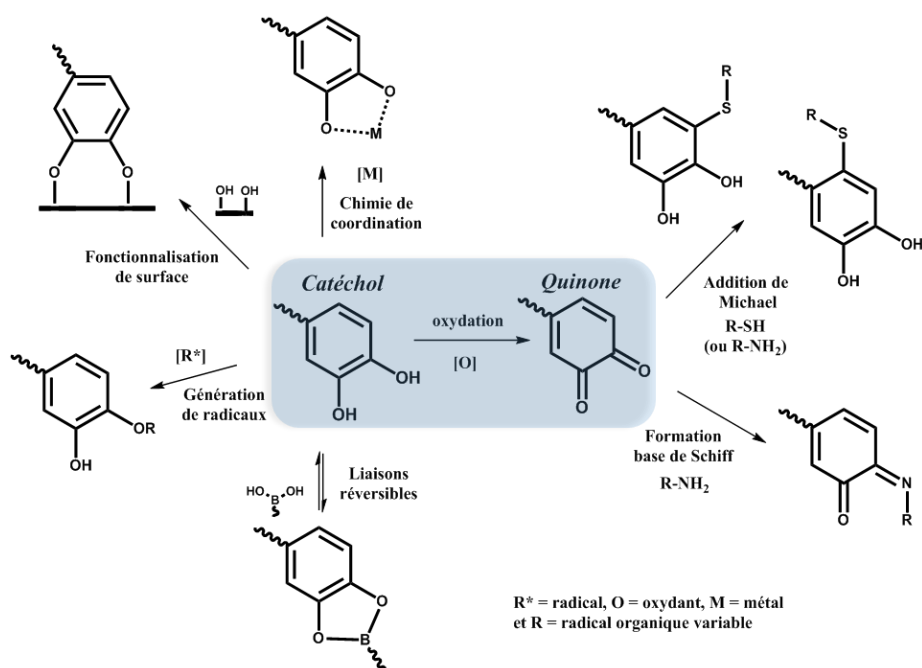


Figure I.14: Représentation des principales propriétés des catéchols et de la dopamine

Comme les dérivés de catéchol, la dopamine i) forme des complexes avec divers cations métalliques tels que le fer, le cuivre, le zinc ou le titane ⁹², ii) fournit des assemblages réversibles avec les acides boroniques ⁹³⁻⁹⁴, iii) s'oxyde sous la forme quinone et devient

réactive à l'égard des nucléophiles tels que les amines et les thiols (réaction de Michaël)^{79, 95}. De plus, le principal avantage de la dopamine réside dans la présence d'une fonction amine primaire au sein de sa structure susceptible d'être modifiée chimiquement et capable d'introduire une entité réactive à travers la formation de liaisons amides. Ainsi, ses caractéristiques chimiques combinées à ses excellentes propriétés d'adhésion font de la dopamine une molécule de choix pour la modification chimique de surfaces à base de titane.

II. La dopamine : un outil de choix pour la fonctionnalisation chimique du titane

Dans cette partie, nous verrons par quels moyens la molécule de dopamine peut être exploitée pour insérer un ou plusieurs motifs catéchols sur les architectures (macro)moléculaires susceptibles de conduire à la fonctionnalisation du titane. Nous ne nous focaliserons sur son aptitude à former des films de polydopamine hautement adhésifs sur diverses surfaces que dans la partie III consacrée à l'étude bibliographique.

II.1. La fonctionnalisation du titane par la dopamine et des (macro)molécules dérivées de dopamine

II.1.1. Fonctionnalisation du titane par la dopamine

Tout d'abord, la réactivité de la fonction amine primaire de la dopamine peut être exploitée pour fonctionnaliser le titane en deux étapes. De la Garza *et al.* ont, par exemple, immobilisé l'avidine sur des nanoparticules de titane fonctionnalisées par une monocouche de dopamine en réalisant une réaction de couplage entre la fonction amine de la dopamine greffée et la fonction acide carboxylique de la biotine⁹⁶ (Figure I.15).

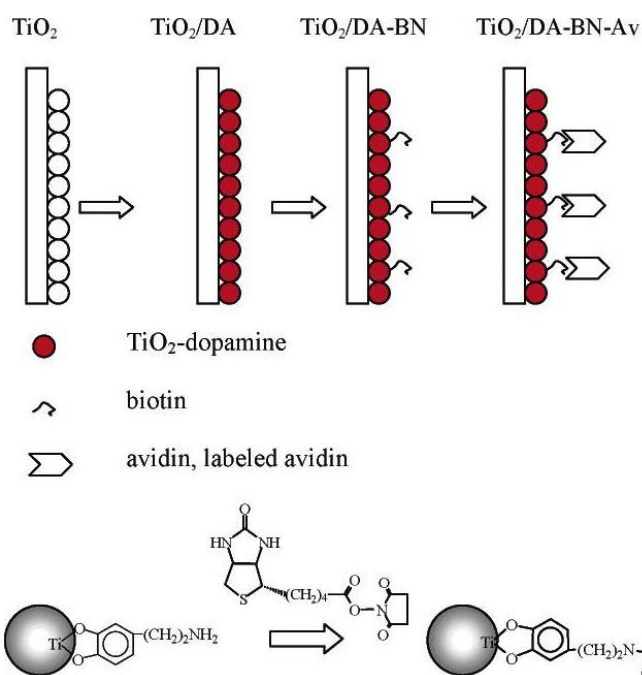


Figure I.15 : Représentation de la stratégie utilisée pour immobiliser l'avidine sur des nanoparticules de titane ⁹⁶

Selon la même stratégie, l'équipe de Neoh a réussi à greffer de façon covalente un dérivé de chitosan sur du titane afin d'obtenir des surfaces aux propriétés anti-bactériennes ⁹⁷ (Figure I.16). Cette étude a également montré que ces films présentent une meilleure stabilité en milieu physiologique qu'un même revêtement préparé à l'aide d'une ancre à base de silane (APTES).

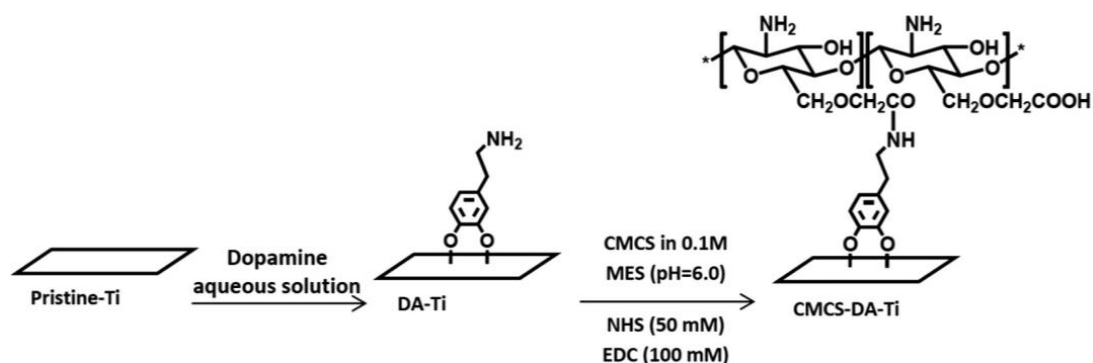


Figure I.16 : Illustration du greffage d'un dérivé de chitosan sur une surface de titane par l'intermédiaire d'une monocouche de dopamine ⁹⁷

Toutefois, en conditions oxydantes, la dopamine peut être soumise au phénomène de cyclisation intramoléculaire (voir partie III.2.), nécessitant ainsi de travailler sous atmosphère inerte, à l'abri de la lumière et à pH contrôlé.

II.1.2. Fonctionnalisation du titane par des (macro)molécules dérivées de dopamine

Un certain nombre de dérivés préparés à partir de la dopamine ont été synthétisés ces dernières années dans l'objectif de fonctionnaliser divers substrats en une ou deux étapes ^{87, 98}. En effet, l'utilisation d'ancres dopamine fonctionnalisées par des groupements adaptés permet d'envisager la post-fonctionnalisation des substrats par des molécules incorporant le groupement complémentaire ou *via* des processus de polymérisation. Ainsi, la dopamine a été utilisée, par exemple, pour introduire des fonctions réactives de type azoture ou maléimide (Figure I.17, A et B) à la surface du titane. Ces fonctions, comme nous le verrons ci-après (partie IV. de l'étude bibliographique), ont ensuite permis d'immobiliser efficacement des chaînes macromoléculaires sur des surfaces de titane en mettant en œuvre la réaction de Huisgen catalysée au cuivre I ⁹¹ ou la réaction de thiol-ène ⁹⁹.

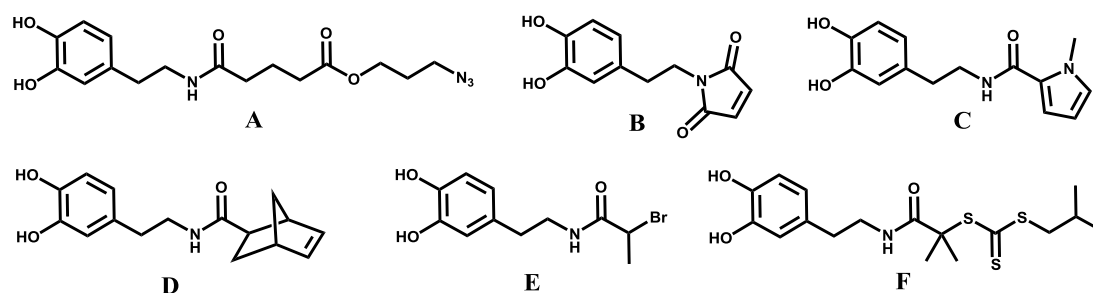


Figure I.17 : Exemples de dérivés de dopamine employés pour la fonctionnalisation de surfaces

Par ailleurs, des dérivés de dopamine originaux, électropolymérisables ¹⁰⁰ (Figure I.17, C), intégrant des groupements capables de générer des polymérisations par ROMP ¹⁰¹⁻¹⁰² (Figure I.17, D), des groupements amorceurs de polymérisation ATRP ¹⁰³⁻¹⁰⁴ (Figure I.17, E) ou encore des agents de transfert de type RAFT ⁸¹ (Figure I.17, F) ont été synthétisés pour fonctionnaliser le titane à l'aide de polymères à architectures contrôlées. Certains de ces aspects seront détaillés dans la partie suivante.

II.2. La fonctionnalisation du titane par des polymères modifiés à l'aide du motif dopamine

Les propriétés d'adhésion des dérivés de dopamine ont également été exploitées pour réaliser le greffage de polymères sur le titane dans l'objectif de modifier les propriétés de

surfaces du matériau telles que l'affinité avec les cellules, la résistance à la corrosion ou la balance hydrophile/hydrophobe ⁹⁸. Dans ce cadre, les deux approches « graft to » (greffage du polymère synthétisé sur la surface) et « graft from » (greffage du polymère à partir de la surface) ont été employées. Suivant l'application ciblée, la dopamine a été utilisée pour insérer un ou plusieurs motifs catéchols sur la charpente macromoléculaire et ceci de manière latérale ou en extrémité des chaînes.

II.2.1. Greffage de polymères incorporant le motif catéchol en chaîne latérale

Dans le cadre de la fonctionnalisation de matériaux à base de titane par des polymères fonctionnalisés sur la chaîne latérale, l'approche la plus fréquemment utilisée consiste à immobiliser en surface un polymère incorporant des motifs catéchols et des fonctions réactives qui seront exploitées pour la fonctionnalisation. Ainsi, l'équipe de Tremel ¹⁰⁵ a réalisé par polymérisation radicalaire, la synthèse d'un poly (acrylate de pentafluorophénol) dont la réactivité à l'égard des fonctions amines a été exploitée pour introduire la dopamine nécessaire au greffage, la décylamine et une sonde fluorescente. Le tribloc formé a été greffé à la surface de nanoparticules de titane qui présentent ainsi des propriétés de fluorescence mais surtout une meilleure solubilité dans les solvants organiques.

Selon la même stratégie, l'équipe de Zentel a préparé par polymérisation RAFT, un polymère dibloc composé d'une part, d'un bloc de méthacrylate de méthyle ou de 2-(méthoxyéthoxy)éthyle et d'autre part, d'un bloc d'acrylate de pentafluorophénol. Après fonctionnalisation du dibloc par la dopamine, ce copolymère a permis la fonctionnalisation de nanoaiguilles de TiO₂ pour la conception de nouveaux cristaux liquides ¹⁰⁶.

Plus récemment, Xu *et al.* ont élaboré une plateforme de titane « clickable » par greffage d'un dibloc bifonctionnel ¹⁰⁷. Pour ce faire, un copolymère incorporant des motifs catéchols et des groupements propargyliques a été préparé par polymérisation RAFT puis greffé sur le titane. Diverses molécules incorporant une fonction azoture telles que des dérivés de sucres, des sondes fluorescentes ou encore la biotine ont pu être ainsi immobilisées en employant la cycloaddition [3+2] de Huisgen catalysée au cuivre I (Figure I.18).

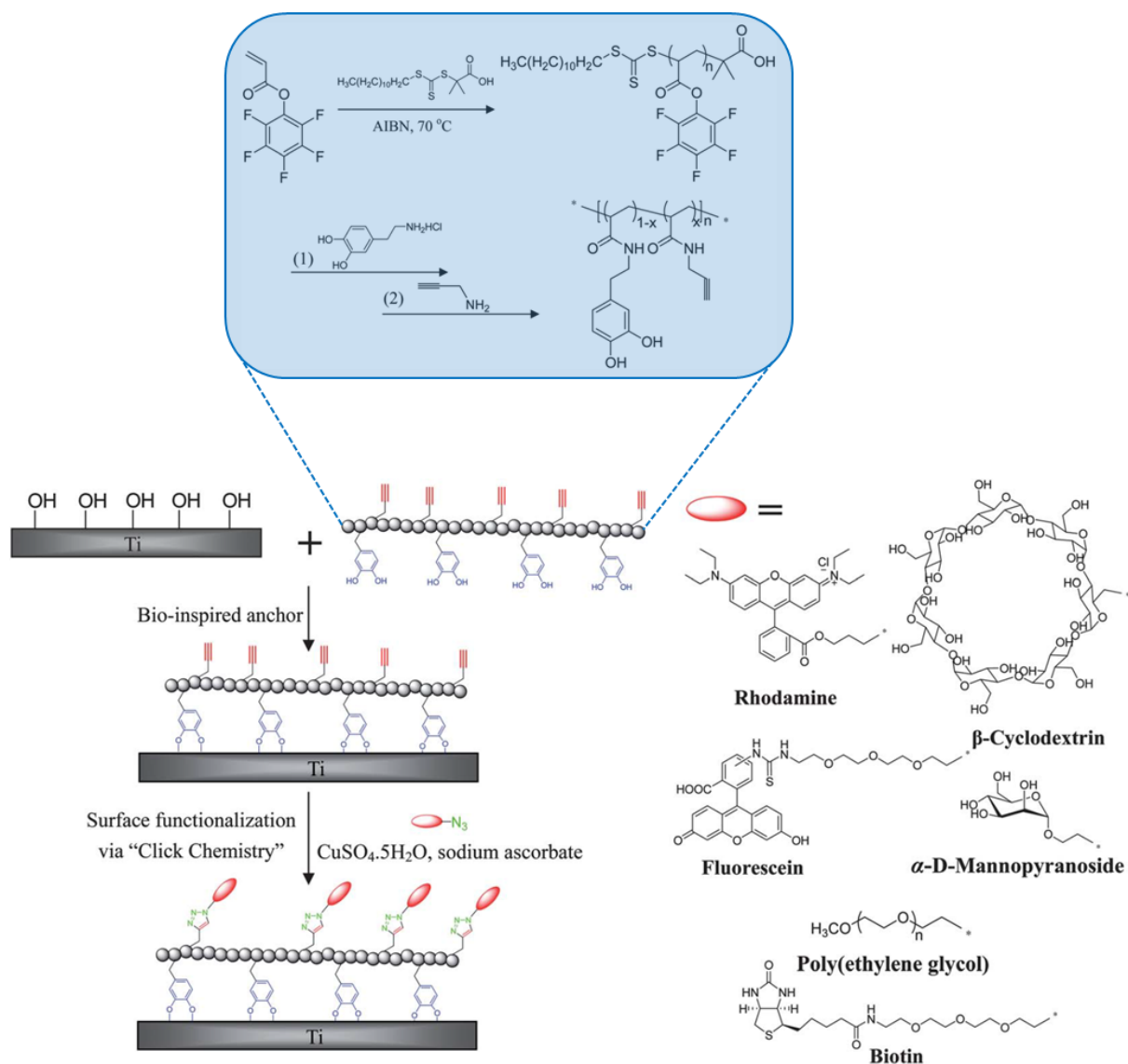


Figure 1.18 : Représentation de la fonctionnalisation de surfaces de titane par greffage d'un copolymère bi-fonctionnel permettant l'immobilisation de molécules par l'intermédiaire de la cycloaddition [3+2] de Huisgen catalysée au cuivre I (adapté de ¹⁰⁷)

Enfin, nous pouvons également citer les travaux de Zhang *et al.* qui ont réussi à concevoir des surfaces de titane résistantes à l'adhésion de cellules ostéoblastes par greffage d'un copolymère de type poly (éther glycidylique) d'éthoxy éther intégrant des groupements catéchols et alcènes. Dans cette étude, divers composés porteurs de fonctions thiols ont été immobilisés par réaction de thiol-ène photoactivée (Figure I.19).

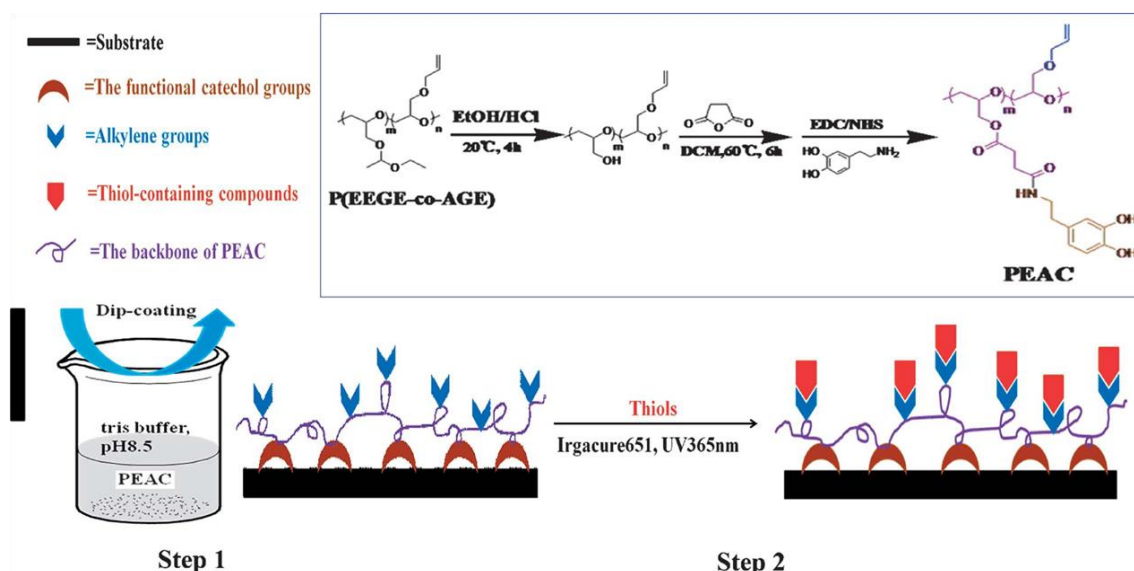


Figure I.19 : Représentation de la fonctionnalisation de surfaces de titane par greffage d'un copolymère bi-fonctionnel permettant l'immobilisation de molécules par l'intermédiaire de la réaction de thiol-ène photoactivée

II.2.2. Greffage de polymères incorporant le motif catéchol en extrémité de chaîne

Etonnamment, l'élaboration de polymères modifiés en extrémité de chaîne par la dopamine et permettant la fonctionnalisation du titane, a beaucoup moins été étudiée dans la littérature. Nous pouvons néanmoins citer les travaux évoquant la préparation de poly (éthylène glycols) (PEG) intégrant le motif catéchol pour la fonctionnalisation d'oxydes métalliques, dont le titane ¹⁰⁸. Dans ces études, plusieurs polymères à base de PEG incorporant une fonction acide carboxylique activée par le *N*-hydroxysuccinimide (NHS) en extrémité de chaîne ont été préparés puis fonctionnalisés avec différents motifs dérivés de dopamine (Figure I.20).

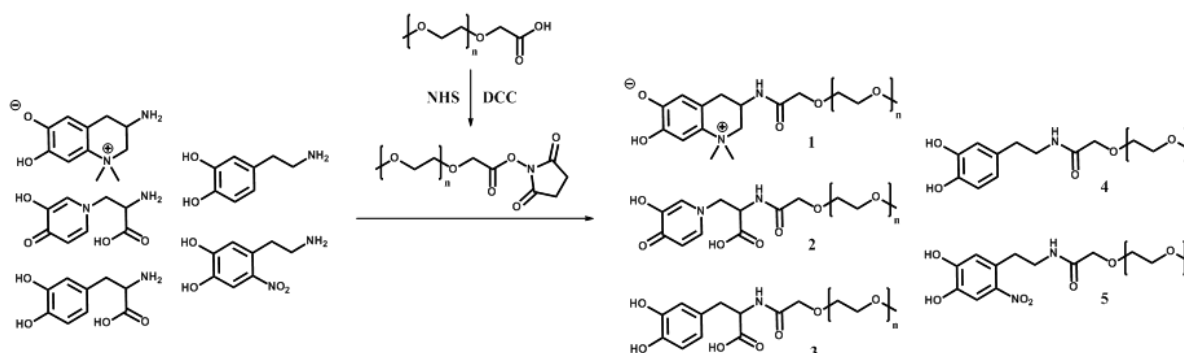


Figure I.20 : Mode de préparation de PEG incorporant des dérivés de dopamine en extrémité de chaîne

Ces études ont, par ailleurs, démontré que le poly (éthylène glycol) porteur d'un groupement nitro-catéchol (Figure I.20, composé **5**) était particulièrement intéressant dans la mesure où il permet un greffage dense de PEG sur les substrats et que le revêtement obtenu est plus résistant à l'oxydation. Ces résultats ont été confirmés par l'équipe de Spencer qui a montré que des polymères fluorés élaborés à partir de nitro-dopamine peuvent former des films très stables sur des substrats à base de titane ¹⁰⁹.

Les techniques de polymérisation radicalaire contrôlée ont également été employées pour synthétiser des polymères fonctionnalisés en extrémité de chaîne par le motif catéchol. En effet, des amorceurs de polymérisation ATRP préparés à partir de la dopamine furent utilisés pour le greffage de polymères sur divers substrats selon une approche « graft from » ¹⁰². L'équipe de Messersmith, pionniers de cette stratégie, a par exemple réussi à générer la polymérisation de méthacrylates d'oligo (éthylène glycols) à partir d'une surface de titane préalablement modifiée ¹⁰³. Toutefois, la forte complexation du cuivre (II) par le motif catéchol ⁹² ne permet pas d'envisager la synthèse directe en solution de tels polymères puis leur greffage. En effet, une étape de protection des fonctions hydroxyles des catéchols est nécessaire pour la polymérisation et donc une étape de déprotection est ensuite requise pour le greffage du polymère sur la surface du matériau.

Cette approche a tout de même été exploitée par l'équipe de Jiang qui a réussi à générer la polymérisation d'un monomère zwitterionique (*N*-(3-sulfopropyle)-*N*-(méthacryloxyéthyle)-*N,N*-diméthylammonium bétaine) à partir d'un amorceur ATRP à base de dopamine ¹¹⁰. Pour ce faire, les hydroxyles de l'unité catéchol ont été protégées par un motif *tert*-butyldiméthylsilyle et la déprotection réalisée par l'emploi de fluorure de tétra *n*-butylammonium ($\text{Bu}_4\text{N}^+\text{F}^-$) (Figure I.21). Les propriétés d'ancrage de ces polymères ont notamment ensuite été exploitées pour concevoir des brosses de polymères sur divers substrats, dont le titane. Les surfaces obtenues ont montré de bonnes propriétés antibactériennes contre des bactéries de genre *Pseudomonas*, notamment souvent responsables de maladies nosocomiales.

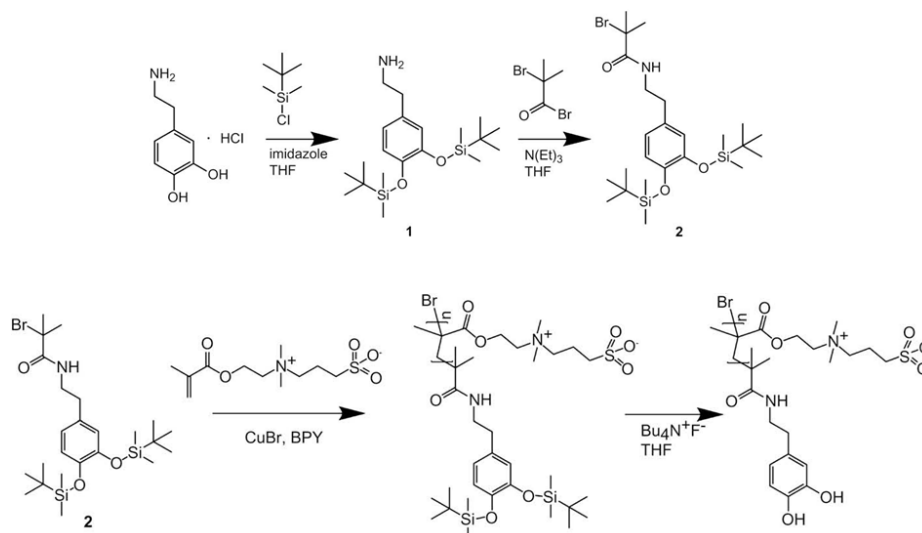


Figure I.21 : Elaboration d'un polymère zwitterionique préparé à partir d'un amorceur ATRP à base de dopamine

Pour éviter l'utilisation de groupements protecteurs, notre équipe a très récemment proposé une voie d'accès à ces polymères par l'utilisation de la polymérisation RAFT. En effet, un agent de transfert de type trithiocarbonate incorporant une entité dopamine a été synthétisé et a permis la génération de polymères parfaitement définis à partir de monomères usuels tels que l'acrylate de *tert*-butyle, le *N*-isopropylacrylamide et le styrène. Des brosses de polymères ont ainsi été immobilisées avec succès sur des surfaces de titane par stratégie « graft-to » avec des taux de recouvrement importants (10^{12} - 10^{13} molécules.cm⁻²)⁸¹ (Figure I.22).

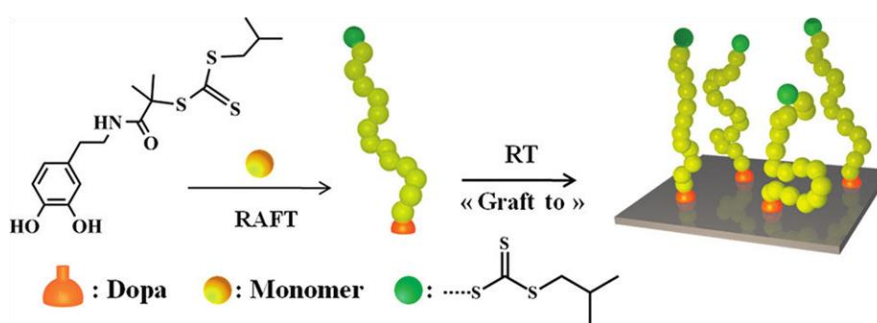


Figure I.22 : Principe de la fonctionnalisation de surfaces de titane par utilisation de polymères parfaitement définis fonctionnalisés en extrémité de chaîne par un motif dopamine⁸¹

Par ailleurs, cet agent de transfert a également été exploité par la suite pour fonctionnaliser des nanoparticules de fer par un copolymère hydrophile incorporant des entités maléimide capables d'être engagées dans des réactions de type thiol-ène¹¹¹.

III. La polydopamine, un polymère bio-inspiré aux propriétés adhésives exceptionnelles

Outre la possibilité d'incorporer la dopamine dans des polymères parfaitement définis soit sur la chaîne latérale soit en extrémité de chaîne, la dopamine possède la remarquable faculté de générer des films de polydopamine (PDA) en milieu aqueux dans des conditions de pH légèrement basiques.

III.1. Généralités

Les moules marinières présentent la capacité de s'accrocher robustement sur les surfaces rocheuses en milieu marin même en conditions difficiles. Ces dernières années, cette remarquable propriété a attiré la convoitise de nombreux scientifiques qui ont notamment cherché à mieux comprendre les mécanismes à l'origine de cette forte adhérence. Ainsi, en 1981, en étudiant la composition des protéines adhésives sécrétées par les moules (MAPs), Waite et Tanzer ont identifié le motif catéchol comme principal responsable des excellentes propriétés d'adhésion de ces mollusques sur les surfaces ¹¹². Plus particulièrement, il a été démontré que l'acide aminé 3,4-dihydroxyphénylalanine (DOPA), présent jusqu'à 30% dans ces MAPs (formées d'une séquence d'environ 5 à 15 acides aminés), était l'élément principalement à l'origine de cette extraordinaire adhésion ¹¹³⁻¹¹⁴ (Figure I.23).

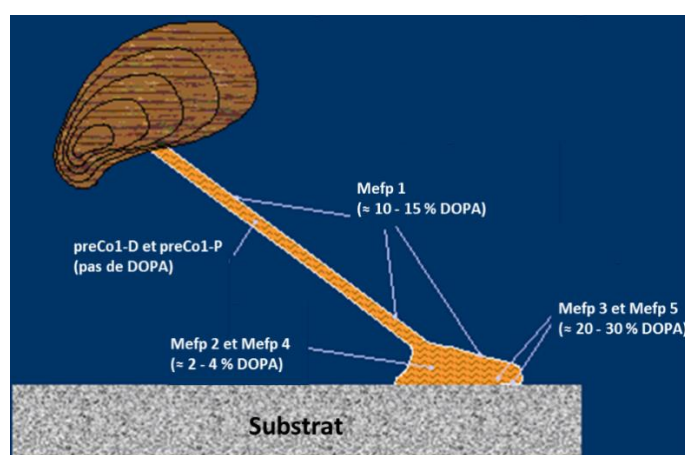


Figure I.23 : Représentation schématique de la localisation et de la proportion de DOPA contenue dans les protéines adhésives sécrétées par les moules (mefp pour mytilus edulis foot protein) (adapté de ¹¹³⁻¹¹⁴)

En 2007, inspiré par ces découvertes, l'équipe de Messersmith a développé une approche biomimétique basée sur la formation d'un film de polymère hautement adhésif de polydopamine (PDA) sur une large gamme de matériaux organiques, inorganiques, hydrophiles ou hydrophobes tels que les surfaces métalliques (Au, Ag, Pt, Cu, acier inoxydable, NiTi), les oxydes (TiO_2 , SiO_2 , Al_2O_3 , Nb_2O_5), les matériaux céramiques (verre, hydroxyapatite) et également certains polymères (polystyrène, polyéthylène, polydiméthylsiloxane, polytétrafluoroéthylène...) ⁷⁹.

De plus, la polydopamine possède une réactivité latente à l'égard des nucléophiles qui a été exploitée dans de nombreux domaines d'application tels que le biomédical ¹¹⁵, les nanotechnologies ¹¹⁶⁻¹¹⁷, l'énergie ¹¹⁸⁻¹¹⁹, le traitement de l'eau ¹²⁰⁻¹²¹ ou encore la détection/reconnaissance ¹²²⁻¹²³.

III.2. Préparation et mécanisme

En condition légèrement basique ($\text{pH} > 7,5$), la dopamine s'oxyde spontanément au contact de l'oxygène de l'air (qui joue le rôle d'oxydant) sous forme de quinone puis laisse rapidement place à la formation d'un réseau réticulé de polydopamine. La fonctionnalisation de substrats par le film adhésif de polydopamine s'opère, quant à elle, par simple immersion des échantillons dans une solution tamponnée à $\text{pH} = 8,5$ de dopamine à une concentration de 2 mg.mL^{-1} de tampon Tris (trishydroxyméthylaminométhane). L'épaisseur du film de PDA greffé sur les surfaces peut être contrôlée en faisant varier le temps d'immersion dans la solution de dopamine. Cependant après 24 heures de traitement dans ces conditions, une épaisseur maximale de 50 nm ne peut être dépassée ⁷⁹. Afin d'augmenter l'épaisseur du film immobilisé, il est possible de faire varier la température ¹²⁴, la concentration initiale en dopamine ¹²⁵ ou d'utiliser un oxydant autre que l'oxygène ¹²⁶. Parallèlement, il est également possible d'obtenir la polydopamine par oxydation enzymatique ¹²⁷ ou bien par électro-polymérisation du monomère ¹²⁸.

Toutefois, le mécanisme conduisant à la formation de la polydopamine reste relativement complexe en raison notamment de la génération de nombreux intermédiaires réactionnels. Dans un premier temps, lors de leurs travaux sur la polydopamine ⁷⁹, Messersmith *et al.* ont proposé un mécanisme basé sur l'oxydation et la cyclisation

intramoléculaire de la dopamine, le polymère étant généré par couplage aryle-aryle (C-C) entre deux unités dihydroxyindole (DHI) ou entre une unité DHI et une dopamine non cyclisée (Figure I.24).

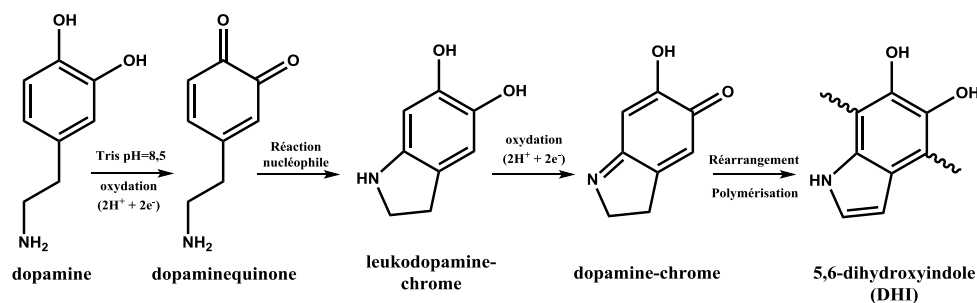


Figure I.24 : Mécanisme de polymérisation de la dopamine proposé par Messersmith et al. ⁷⁹

D'autres études ont démontré la présence, au sein du film de polydopamine, de structures plus complexes intégrant des motifs dérivés de pyrroles ¹²⁹⁻¹³⁰.

Par la suite, l'équipe d'Ischia ¹³¹ a confirmé ces hypothèses et a suggéré que la PDA est constituée de trois principales structures parmi lesquelles se trouvent des unités non cyclisées (catécholamines), cyclisées (dérivés d'indoles) et des groupements d'acides pyrrole-carboxyliques (Figure I.25). Ces derniers semblent être obtenus par rupture en condition oxydante des groupements catéchols présents au sein des unités DHI en raison de la génération de peroxyde d'hydrogène lors du procédé.

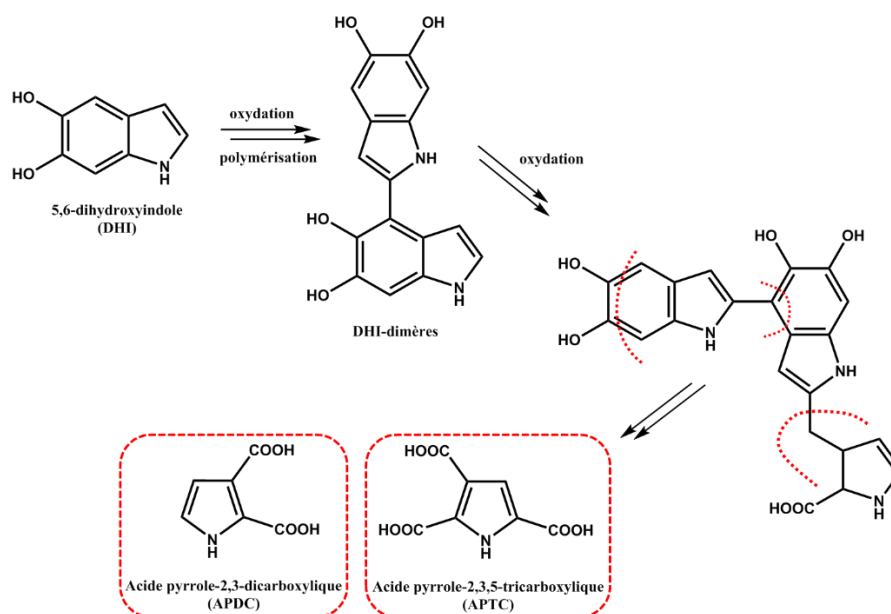


Figure I.25 : Mécanisme de polymérisation de la dopamine conduisant à la formation d'acides pyrrole-carboxylique selon d'Ischia et al. ¹³¹

Toutefois, Dreyer *et al.*¹³² ont récemment proposé une structure différente dans laquelle les espèces ne sont pas reliées entre elles de façon covalente mais par des interactions supramoléculaires de type liaisons hydrogènes, interactions π - π et des complexes à transfert de charges (Figure I.26).

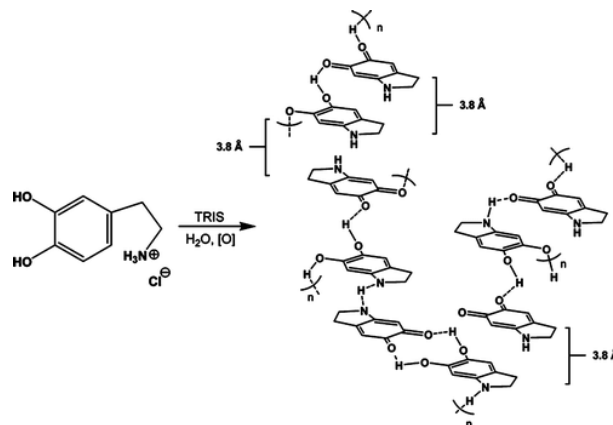


Figure I.26 : Structure dans laquelle la polydopamine est formée de dérivés indoles qui s'auto-assemblent au moyen de liaisons supramoléculaires¹³²

Enfin, Hong *et al.*¹³³ ont démontré la présence en quantité importante de trimères composés de deux unités dopamine et d'une unité DHI (5,6-dihydroxyindole). Ces motifs s'auto-assemblent sous forme de complexes stables et se retrouvent emprisonnés au sein du réseau réticulé de polydopamine (Figure I.27). Par ailleurs, les auteurs ont suggéré que ces trimères étaient à l'origine d'une cytotoxicité partielle du film de polydopamine.

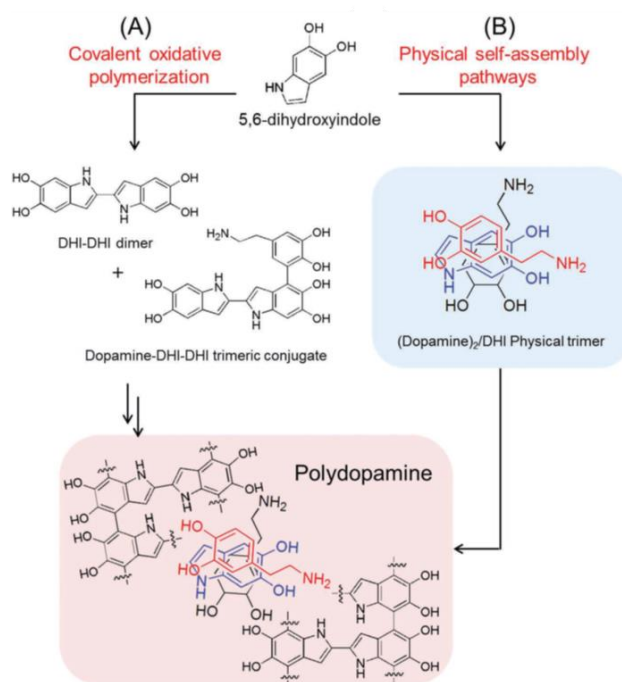


Figure I.27 : Structures du film de polydopamine selon Hong *et al.*¹³³

L'ensemble de ces études démontre la grande richesse du film de polydopamine qui, outre ses excellentes propriétés adhésives, concentre dans sa structure divers groupements fonctionnels réactifs pouvant être exploités pour la post-fonctionnalisation des substrats à base de titane ¹³⁴.

III.3. Exploitation de la réactivité latente de la PDA pour la fonctionnalisation du titane

La réactivité latente des films de polydopamine à l'égard des nucléophiles est incontestablement la plus exploitée pour le greffage de molécules d'intérêts ¹¹⁵. En effet, en conditions légèrement basiques, les groupements catéchols de la PDA sont oxydés en quinones qui sont très réactives à l'égard des fonctions amines et/ou thiols par addition nucléophile de type Michaël ou par formation de base de Schiff (Figure I.28).

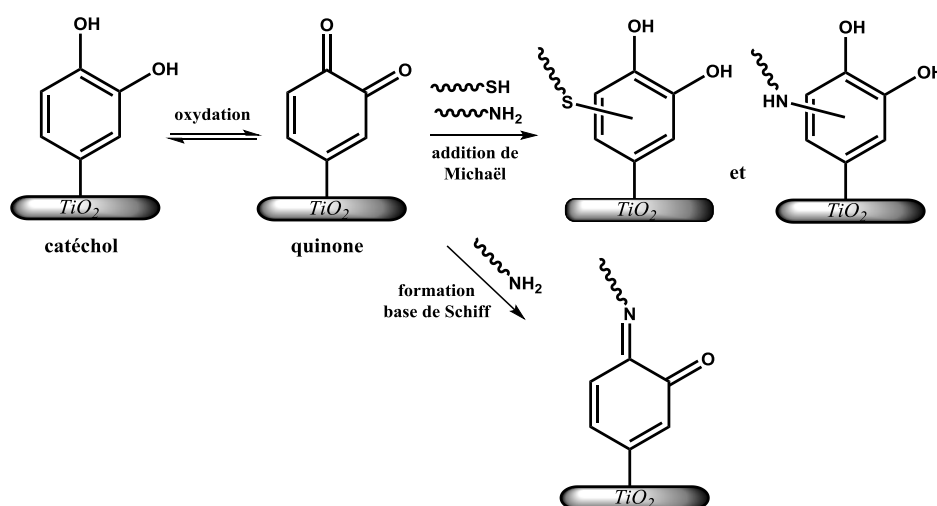


Figure I.28 : Utilisation de la réactivité latente de la polydopamine pour la fonctionnalisation du titane via des fonctions amines et/ou thiols

Cette stratégie a été largement employée dans le cas de la fonctionnalisation de biomatériaux à base de titane par diverses biomolécules ¹³⁵ telles que le chitosan ^{97, 136-137}, l'héparine ¹³⁸⁻¹³⁹, la gélatine ¹⁴⁰, le collagène ¹⁴¹, la sélénocystamine ¹⁴², les facteurs de croissance endothéliale ¹⁴³⁻¹⁴⁵, des protéines ¹⁴⁶⁻¹⁴⁷, ou bien encore certains peptides comme la cécropine B qui possède notamment des propriétés anti-bactériennes contre des bactéries de type *Staphylococcus aureus* ou encore *Escherichia coli* ¹⁴⁸ (Figure I.29).

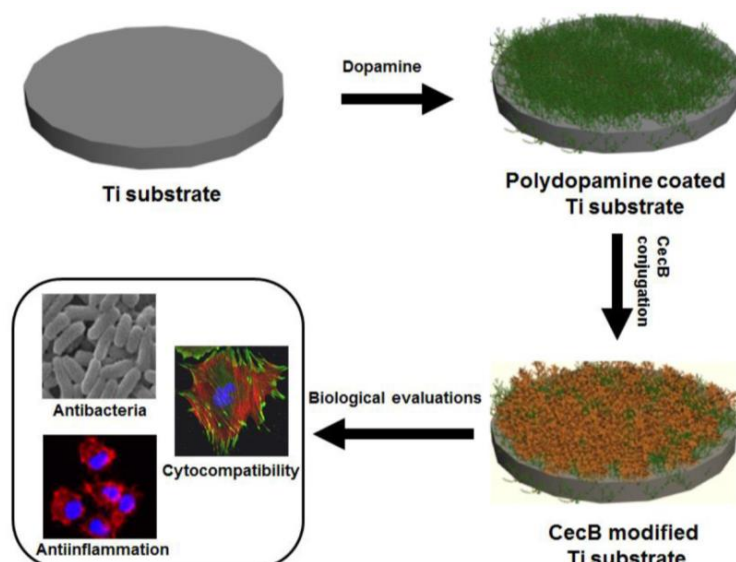


Figure I.29 : Illustration de l'immobilisation de cecropin B (CecB, peptide) sur des surfaces de titane par l'intermédiaire de la polydopamine afin d'améliorer les propriétés anti-bactériennes, la cytocompatibilité des substrats et réduire les réponses inflammatoires ¹⁴⁸

IV. L'utilisation de la chimie « Click » pour la fonctionnalisation du titane

IV.1. La « Click-Chemistry » : présentation

En 2001, Sharpless *et al.* introduisent un nouveau concept de chimie organique, appelé « Click-Chemistry », regroupant diverses réactions chimiques aboutissant à la formation de liaisons covalentes en conditions douces et avec des rendements quasi quantitatifs ¹⁴⁹. Toutefois, ces réactions chimiques doivent répondre à un certain nombre de critères (Figure I.30).

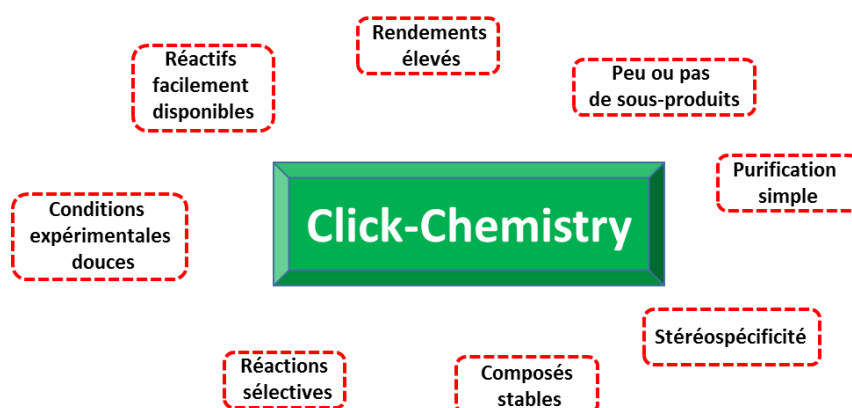


Figure I.30 : Principaux critères définissant une réaction de « Click-Chemistry »

Les produits générés lors de ces réactions doivent être obtenus avec d'excellents rendements. Dans le cas de la formation de sous-produits, ces derniers doivent pouvoir être facilement éliminés sans utiliser les méthodes de chromatographie. Ces conditions impliquent donc que la réaction soit régio- et stéréo-spécifique, insensible à l'oxygène et à l'air et également orthogonale à d'autres types de réactions organiques. De plus, les conditions de mises en œuvre doivent être relativement douces (faible température par exemple) et permettre le développement d'une large gamme de substrats à partir de réactifs facilement accessibles.

Plusieurs réactions chimiques peuvent ainsi répondre à ces critères telles que les réactions de cycloadditions (cycloaddition 1,3-dipolaire, Diels-Alder) ou les additions sur des liaisons carbone-carbone insaturées (additions de Michaël).

Les réactions de « Click-Chemistry » ont connu un véritable essor dans la fonctionnalisation de surfaces ¹⁵⁰⁻¹⁵¹ telles que l'or ¹⁵², le silicium ¹⁵³, le verre ¹⁵⁴ ou encore le titane ⁹¹. Plus particulièrement, trois principales réactions appartenant à ce concept sont généralement employées: il s'agit des réactions de cycloaddition de Huisgen [3+2] catalysée au cuivre I (CuAAC), la cycloaddition thermoréversible de Diels-Alder et les réactions de type thiol-ène ¹⁵⁵. Nous développerons plus particulièrement, au cours de cette partie, l'utilisation de ces trois types de réactions pour la fonctionnalisation du titane.

IV.2. La cycloaddition de Huisgen [3+2] catalysée au cuivre I (CuAAC)

IV.2.1. Généralités

La cycloaddition [3+2] proposée et développée par Huisgen dans les années 1960 implique une réaction entre une fonction azoture et une fonction alcyne conduisant à la formation d'un mélange d'isomères 1,4 et 1,5 du cycle 1,2,3-triazole ¹⁵⁶ (Figure I.31). En l'absence de catalyseur, cette réaction nécessite un temps de réaction important, de hautes températures et fournit deux isomères difficilement séparables par les techniques de chromatographie.

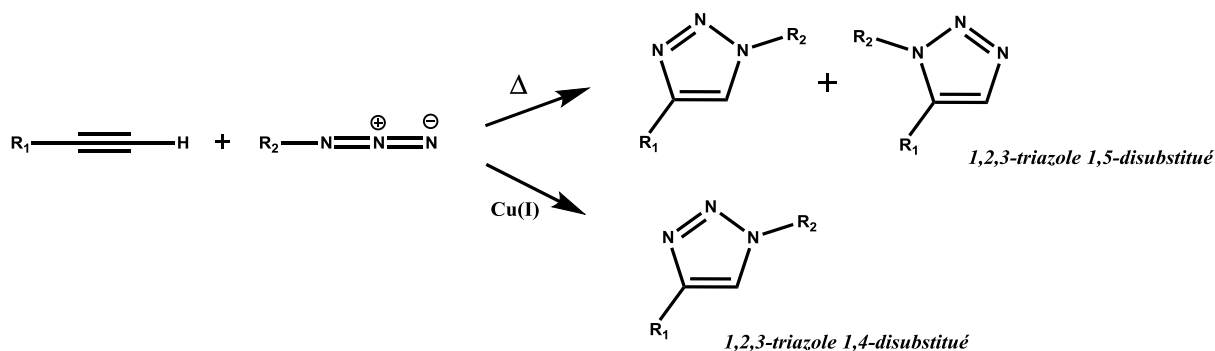


Figure I.31 : Schéma réactionnel de la cycloaddition [3+2] de Huisgen

En 2002, les équipes de Sharpless¹⁵⁷ et Meldal¹⁵⁸ rapportent simultanément la possibilité de catalyser cette réaction avec des sels de cuivre I ce qui permet d'obtenir des cinétiques réactionnelles 10^7 fois plus rapides à température ambiante avec une spécificité envers l'isomère 1,2,3-triazole 1,4 disubstitué et de bons rendements¹⁵⁹ (Figure I.31). L'ensemble de ces avantages, combinés à la possibilité d'effectuer la réaction aussi bien en milieu organique qu'en milieu aqueux, font de la réaction de Huisgen [3+2] catalysée au Cu(I) un outil idéal pour immobiliser de manière durable des (macro)molécules sur des surfaces. Toutefois, cette réaction possède quelques inconvénients tels que la présence possible de Cu(I) résiduel dans les substrats, ce qui limite son application en biologie ou en catalyse, et le caractère explosif de certains dérivés azotures en présence de métaux lourds ou sous irradiation UV¹⁶⁰.

IV.2.2. La réaction de CuAAC appliquée à la fonctionnalisation de surfaces de titane

D'une manière générale, la fonctionnalisation de surfaces de titane à travers la réaction de Huisgen catalysée au Cu(I) s'opère par une stratégie en deux étapes. Dans un premier temps, le substrat est fonctionnalisé à l'aide d'une ancre chimique munie d'une fonction alcyne ou azoture puis la réaction de cycloaddition est réalisée en présence d'une (macro)molécule incorporant la fonction complémentaire (Figure I.32).

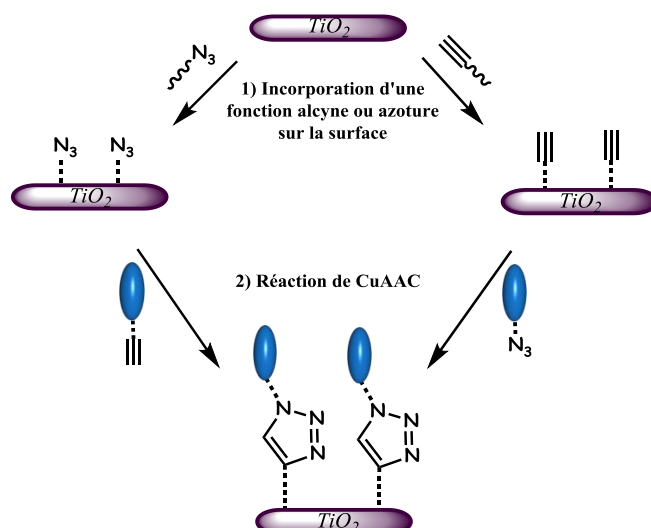


Figure I.32 : Schématisation de la fonctionnalisation de surfaces de titane par la réaction de CuAAC à travers une stratégie en deux étapes

Bien que cette stratégie fut utilisée à de nombreuses reprises pour la fonctionnalisation de surfaces d'or^{152, 161-162}, de verre¹⁶³, de silicium¹⁶⁴⁻¹⁶⁶, de nanotubes de carbone¹⁶⁷, de diverses nanoparticules (or, argent, fer, silicium, platine...) ^{151, 168-169} pour le greffage d'une grande diversité de molécules (biotine, nucléotide, porphyrine, glucide, protéine)¹⁷⁰ ; étonnamment, très peu d'études ont été consacrées à l'utilisation de la réaction de CuAAC pour la fonctionnalisation de substrats à base de titane.

Les premières surfaces de titane « clickable » ont été proposées par notre laboratoire en 2010⁹¹. Celles-ci ont été préparées en combinant les propriétés d'adhésion de la dopamine avec l'efficacité de la chimie « click » (Figure I.33). Ces études ont montré la possibilité de moduler les propriétés physico-chimiques du titane en employant la réaction de cycloaddition [3+2] de Huisgen catalysée au cuivre I.

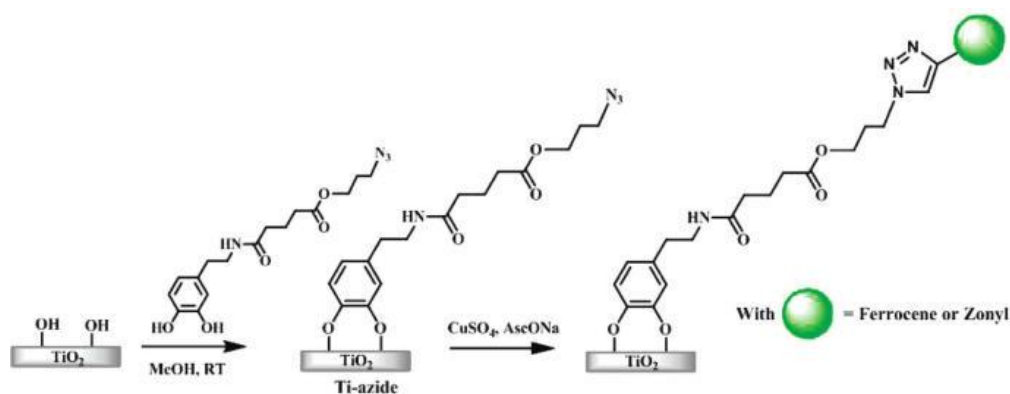


Figure I.33 : Représentation de la fonctionnalisation de surfaces de titane par utilisation de la cycloaddition [3+2] de Huisgen catalysée au Cu(I) ⁹¹

Comme évoqué précédemment, Xu *et al.* ont également développé une plateforme de titane « clickable » en utilisant un copolymère incorporant des motifs dopamine et des fonctions propargyliques pour le greffage de diverses molécules telles que des dérivés de sucre, des sondes fluorescentes ou encore la biotine par réaction de CuAAC ¹⁰⁷.

Plus récemment, Kim *et al.* ont exploité la réaction de CuAAC pour la fonctionnalisation multi-étapes de surfaces de titane ¹⁷¹. Les fonctions amines générées après CuAAC ont permis le greffage d'héparine afin de favoriser l'immobilisation de protéines morphogénétiques osseuses (BMP-2) (Figure I.34).

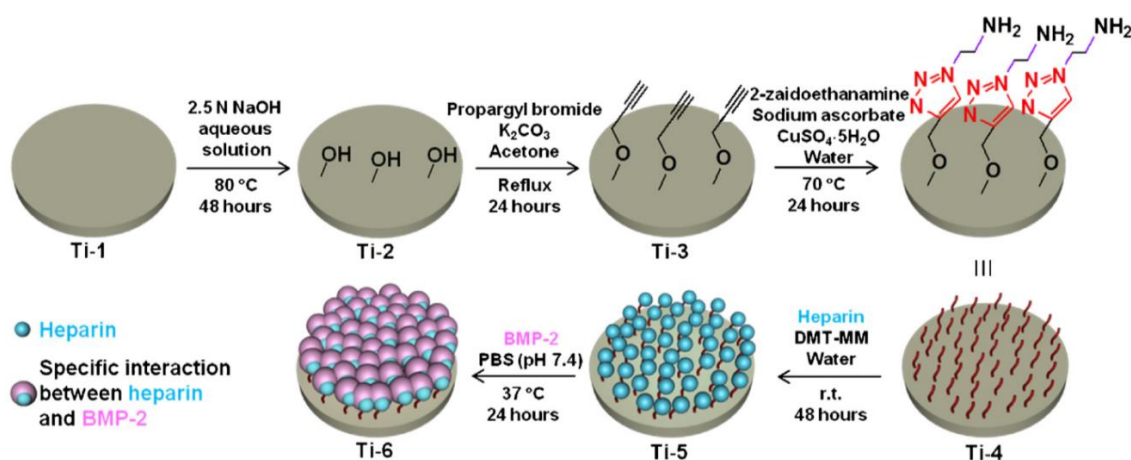


Figure I.34 : Schématisation de l'immobilisation de protéines (BMP-2) sur des surfaces de titane via l'utilisation de la réaction de CuAAC ¹⁷¹

Enfin, la cycloaddition [3+2] de Huisgen a également été explorée pour la fonctionnalisation de nanoparticules de titane. Dans ces travaux, les fonctions alcynes ou azotures sont introduites à la surface à l'aide d'ancres fonctionnalisées à base d'acide carboxylique ¹⁷²⁻¹⁷³, d'acide phosphonique ¹⁷⁴⁻¹⁷⁶ et de catéchol ⁹⁹ puis engagées à travers une réaction de CuAAC avec des molécules sondes ou des polymères porteurs de la fonction complémentaire.

IV.3. La cycloaddition de Diels-Alder

IV.3.1. Généralités

La réaction de Diels-Alder (DA) est une réaction de cycloaddition [4+2] au cours de laquelle un diène conjugué riche en électrons (furane, cyclopentadiène et dérivés) et un diénophile pauvre en électrons (maléimide, cétone vinylique et dérivés) réagissent à des

températures généralement faibles pour former un cycloadduit de type cyclohexène (Figure I.35). D'un point de vue conformationnel, le diène réagit dans sa forme *s-cis* avec le diénophile et implique la formation d'adduits *endo* (produit cinétique) et *exo* (produit thermodynamique).

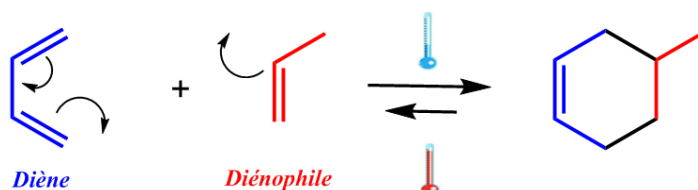


Figure I.35 : Représentation de la réaction thermoréversible de Diels-Alder

La particularité de cette réaction repose sur son caractère thermoréversible. En effet, par chauffage, le processus de rétro Diels-Alder (rDA) s'opère et conduit alors à la dissociation de l'adduit et à la régénération du diène et du diénophile.

Les réactions de cycloaddition entre le furane et l'anhydride maléique ont été introduites pour la première fois par Otto Diels et Kurt Alder en 1928¹⁷⁷ et leurs ont valu le prix Nobel de chimie en 1950. Les réactions de cycloaddition de Diels-Alder fournissent généralement de hauts rendements, ne requièrent que de très faibles énergies et peuvent être réalisées en milieu aqueux¹⁷⁸. De plus, contrairement aux réactions de CuAAC, les réactions de DA ne nécessitent aucun catalyseur.

IV.3.2. La réaction de Diels-Alder appliquée à la fonctionnalisation de surfaces de titane

La stratégie employée dans la littérature pour la fonctionnalisation de surfaces *via* la réaction de Diels-Alder consiste à introduire le diène ou le diénophile sur le substrat puis à réaliser la réaction en présence du groupement complémentaire (Figure I.36).

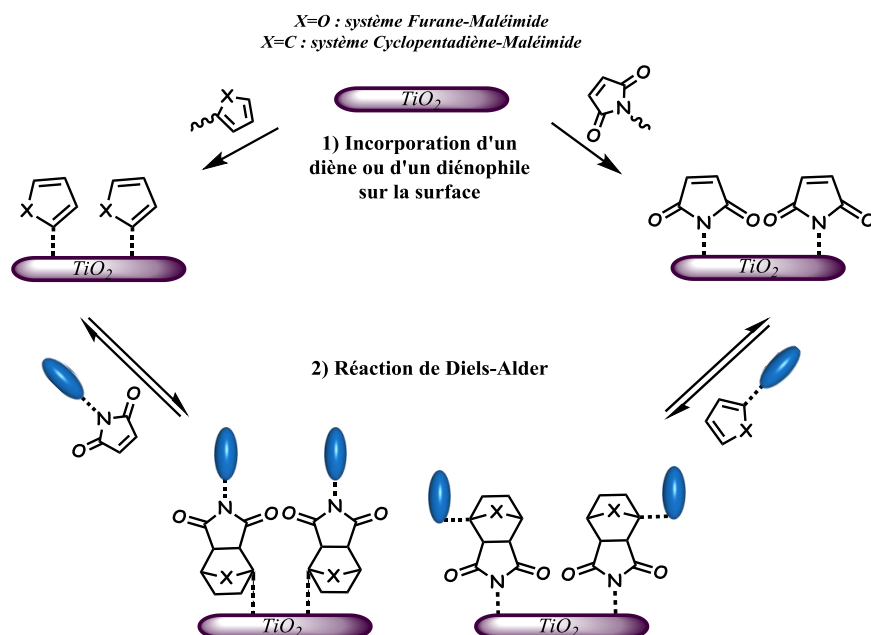


Figure I.36: Schématisation de la fonctionnalisation de surfaces de titane par la réaction de Diels-Alder

Cette stratégie a été employée pour la fonctionnalisation de substrats de natures diverses comme l'or ¹⁷⁹⁻¹⁸⁰, les wafers de silicium ¹⁸⁰⁻¹⁸², le poly (éthylène téréphthalate) ¹⁸⁰, les nanoparticules de silice ¹⁸³, d'argent ¹⁸⁴ ou encore le verre ^{163, 185}.

Parmi les exemples les plus pertinents de la littérature, nous pouvons citer les travaux de Dirlam *et al.* qui ont exploité le caractère thermoréversible de la réaction pour contrôler les propriétés physico-chimiques de surfaces de verre ¹⁵⁴ (Figure I.37).

Dans cette étude, les surfaces ont été fonctionnalisées en deux étapes par des groupements furane (B) à l'aide du 3-aminopropylméthoxysilane (A) puis les plateformes (Surface 2) ont été engagées dans une réaction de DA avec un oligomère fluoré complémentaire (C), ce qui aboutit à la génération de matériaux hydrophobes (Surface 3). Après réaction de rDA (D), les auteurs ont retrouvé la mouillabilité de surface initiale (Surface 2).

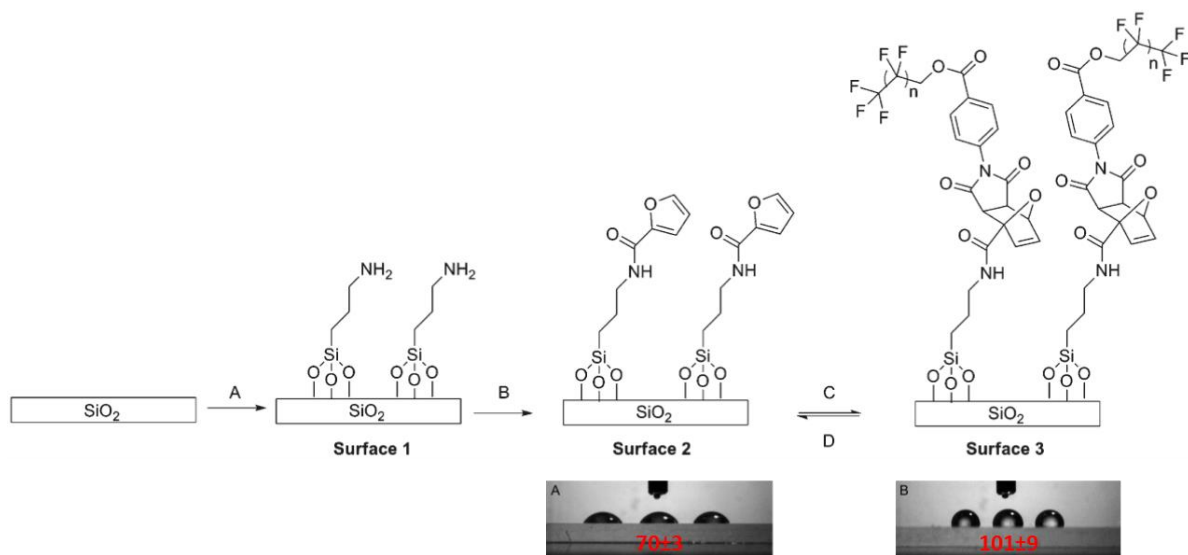


Figure I.37 : Elaboration de surfaces de verre aux propriétés physico-chimiques modulables par utilisation de la réaction thermoréversible de DA

Plus récemment, l'équipe de Barner-Kowollik a proposé une approche originale pour la fonctionnalisation réversible de surfaces d'or en combinant les propriétés d'adhésion de la dopamine et la chimie de type Diels-Alder ¹⁸⁶. Ainsi des poly (éthylène glycols), fonctionnalisés en extrémité de chaîne par un motif catéchol et intégrant dans leurs structures un cycloadduit (système cyclopentadiène - maléimide), ont été immobilisés sur de l'or en conditions marines. Après protection des groupements hydroxyles résiduels, la rDA a été exploitée pour détacher, sur demande, les polymères de la surface. Plusieurs cycles de DA/rDA réalisés sur ces plateformes ont montré le potentiel des réactions de Diels-Alder pour la fonctionnalisation réversible de surfaces (Figure I.38).

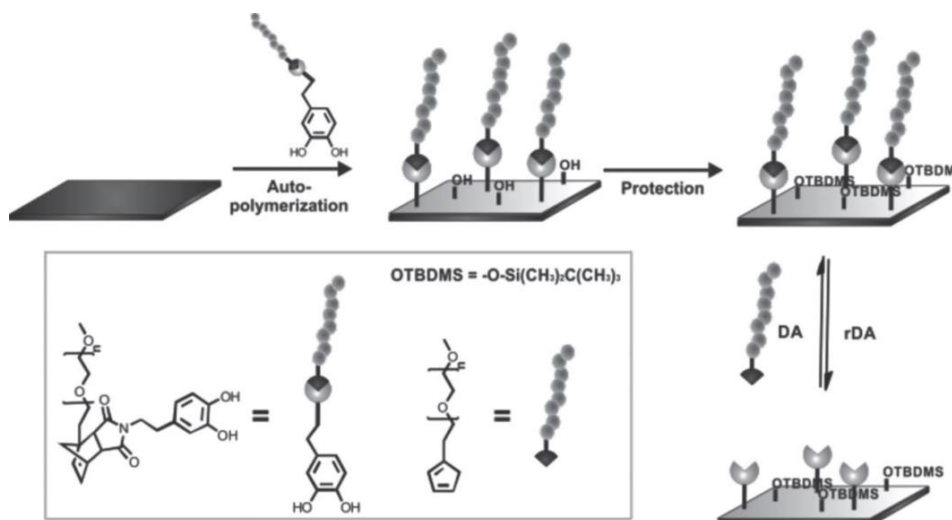


Figure I.38 : Schéma réactionnel permettant d'attacher et de détacher, sur demande, un PEG sur des surfaces d'or à travers la réaction thermoréversible de DA

Toutefois, à notre connaissance, aucune étude n'a été consacrée à l'utilisation de la réaction thermoréversible de Diels-Alder pour la fonctionnalisation de surfaces de titane. Cette approche sera notamment développée au cours d'une étude présentée dans le chapitre 2.

IV.4. La réaction de thiol-ène

IV.4.1. Généralités

La réaction de thiol-ène implique l'addition d'un groupement thiol sur une double liaison carbone-carbone. Ce concept est connu depuis le début des années 1900¹⁸⁷ mais ce n'est que très récemment que ces réactions ont été exploitées pour la fonctionnalisation de surfaces. De manière générale, la réaction s'opère par addition d'un radical libre thiyl ($R-S^\bullet$) sur une double liaison carbone-carbone. Afin d'amorcer la réaction, les radicaux sont générés par UV ou par production de chaleur en présence d'un (photo)amorceur¹⁸⁸. Dans le cas des doubles liaisons déficientes en électrons, tels que les maléimides, sulfones vinyliques, acrylates/acrylamides et méthacrylates/méthacrylamides¹⁸⁹, la réaction peut également avoir lieu par addition nucléophile de type Michaël sans amorceur (Figure I.39). Cependant, dans la plupart des cas, la réaction est catalysée au moyen d'une base ou d'un nucléophile¹⁹⁰.

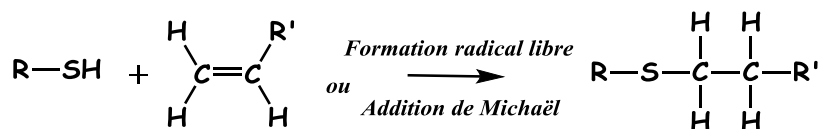


Figure I.39 : Schématisation des réactions de thiol-ène

Les réactions de thiol-ène sont rapides et présentent d'excellents rendements. De plus, ces réactions peuvent être effectuées en milieu aqueux, à température ambiante et ne requièrent que de faibles quantités de catalyseur¹⁹¹.

IV.4.2. La réaction de thiol-ène appliquée à la fonctionnalisation de surfaces de titane

Les réactions de thiol-ène ont été largement employées dans la littérature pour la fonctionnalisation de surfaces¹⁹²⁻¹⁹⁴. Parmi les nombreux exemples, nous pouvons citer l'immobilisation de protéines sur des surfaces de silicium¹⁹⁵, d'huiles végétales sur des

surfaces d'aluminium ¹⁹⁶, le greffage de polymères sur des surfaces de verre ¹⁹⁷ ou d'acier inoxydable ¹⁹⁸, la fonctionnalisation de nanotubes de carbone ¹⁹⁹, de nanoparticules d'or ²⁰⁰, de fer ¹⁶⁸ ou de titane ²⁰¹.

En particulier, Geiseler et Fruk ont reporté la fonctionnalisation de nanoparticules de titane par un peptide fluorescent par l'intermédiaire d'une ancre catéchol incorporant un groupement maléimide ⁹⁹ (Figure I.40). L'efficacité du greffage a pu être démontrée par des études de fluorescence.

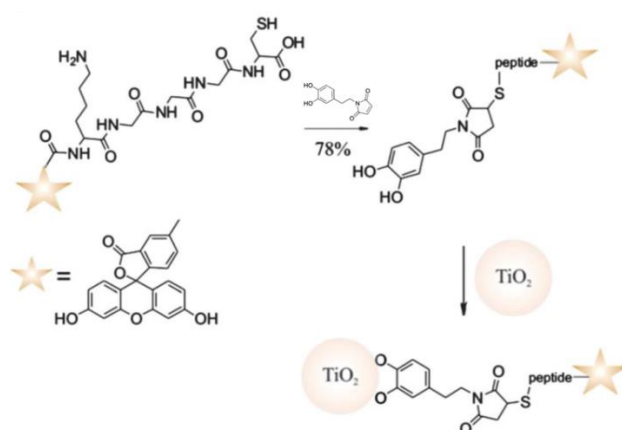


Figure I.40 : Fonctionnalisation de nanoparticules de titane par un peptide au moyen d'une réaction de thiol-ène (adapté de ⁹⁹)

Enfin, Gao *et al.* ont préparé des surfaces de titane aux propriétés anti-bactériennes par greffage du peptide Ter123. Pour ce faire, les auteurs ont utilisé un copolymère fonctionnel incorporant une ancre à base de silane pour le greffage sur la surface et des groupements maléimide pouvant être exploités à travers des réactions de thiol-ène ²⁰² (Figure I.41).

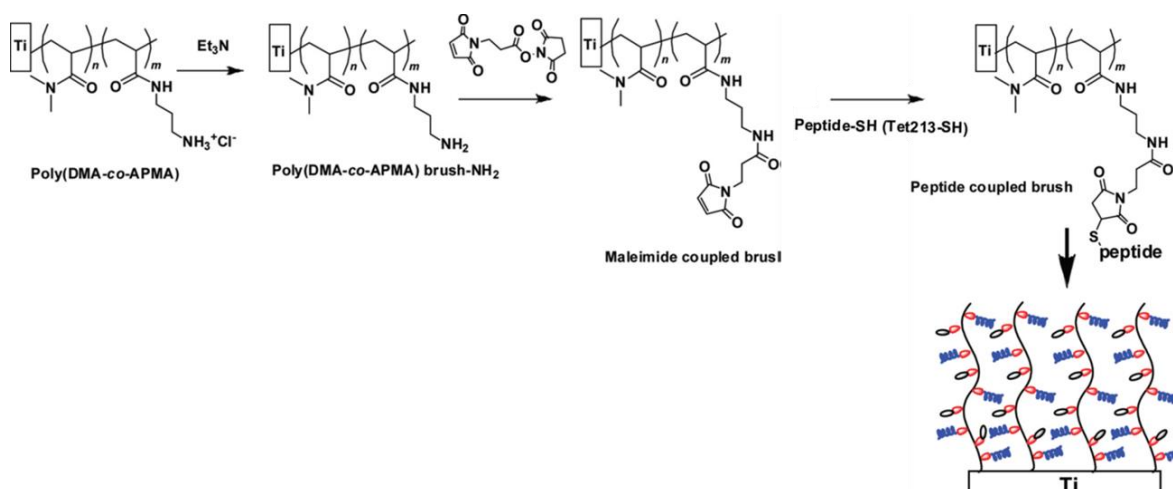


Figure I.41 : Elaboration de surfaces de titane aux propriétés anti-microbiennes par immobilisation d'un peptide en utilisant la réaction de thiol-ène (adapté de ²⁰²)

Conclusion

L'objectif principal de ce travail de thèse consiste à développer de nouvelles méthodologies de greffage de (macro)molécules sur des surfaces de titane en vue d'élaborer des surfaces stimulables aux propriétés physico-chimiques modulables. Au cours de l'étude bibliographique, après un bref descriptif des propriétés intrinsèques du titane, nous avons présenté, les différentes stratégies envisagées pour la fonctionnalisation chimique de ces surfaces. Ainsi, en raison de leurs excellentes propriétés d'adhésion, les ancres chimiques à base de catéchol s'avèrent être d'excellents candidats pour l'immobilisation de (macro)molécules. En effet, ce motif se greffe facilement sur le titane, en conditions douces et conduit à la formation de monocouches stables et robustes. Parmi les nombreux dérivés de catéchols, notre attention s'est focalisée sur la dopamine qui possède une fonction amine primaire réactive qui sera exploitée pour la mise en œuvre de la fonctionnalisation. Par ailleurs, au cours de cette étude bibliographique, nous avons présenté succinctement, trois grandes familles de réactions chimiques appartenant au concept de « Click-Chemistry » qui peuvent être exploitées pour la fonctionnalisation des surfaces de titane. Parmi celles-ci, la réaction thermoréversible de Diels-Alder semble particulièrement intéressante dans l'optique de concevoir des surfaces stimulables et recyclables.

Références Bibliographiques

1. Boyer, R.; Welsch, G.; Collings, E. W., *Materials Properties Handbook - Titanium Alloys*. ASM International: 1994.
2. Séraphin, L. *TITANE Encyclopaedia Universalis* [Online].
3. Ikeshima, T., Recent development in titanium sponge production. In *Proceedings of the fifth international conference of titanium*, Titanium Science and Technology: 1985; pp 3-14.
4. Boyer, R., Aerospace applications of beta titanium alloys. *JOM* **1994**, 46 (7), 20-23.
5. Peters, M.; Kumpfert, J.; Ward, C. H.; Leyens, C., Titanium Alloys for Aerospace Applications. *Advanced Engineering Materials* **2003**, 5 (6), 419-427.
6. NJC Developing New Technologies for Joining Titanium and Its Alloys. *Welding Journal* **2006**, 85 (5), 41.
7. Liu, X.; Chu, P. K.; Ding, C., Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. *Materials Science and Engineering: R: Reports* **2004**, 47 (3-4), 49-121.
8. Mcquillan, A. D., Allotropic Transformation in titanium. *Nature* **1949**, 164, 24.
9. Zhecheva, A.; Sha, W.; Malinov, S.; Long, A., Enhancing the microstructure and properties of titanium alloys through nitriding and other surface engineering methods. *Surface and Coatings Technology* **2005**, 200 (7), 2192-2207.
10. Hanaor, D. H.; Sorrell, C., Review of the anatase to rutile phase transformation. *J Mater Sci* **2011**, 46 (4), 855-874.
11. Zhang, H.; F. Banfield, J., Thermodynamic analysis of phase stability of nanocrystalline titania. *Journal of Materials Chemistry* **1998**, 8 (9), 2073-2076.
12. Brunette, D. M., Tengvall, P., Textor, M., Thomsen, P., *Titanium in medicine : material science, engineering, biological responses and medical application*. Springer: Berlin, 2001.
13. Xu, X.; Wang, L.; Guo, S.; Lei, L.; Tang, T., Surface chemical study on the covalent attachment of hydroxypropyltrimethyl ammonium chloride chitosan to titanium surfaces. *Applied Surface Science* **2011**, 257 (24), 10520-10528.
14. Jing, F. J.; Wang, L.; Fu, R. K. Y.; Leng, Y. X.; Chen, J. Y.; Huang, N.; Chu, P. K., Behavior of endothelial cells on micro-patterned titanium oxide fabricated by plasma immersion ion implantation and deposition and plasma etching. *Surface and Coatings Technology* **2007**, 201 (15), 6874-6877.
15. Ohsaki, H.; Shibayama, Y.; Nakajim, A.; Kinbara, A.; Watanabe, T., Plasma treatment for crystallization of amorphous thin films. *Thin Solid Films* **2006**, 502 (1-2), 63-66.
16. Fadl-allah, S. A.; Mohsen, Q., Characterization of native and anodic oxide films formed on commercial pure titanium using electrochemical properties and morphology techniques. *Applied Surface Science* **2010**, 256 (20), 5849-5855.
17. Li, B.; Li, Y.; Li, J.; Fu, X.; Li, H.; Wang, H.; Xin, S.; Zhou, L.; Liang, C.; Li, C., Influence of nanostructures on the biological properties of Ti implants after anodic oxidation. *J Mater Sci: Mater Med* **2014**, 25 (1), 199-205.
18. Bhola, R.; Su, F.; Krull, C., Functionalization of titanium based metallic biomaterials for implant applications. *J Mater Sci: Mater Med* **2011**, 22 (5), 1147-1159.
19. He, F.; Zhang, F.; Yang, G.; Wang, X.; Zhao, S., Enhanced initial proliferation and differentiation of MC3T3-E1 cells on HF/HNO₃ solution treated nanostructural titanium surface. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* **2010**, 110 (4), e13-e22.
20. StRauManis, M. E.; Chen, P. C., The Mechanism and Rate of Dissolution of Titanium in Hydrofluoric Acid. *Journal of The Electrochemical Society* **1951**, 98 (6), 234-240.
21. Eliaz, N.; Ritman-Hertz, O.; Aronov, D.; Weinberg, E.; Shenhar, Y.; Rosenman, G.; Weinreb, M.; Ron, E., The effect of surface treatments on the adhesion of electrochemically deposited hydroxyapatite coating to titanium and on its interaction with cells and bacteria. *J Mater Sci: Mater Med* **2011**, 22 (7), 1741-1752.

22. Takeuchi, M.; Abe, Y.; Yoshida, Y.; Nakayama, Y.; Okazaki, M.; Akagawa, Y., Acid pretreatment of titanium implants. *Biomaterials* **2003**, *24* (10), 1821-1827.
23. Wen, H. B.; Liu, Q.; De Wijn, J. R.; De Groot, K.; Cui, F. Z., Preparation of bioactive microporous titanium surface by a new two-step chemical treatment. *J Mater Sci: Mater Med* **1998**, *9* (3), 121-128.
24. Uchida, M.; Kim, H.-M.; Kokubo, T.; Fujibayashi, S.; Nakamura, T., Effect of water treatment on the apatite-forming ability of NaOH-treated titanium metal. *Journal of Biomedical Materials Research* **2002**, *63* (5), 522-530.
25. Kawashita, M.; Yokohama, Y.; Cui, X.; Miyazaki, T.; Kanetaka, H., In vitro apatite formation and visible-light photocatalytic activity of Ti metal subjected to chemical and thermal treatments. *Ceramics International* **2014**, *40* (8, Part B), 12629-12636.
26. Kim H. M., M. F., Kokubo T., Nakamura T., Preparation of bioactive Ti and its alloys via simple chemical surface treatment. *Journal of Biomedical Research* **1996**, *32* (3), 409-417.
27. Porté-Durrieu, M. C.; Guillemot, F.; Pallu, S.; Labrugère, C.; Brouillaud, B.; Bareille, R.; Amédée, J.; Barthe, N.; Dard, M.; Baquey, C., Cyclo-(DfKRG) peptide grafting onto Ti-6Al-4V: physical characterization and interest towards human osteoprogenitor cells adhesion. *Biomaterials* **2004**, *25* (19), 4837-4846.
28. Variola, F.; Yi, J.-H.; Richert, L.; Wuest, J. D.; Rosei, F.; Nanci, A., Tailoring the surface properties of Ti6Al4V by controlled chemical oxidation. *Biomaterials* **2008**, *29* (10), 1285-1298.
29. Wang, X.-X.; Hayakawa, S.; Tsuru, K.; Osaka, A., Bioactive titania gel layers formed by chemical treatment of Ti substrate with a H₂O₂/HCl solution. *Biomaterials* **2002**, *23* (5), 1353-1357.
30. Yi, J.-H.; Bernard, C.; Variola, F.; Zalzal, S. F.; Wuest, J. D.; Rosei, F.; Nanci, A., Characterization of a bioactive nanotextured surface created by controlled chemical oxidation of titanium. *Surface Science* **2006**, *600* (19), 4613-4621.
31. Pisarek, M.; Lewandowska, M.; Roguska, A.; Kurzydłowski, K. J.; Janik-Czachor, M., SEM, Scanning Auger and XPS characterization of chemically pretreated Ti surfaces intended for biomedical applications. *Materials Chemistry and Physics* **2007**, *104* (1), 93-97.
32. Macyk, W.; Szaciłowski, K.; Stochel, G.; Buchalska, M.; Kuncewicz, J.; Łabuz, P., Titanium(IV) complexes as direct TiO₂ photosensitizers. *Coordination Chemistry Reviews* **2010**, *254* (21-22), 2687-2701.
33. Fahmi, A.; Minot, C.; Fourré, P.; Nortier, P., A theoretical study of the adsorption of oxalic acid on TiO₂. *Surface Science* **1995**, *343* (3), 261-272.
34. Meiners, F.; Ross, J. H.; Brand, I.; Buling, A.; Neumann, M.; Köster, P. J.; Christoffers, J.; Wittstock, G., Modification of silicon oxide surfaces by monolayers of an oligoethylene glycol-terminated perfluoroalkyl silane. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **2014**, *449* (0), 31-41.
35. Balasundaram, G.; Sato, M.; Webster, T. J., Using hydroxyapatite nanoparticles and decreased crystallinity to promote osteoblast adhesion similar to functionalizing with RGD. *Biomaterials* **2006**, *27* (14), 2798-2805.
36. Xie, Y.; Hill, C. A. S.; Xiao, Z.; Miltz, H.; Mai, C., Silane coupling agents used for natural fiber/polymer composites: A review. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing* **2010**, *41* (7), 806-819.
37. Zandi Zand, R.; Verbeken, K.; Adriaens, A., Corrosion resistance performance of cerium doped silica sol-gel coatings on 304L stainless steel. *Progress in Organic Coatings* **2012**, *75* (4), 463-473.
38. Puleo, D. A., Activity of enzyme immobilized on silanized Co-Cr-Mo. *Journal of Biomedical Materials Research* **1995**, *29* (8), 951-957.
39. Puleo, D. A., Biochemical surface modification of Co-Cr-Mo. *Biomaterials* **1996**, *17* (2), 217-222.
40. Li, G.; Yang, P.; Liao, Y.; Huang, N., Tailoring of the Titanium Surface by Immobilization of Heparin/Fibronectin Complexes for Improving Blood Compatibility and Endothelialization: An in Vitro Study. *Biomacromolecules* **2011**, *12* (4), 1155-1168.
41. Tan, G.; Zhang, L.; Ning, C.; Liu, X.; Liao, J., Preparation and characterization of APTES films on modification titanium by SAMs. *Thin Solid Films* **2011**, *519* (15), 4997-5001.

42. Rodríguez-Cano, A.; Cintas, P.; Fernández-Calderón, M.-C.; Pacha-Olivenza, M.-Á.; Crespo, L.; Saldaña, L.; Vilaboa, N.; González-Martín, M.-L.; Babiano, R., Controlled silanization–amination reactions on the Ti6Al4V surface for biomedical applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2013**, *106* (0), 248-257.
43. Middleton, C. A.; Pendegrass, C. J.; Gordon, D.; Jacob, J.; Blunn, G. W., Fibronectin silanized titanium alloy: A bioinductive and durable coating to enhance fibroblast attachment in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **2007**, *83A* (4), 1032-1038.
44. Xiao, S.-J.; Textor, M.; Spencer, N. D.; Sigrist, H., Covalent Attachment of Cell-Adhesive, (Arg-Gly-Asp)-Containing Peptides to Titanium Surfaces. *Langmuir* **1998**, *14* (19), 5507-5516.
45. Sargeant, T. D.; Rao, M. S.; Koh, C.-Y.; Stupp, S. I., Covalent functionalization of NiTi surfaces with bioactive peptide amphiphile nanofibers. *Biomaterials* **2008**, *29* (8), 1085-1098.
46. Godoy-Gallardo, M.; Mas-Moruno, C.; Fernández-Calderón, M. C.; Pérez-Giraldo, C.; Manero, J. M.; Albericio, F.; Gil, F. J.; Rodríguez, D., Covalent immobilization of hLf1-11 peptide on a titanium surface reduces bacterial adhesion and biofilm formation. *Acta Biomaterialia* **2014**, *10* (8), 3522-3534.
47. Smith, N. A.; Antoun, G. G.; Ellis, A. B.; Crone, W. C., Improved adhesion between nickel–titanium shape memory alloy and a polymer matrix via silane coupling agents. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing* **2004**, *35* (11), 1307-1312.
48. Zhang, F.; Shi, Z. L.; Chua, P. H.; Kang, E. T.; Neoh, K. G., Functionalization of Titanium Surfaces via Controlled Living Radical Polymerization: From Antibacterial Surface to Surface for Osteoblast Adhesion. *Industrial & Engineering Chemistry Research* **2007**, *46* (26), 9077-9086.
49. Demirci, S.; Caykara, T., Formation of dicarboxylic acid-terminated monolayers on silicon wafer surface. *Surface Science* **2010**, *604* (7–8), 649-653.
50. Chen, X.; Sevilla, P.; Aparicio, C., Surface biofunctionalization by covalent co-immobilization of oligopeptides. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2013**, *107* (0), 189-197.
51. White, L. D.; Tripp, C. P., Reaction of (3-Aminopropyl)dimethylethoxysilane with Amine Catalysts on Silica Surfaces. *Journal of Colloid and Interface Science* **2000**, *232* (2), 400-407.
52. Watson, H.; Norström, A.; Torrkulla; Rosenholm, J., Aqueous Amino Silane Modification of E-glass Surfaces. *Journal of Colloid and Interface Science* **2001**, *238* (1), 136-146.
53. Etienne, M.; Walcarius, A., Analytical investigation of the chemical reactivity and stability of aminopropyl-grafted silica in aqueous medium. *Talanta* **2003**, *59* (6), 1173-1188.
54. Silverman, B. M.; Wiegand, K. A.; Schwartz, J., Comparative Properties of Siloxane vs Phosphonate Monolayers on A Key Titanium Alloy. *Langmuir* **2004**, *21* (1), 225-228.
55. Weiping, Q.; Bin, X.; Lei, W.; Chunxiao, W.; Danfeng, Y.; Fang, Y.; Chunwei, Y.; Yu, W., Controlled Site-Directed Assembly of Antibodies by Their Oligosaccharide Moieties onto APTES Derivatized Surfaces. *Journal of Colloid and Interface Science* **1999**, *214* (1), 16-19.
56. Puleo, D. A., Retention of enzymatic activity immobilized on silanized Co-Cr-Mo and Ti-6Al-4V. *Journal of Biomedical Materials Research* **1997**, *37* (2), 222-228.
57. Adden, N.; Gamble, L. J.; Castner, D. G.; Hoffmann, A.; Gross, G.; Menzel, H., Synthesis and Characterization of Biocompatible Polymer Interlayers on Titanium Implant Materials. *Biomacromolecules* **2006**, *7* (9), 2552-2559.
58. Kim, K. S.; Barteau, M. A., Pathways for carboxylic acid decomposition on titania. *Langmuir* **1988**, *4* (4), 945-953.
59. Vittadini, A.; Selloni, A.; Rotzinger, F. P.; Grätzel, M., Formic Acid Adsorption on Dry and Hydrated TiO₂ Anatase (101) Surfaces by DFT Calculations. *The Journal of Physical Chemistry B* **2000**, *104* (6), 1300-1306.
60. McGill, P. R.; Idriss, H., DFT study of carboxylic acids modes of adsorption on rutile TiO₂ surfaces. *Surface Science* **2008**, *602* (24), 3688-3695.
61. Sayago, D. I.; Polcik, M.; Lindsay, R.; Toomes, R. L.; Hoeft, J. T.; Kittel, M.; Woodruff, D. P., Structure Determination of Formic Acid Reaction Products on TiO₂(110)[†]. *The Journal of Physical Chemistry B* **2004**, *108* (38), 14316-14323.

62. Ojamäe, L.; Aulin, C.; Pedersen, H.; Käll, P.-O., IR and quantum-chemical studies of carboxylic acid and glycine adsorption on rutile TiO₂ nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science* **2006**, *296* (1), 71-78.
63. Tonner, R., Adsorption of Proline and Glycine on the TiO₂(110) Surface: A Density Functional Theory Study. *ChemPhysChem* **2010**, *11* (5), 1053-1061.
64. Heckel, W.; Elsner, B. A. M.; Schulz, C.; Müller, S., The Role of Hydrogen on the Adsorption Behavior of Carboxylic Acid on TiO₂ Surfaces. *The Journal of Physical Chemistry C* **2014**, *118* (20), 10771-10779.
65. Park, H.; Bae, E.; Lee, J.-J.; Park, J.; Choi, W., Effect of the Anchoring Group in Ru-Bipyridyl Sensitizers on the Photoelectrochemical Behavior of Dye-Sensitized TiO₂ Electrodes: Carboxylate versus Phosphonate Linkages. *The Journal of Physical Chemistry B* **2006**, *110* (17), 8740-8749.
66. Marcinko, S.; Fadeev, A. Y., Hydrolytic Stability of Organic Monolayers Supported on TiO₂ and ZrO₂. *Langmuir* **2004**, *20* (6), 2270-2273.
67. Bhairamadgi, N. S.; Pujari, S. P.; Trovela, F. G.; Debrassi, A.; Khamis, A. A.; Alonso, J. M.; Al Zahrani, A. A.; Wennekes, T.; Al-Turaif, H. A.; van Rijn, C.; Alhamed, Y. A.; Zuilhof, H., Hydrolytic and Thermal Stability of Organic Monolayers on Various Inorganic Substrates. *Langmuir* **2014**, *30* (20), 5829-5839.
68. Guerrero, G.; Mutin, P. H.; Framery, E.; Vioux, A., Immobilization of platinum(ii) and palladium(ii) complexes on metal oxides by sol-gel processing and surface modification using bifunctional phosphine-phosphonate esters. *New Journal of Chemistry* **2008**, *32* (9), 1519-1525.
69. Nilsing, M.; Persson, P.; Ojamäe, L., Anchor group influence on molecule-metal oxide interfaces: Periodic hybrid DFT study of pyridine bound to TiO₂ via carboxylic and phosphonic acid. *Chemical Physics Letters* **2005**, *415* (4-6), 375-380.
70. Pfaffenroth, C.; Winkel, A.; Dempwolf, W.; Gamble, L. J.; Castner, D. G.; Stiesch, M.; Menzel, H., Self-Assembled Antimicrobial and Biocompatible Copolymer Films on Titanium. *Macromolecular Bioscience* **2011**, *11* (11), 1515-1525.
71. Hofer, R.; Textor, M.; Spencer, N. D., Alkyl Phosphate Monolayers, Self-Assembled from Aqueous Solution onto Metal Oxide Surfaces. *Langmuir* **2001**, *17* (13), 4014-4020.
72. Hanson, E. L.; Schwartz, J.; Nickel, B.; Koch, N.; Danisman, M. F., Bonding Self-Assembled, Compact Organophosphonate Monolayers to the Native Oxide Surface of Silicon. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125* (51), 16074-16080.
73. Guerrero, G.; Alauzun, J. G.; Granier, M.; Laurencin, D.; Mutin, P. H., Phosphonate coupling molecules for the control of surface/interface properties and the synthesis of nanomaterials. *Dalton Transactions* **2013**, *42* (35), 12569-12585.
74. Wu, J.; Hirata, I.; Zhao, X.; Gao, B.; Okazaki, M.; Kato, K., Influence of alkyl chain length on calcium phosphate deposition onto titanium surfaces modified with alkylphosphonic acid monolayers. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **2013**, *101A* (8), 2267-2272.
75. Ide, A.; Drisko, G. L.; Scales, N.; Luca, V.; Schiesser, C. H.; Caruso, R. A., Monitoring Bisphosphonate Surface Functionalization and Acid Stability of Hierarchically Porous Titanium Zirconium Oxides. *Langmuir* **2011**, *27* (21), 12985-12995.
76. Amalric, J.; Mutin, P. H.; Guerrero, G.; Ponche, A.; Sotto, A.; Lavigne, J.-P., Phosphonate monolayers functionalized by silver thiolate species as antibacterial nanocoatings on titanium and stainless steel. *Journal of Materials Chemistry* **2009**, *19* (1), 141-149.
77. Gawalt, E. S.; Avaltroni, M. J.; Danahy, M. P.; Silverman, B. M.; Hanson, E. L.; Midwood, K. S.; Schwarzbauer, J. E.; Schwartz, J., Bonding Organics to Ti Alloys: Facilitating Human Osteoblast Attachment and Spreading on Surgical Implant Materials. *Langmuir* **2003**, *19* (1), 200-204.
78. Adden, N.; Gamble, L. J.; Castner, D. G.; Hoffmann, A.; Gross, G.; Menzel, H., Phosphonic Acid Monolayers for Binding of Bioactive Molecules to Titanium Surfaces. *Langmuir* **2006**, *22* (19), 8197-8204.
79. Lee, H.; Dellatore, S. M.; Miller, W. M.; Messersmith, P. B., Mussel-inspired surface chemistry for multifunctional coatings. *Science (New York, N.Y.)* **2007**, *318* (5849), 426-430.

80. Brault, N. D.; Gao, C.; Xue, H.; Piliarik, M.; Homola, J.; Jiang, S.; Yu, Q., Ultra-low fouling and functionalizable zwitterionic coatings grafted onto SiO₂ via a biomimetic adhesive group for sensing and detection in complex media. *Biosensors and Bioelectronics* **2010**, *25* (10), 2276-2282.
81. Zobrist, C.; Sobocinski, J.; Lyskawa, J.; Fournier, D.; Miri, V.; Traisnel, M.; Jimenez, M.; Woisel, P., Functionalization of Titanium Surfaces with Polymer Brushes Prepared from a Biomimetic RAFT Agent. *Macromolecules* **2011**, *44* (15), 5883-5892.
82. Xu, L. Q.; Pranantyo, D.; Liu, J. B.; Neoh, K.-G.; Kang, E.-T.; Ng, Y. X.; Lay-Ming Teo, S.; Fu, G. D., Layer-by-layer deposition of antifouling coatings on stainless steel via catechol-amine reaction. *RSC Advances* **2014**, *4* (61), 32335-32344.
83. Comas, H.; Laporte, V.; Borcard, F.; Miéville, P.; Krauss Juillerat, F.; Caporini, M. A.; Gonzenbach, U. T.; Juillerat-Jeanneret, L.; Gerber-Lemaire, S., Surface Functionalization of Alumina Ceramic Foams with Organic Ligands. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2012**, *4* (2), 573-576.
84. Lee, H.; Lee, K. D.; Pyo, K. B.; Park, S. Y.; Lee, H., Catechol-Grafted Poly(ethylene glycol) for PEGylation on Versatile Substrates. *Langmuir* **2010**, *26* (6), 3790-3793.
85. Lee, H.; Scherer, N. F.; Messersmith, P. B., Single-molecule mechanics of mussel adhesion. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2006**, *103* (35), 12999-13003.
86. Faure, E.; Falentin-Daudré, C.; Jérôme, C.; Lyskawa, J.; Fournier, D.; Woisel, P.; Detrembleur, C., Catechols as versatile platforms in polymer chemistry. *Progress in Polymer Science* **2013**, *38* (1), 236-270.
87. Ye, Q.; Zhou, F.; Liu, W., Bioinspired catecholic chemistry for surface modification. *Chemical Society Reviews* **2011**, *40* (7), 4244-4258.
88. Jackman, M. J.; Syres, K. L.; Cant, D. J. H.; Hardman, S. J. O.; Thomas, A. G., Adsorption of Dopamine on Rutile TiO₂ (110): A Photoemission and Near-Edge X-ray Absorption Fine Structure Study. *Langmuir* **2014**, *30* (29), 8761-8769.
89. Martin, S. T.; Kesselman, J. M.; Park, D. S.; Lewis, N. S.; Hoffmann, M. R., Surface Structures of 4-Chlorocatechol Adsorbed on Titanium Dioxide. *Environmental Science & Technology* **1996**, *30* (8), 2535-2542.
90. Liu, J.; Yang, W.; Zareie, H. M.; Gooding, J. J.; Davis, T. P., pH-Detachable Polymer Brushes Formed Using Titanium-Diol Coordination Chemistry and Living Radical Polymerization (RAFT). *Macromolecules* **2009**, *42* (8), 2931-2939.
91. Watson, M. A.; Lyskawa, J.; Zobrist, C.; Fournier, D.; Jimenez, M.; Traisnel, M.; Gengembre, L.; Woisel, P., A "Clickable" Titanium Surface Platform. *Langmuir* **2010**, *26* (20), 15920-15924.
92. Sever, M. J.; Wilker, J. J., Visible absorption spectra of metal-catecholate and metal-tironate complexes. *Dalton Transactions* **2004**, (7), 1061-1072.
93. Vatankhah-Varnoosfaderani, M.; Hashmi, S.; GhavamiNejad, A.; Stadler, F. J., Rapid self-healing and triple stimuli responsiveness of a supramolecular polymer gel based on boron-catechol interactions in a novel water-soluble mussel-inspired copolymer. *Polymer Chemistry* **2014**, *5* (2), 512-523.
94. Ptak, T.; Młynarz, P.; Dobosz, A.; Rydzewska, A.; Prokopowicz, M., Potentiometric and NMR complexation studies of phenylboronic acid PBA and its aminophosphonate analog with selected catecholamines. *Journal of Molecular Structure* **2013**, *1040* (0), 59-64.
95. Lee, H.; Rho, J.; Messersmith, P. B., Facile Conjugation of Biomolecules onto Surfaces via Mussel Adhesive Protein Inspired Coatings. *Advanced Materials* **2009**, *21* (4), 431-434.
96. de la Garza, L.; Saponjic, Z. V.; Rajh, T.; Dimitrijevic, N. M., Photoelectroactivity of a Hybrid System Constructed by Immobilization of Avidin onto Biotinylated TiO₂ Electrodes. *Chemistry of Materials* **2006**, *18* (11), 2682-2688.
97. Zheng, D.; Neoh, K. G.; Shi, Z.; Kang, E.-T., Assessment of stability of surface anchors for antibacterial coatings and immobilized growth factors on titanium. *Journal of Colloid and Interface Science* **2013**, *406* (0), 238-246.
98. Sedó, J.; Saiz-Poseu, J.; Busqué, F.; Ruiz-Molina, D., Catechol-Based Biomimetic Functional Materials. *Advanced Materials* **2013**, *25* (5), 653-701.

99. Geiseler, B.; Fruk, L., Bifunctional catechol based linkers for modification of TiO₂ surfaces. *Journal of Materials Chemistry* **2012**, 22 (2), 735-741.
100. Wang, D.; Ye, Q.; Yu, B.; Zhou, F., Towards chemically bonded p-n heterojunctions through surface initiated electrodeposition of p-type conducting polymer inside TiO₂ nanotubes. *Journal of Materials Chemistry* **2010**, 20 (33), 6910-6915.
101. Ye, Q.; Wang, X.; Li, S.; Zhou, F., Surface-Initiated Ring-Opening Metathesis Polymerization of Pentadecafluorooctyl-5-norbornene-2-carboxylate from Variable Substrates Modified with Sticky Biomimic Initiator. *Macromolecules* **2010**, 43 (13), 5554-5560.
102. Liu, J.; Ye, Q.; Yu, B.; Wang, X.; Zhou, F., Contact printing a biomimetic catecholic monolayer on a variety of surfaces and derivation reaction. *Chemical Communications* **2012**, 48 (3), 398-400.
103. Fan, X.; Lin, L.; Dalsin, J. L.; Messersmith, P. B., Biomimetic Anchor for Surface-Initiated Polymerization from Metal Substrates. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, 127 (45), 15843-15847.
104. Fan, X.; Lin, L.; Messersmith, P. B., Cell Fouling Resistance of Polymer Brushes Grafted from Ti Substrates by Surface-Initiated Polymerization: Effect of Ethylene Glycol Side Chain Length. *Biomacromolecules* **2006**, 7 (8), 2443-2448.
105. Tahir, M. N.; Eberhardt, M.; Theato, P.; Faiß, S.; Janshoff, A.; Gorelik, T.; Kolb, U.; Tremel, W., Reactive Polymers: A Versatile Toolbox for the Immobilization of Functional Molecules on TiO₂ Nanoparticles. *Angewandte Chemie International Edition* **2006**, 45 (6), 908-912.
106. Meuer, S.; Fischer, K.; Mey, I.; Janshoff, A.; Schmidt, M.; Zentel, R., Liquid Crystals from Polymer-Functionalized TiO₂ Nanorod Mesogens. *Macromolecules* **2008**, 41 (21), 7946-7952.
107. Xu, L. Q.; Jiang, H.; Neoh, K.-G.; Kang, E.-T.; Fu, G. D., Poly(dopamine acrylamide)-co-poly(propargyl acrylamide)-modified titanium surfaces for 'click' functionalization. *Polymer Chemistry* **2012**, 3, 920-927.
108. Malisova, B.; Tosatti, S.; Textor, M.; Gademann, K.; Zürcher, S., Poly(ethylene glycol) Adlayers Immobilized to Metal Oxide Substrates Through Catechol Derivatives: Influence of Assembly Conditions on Formation and Stability. *Langmuir* **2010**, 26 (6), 4018-4026.
109. Rodenstein, M.; Zürcher, S.; Tosatti, S. G. P.; Spencer, N. D., Fabricating Chemical Gradients on Oxide Surfaces by Means of Fluorinated, Catechol-Based, Self-Assembled Monolayers[†]. *Langmuir* **2010**, 26 (21), 16211-16220.
110. Li, G.; Cheng, G.; Xue, H.; Chen, S.; Zhang, F.; Jiang, S., Ultra low fouling zwitterionic polymers with a biomimetic adhesive group. *Biomaterials* **2008**, 29 (35), 4592-4597.
111. Arslan, M.; Gevrek, T. N.; Lyskawa, J.; Szunerits, S.; Boukherroub, R.; Sanyal, R.; Woisel, P.; Sanyal, A., Bioinspired Anchorable Thiol-Reactive Polymers: Synthesis and Applications Toward Surface Functionalization of Magnetic Nanoparticles. *Macromolecules* **2014**, 47 (15), 5124-5134.
112. Waite, J. H.; Tanzer, M. L., Polyphenolic Substance of *Mytilus edulis*: Novel Adhesive Containing L-Dopa and Hydroxyproline. *Science* **1981**, 212 (4498), 1038-1040.
113. Waite, J. H., Adhesion à la Moule. *Integrative and Comparative Biology* **2002**, 42 (6), 1172-1180.
114. Zhao, H.; Waite, J. H., Linking Adhesive and Structural Proteins in the Attachment Plaque of *Mytilus californianus*. *Journal of Biological Chemistry* **2006**, 281 (36), 26150-26158.
115. Lynge, M. E.; van der Westen, R.; Postma, A.; Stadler, B., Polydopamine-a nature-inspired polymer coating for biomedical science. *Nanoscale* **2011**, 3 (12), 4916-4928.
116. Fei, B.; Qian, B.; Yang, Z.; Wang, R.; Liu, W. C.; Mak, C. L.; Xin, J. H., Coating carbon nanotubes by spontaneous oxidative polymerization of dopamine. *Carbon* **2008**, 46 (13), 1795-1797.
117. Hu, H.; Yu, B.; Ye, Q.; Gu, Y.; Zhou, F., Modification of carbon nanotubes with a nanothin polydopamine layer and polydimethylamino-ethyl methacrylate brushes. *Carbon* **2010**, 48 (8), 2347-2353.
118. Ryou, M.-H.; Lee, D. J.; Lee, J.-N.; Lee, Y. M.; Park, J.-K.; Choi, J. W., Excellent Cycle Life of Lithium-Metal Anodes in Lithium-Ion Batteries with Mussel-Inspired Polydopamine-Coated Separators. *Advanced Energy Materials* **2012**, 2 (6), 645-650.

119. Nam, H. J.; Kim, B.; Ko, M. J.; Jin, M.; Kim, J. M.; Jung, D.-Y., A New Mussel-Inspired Polydopamine Sensitizer for Dye-Sensitized Solar Cells: Controlled Synthesis and Charge Transfer. *Chemistry – A European Journal* **2012**, *18* (44), 14000-14007.
120. Gao, H.; Sun, Y.; Zhou, J.; Xu, R.; Duan, H., Mussel-Inspired Synthesis of Polydopamine-Functionalized Graphene Hydrogel as Reusable Adsorbents for Water Purification. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2012**, *5* (2), 425-432.
121. Han, G.; Zhang, S.; Li, X.; Widjojo, N.; Chung, T.-S., Thin film composite forward osmosis membranes based on polydopamine modified polysulfone substrates with enhancements in both water flux and salt rejection. *Chemical Engineering Science* **2012**, *80* (0), 219-231.
122. Ruan, C.; Shi, W.; Jiang, H.; Sun, Y.; Liu, X.; Zhang, X.; Sun, Z.; Dai, L.; Ge, D., One-pot preparation of glucose biosensor based on polydopamine–graphene composite film modified enzyme electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2013**, *177* (0), 826-832.
123. Song, Q.; Li, M.; Huang, L.; Wu, Q.; Zhou, Y.; Wang, Y., Bifunctional polydopamine@Fe₃O₄ core–shell nanoparticles for electrochemical determination of lead(II) and cadmium(II). *Analytica Chimica Acta* **2013**, *787* (0), 64-70.
124. Jiang, J.; Zhu, L.; Zhu, L.; Zhu, B.; Xu, Y., Surface Characteristics of a Self-Polymerized Dopamine Coating Deposited on Hydrophobic Polymer Films. *Langmuir* **2011**, *27* (23), 14180-14187.
125. Ball, V.; Frari, D. D.; Toniazzo, V.; Ruch, D., Kinetics of polydopamine film deposition as a function of pH and dopamine concentration: Insights in the polydopamine deposition mechanism. *Journal of Colloid and Interface Science* **2012**, *386* (1), 366-372.
126. Bernsmann, F.; Ball, V.; Addiego, F. d. r.; Ponche, A.; Michel, M.; Gracio, J. J. d. A.; Toniazzo, V. r.; Ruch, D., Dopamine–Melanin Film Deposition Depends on the Used Oxidant and Buffer Solution. *Langmuir* **2011**, *27* (6), 2819-2825.
127. Kobayashi, S.; Makino, A., Enzymatic Polymer Synthesis: An Opportunity for Green Polymer Chemistry. *Chemical Reviews* **2009**, *109* (11), 5288-5353.
128. Ouyang, R.; Lei, J.; Ju, H.; Xue, Y., A Molecularly Imprinted Copolymer Designed for Enantioselective Recognition of Glutamic Acid. *Advanced Functional Materials* **2007**, *17* (16), 3223-3230.
129. Liebscher, J.; Mrówczyński, R.; Scheidt, H. A.; Filip, C.; Hădăde, N. D.; Turcu, R.; Bende, A.; Beck, S., Structure of Polydopamine: A Never-Ending Story? *Langmuir* **2013**, *29* (33), 10539-10548.
130. Kang, S.; Elimelech, M., Bioinspired Single Bacterial Cell Force Spectroscopy. *Langmuir* **2009**, *25* (17), 9656-9659.
131. Della Vecchia, N. F.; Avolio, R.; Alfè, M.; Errico, M. E.; Napolitano, A.; d'Ischia, M., Building-Block Diversity in Polydopamine Underpins a Multifunctional Eumelanin-Type Platform Tunable Through a Quinone Control Point. *Advanced Functional Materials* **2013**, *23* (10), 1331-1340.
132. Dreyer, D. R.; Miller, D. J.; Freeman, B. D.; Paul, D. R.; Bielawski, C. W., Elucidating the Structure of Poly(dopamine). *Langmuir* **2012**, *28* (15), 6428-6435.
133. Hong, S.; Na, Y. S.; Choi, S.; Song, I. T.; Kim, W. Y.; Lee, H., Non-Covalent Self-Assembly and Covalent Polymerization Co-Contribute to Polydopamine Formation. *Advanced Functional Materials* **2012**, *22* (22), 4711-4717.
134. Liu, Y.; Ai, K.; Lu, L., Polydopamine and Its Derivative Materials: Synthesis and Promising Applications in Energy, Environmental, and Biomedical Fields. *Chemical Reviews* **2014**, *114* (9), 5057-5115.
135. Chien, C.-Y.; Tsai, W.-B., Poly(dopamine)-Assisted Immobilization of Arg-Gly-Asp Peptides, Hydroxyapatite, and Bone Morphogenic Protein-2 on Titanium to Improve the Osteogenesis of Bone Marrow Stem Cells. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2013**, *5* (15), 6975-6983.
136. Xie, D.; Cai, K.; Hu, Y.; Luo, Z., Surface engineering of titanium substrates with chitosan-atorvastatin conjugate for reduced inflammation responses and improved cytocompatibility. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **2013**, *101A* (7), 2005-2014.
137. Zhao, L.; Hu, Y.; Xu, D.; Cai, K., Surface functionalization of titanium substrates with chitosan–lauric acid conjugate to enhance osteoblasts functions and inhibit bacteria adhesion. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2014**, *119* (0), 115-125.

138. Liu, T.; Zeng, Z.; Liu, Y.; Wang, J.; Maitz, M. F.; Wang, Y.; Liu, S.; Chen, J.; Huang, N., Surface Modification with Dopamine and Heparin/Poly-L-Lysine Nanoparticles Provides a Favorable Release Behavior for the Healing of Vascular Stent Lesions. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2014**, 6 (11), 8729-8743.
139. Li, G.; Xie, B.; Pan, C.; Yang, P.; Ding, H.; Huang, N., Facile conjugation of heparin onto titanium surfaces via dopamine inspired coatings for improving blood compatibility. *J. Wuhan Univ. Technol.-Mat. Sci. Edit.* **2014**, 29 (4), 832-840.
140. Vanderleyden, E.; Van Bael, S.; Chai, Y. C.; Kruth, J. P.; Schrooten, J.; Dubruel, P., Gelatin functionalised porous titanium alloy implants for orthopaedic applications. *Materials Science and Engineering: C* **2014**, 42 (0), 396-404.
141. Yu, X.; Walsh, J.; Wei, M., Covalent immobilization of collagen on titanium through polydopamine coating to improve cellular performances of MC3T3-E1 cells. *RSC Advances* **2014**, 4 (14), 7185-7192.
142. Weng, Y.; Song, Q.; Zhou, Y.; Zhang, L.; Wang, J.; Chen, J.; Leng, Y.; Li, S.; Huang, N., Immobilization of selenocystamine on TiO₂ surfaces for in situ catalytic generation of nitric oxide and potential application in intravascular stents. *Biomaterials* **2011**, 32 (5), 1253-1263.
143. Poh, C. K.; Shi, Z.; Lim, T. Y.; Neoh, K. G.; Wang, W., The effect of VEGF functionalization of titanium on endothelial cells in vitro. *Biomaterials* **2010**, 31 (7), 1578-1585.
144. Shen, W.; Cai, K.; Yang, Z.; Yan, Y.; Yang, W.; Liu, P., Improved endothelialization of NiTi alloy by VEGF functionalized nanocoating. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2012**, 94 (0), 347-353.
145. Kang, J.; Sakuragi, M.; Shibata, A.; Abe, H.; Kitajima, T.; Tada, S.; Mizutani, M.; Ohmori, H.; Ayame, H.; Son, T. I.; Aigaki, T.; Ito, Y., Immobilization of epidermal growth factor on titanium and stainless steel surfaces via dopamine treatment. *Materials Science and Engineering: C* **2012**, 32 (8), 2552-2561.
146. Hu, Y.; Cai, K.; Luo, Z.; Zhang, Y.; Li, L.; Lai, M.; Hou, Y.; Huang, Y.; Li, J.; Ding, X.; Zhang, B.; Paul Sung, K. L., Regulation of the differentiation of mesenchymal stem cells in vitro and osteogenesis in vivo by microenvironmental modification of titanium alloy surfaces. *Biomaterials* **2012**, 33 (13), 3515-3528.
147. Lai, M.; Cai, K.; Zhao, L.; Chen, X.; Hou, Y.; Yang, Z., Surface Functionalization of TiO₂ Nanotubes with Bone Morphogenetic Protein 2 and Its Synergistic Effect on the Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. *Biomacromolecules* **2011**, 12 (4), 1097-1105.
148. Xu, D.; Yang, W.; Hu, Y.; Luo, Z.; Li, J.; Hou, Y.; Liu, Y.; Cai, K., Surface functionalization of titanium substrates with cecropin B to improve their cytocompatibility and reduce inflammation responses. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2013**, 110 (0), 225-235.
149. Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B., Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angewandte Chemie International Edition* **2001**, 40 (11), 2004-2021.
150. Xi, W.; Scott, T. F.; Kloxin, C. J.; Bowman, C. N., Click Chemistry in Materials Science. *Advanced Functional Materials* **2014**, 24 (18), 2572-2590.
151. Li, N.; Binder, W. H., Click-chemistry for nanoparticle-modification. *Journal of Materials Chemistry* **2011**, 21 (42), 16717-16734.
152. Collman, J. P.; Devaraj, N. K.; Chidsey, C. E. D., "Clicking" Functionality onto Electrode Surfaces. *Langmuir* **2004**, 20 (4), 1051-1053.
153. Gouget-Laemmel, A. C.; Yang, J.; Lodhi, M. A.; Siriwardena, A.; Aureau, D.; Boukherroub, R.; Chazalviel, J. N.; Ozanam, F.; Szunerits, S., Functionalization of Azide-Terminated Silicon Surfaces with Glycans Using Click Chemistry: XPS and FTIR Study. *The Journal of Physical Chemistry C* **2012**, 117 (1), 368-375.
154. Dirlam, P. T.; Strange, G. A.; Orlicki, J. A.; Wetzel, E. D.; Costanzo, P. J., Controlling Surface Energy and Wettability with Diels-Alder Chemistry. *Langmuir* **2009**, 26 (6), 3942-3948.
155. Marechal, A.; El-Debs, R.; Dugas, V.; Demesmay, C., Is click chemistry attractive for separation sciences? *Journal of Separation Science* **2013**, 36 (13), 2049-2062.
156. Huisgen, R., 1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1963**, 2 (10), 565-598.

157. Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B., A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective "Ligation" of Azides and Terminal Alkynes. *Angewandte Chemie International Edition* **2002**, 41 (14), 2596-2599.
158. Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M., Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides. *The Journal of Organic Chemistry* **2002**, 67 (9), 3057-3064.
159. Hein, J. E.; Fokin, V. V., Copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC) and beyond: new reactivity of copper(i) acetylides. *Chemical Society Reviews* **2010**, 39 (4), 1302-1315.
160. Bräse, S.; Gil, C.; Knepper, K.; Zimmermann, V., Organic Azides: An Exploding Diversity of a Unique Class of Compounds. *Angewandte Chemie International Edition* **2005**, 44 (33), 5188-5240.
161. Devaraj, N. K.; Miller, G. P.; Ebina, W.; Kakaradov, B.; Collman, J. P.; Kool, E. T.; Chidsey, C. E. D., Chemoselective Covalent Coupling of Oligonucleotide Probes to Self-Assembled Monolayers. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, 127 (24), 8600-8601.
162. Hudalla, G. A.; Murphy, W. L., Using "Click" Chemistry to Prepare SAM Substrates to Study Stem Cell Adhesion. *Langmuir* **2009**, 25 (10), 5737-5746.
163. Sun, X.-L.; Stabler, C. L.; Cazalis, C. S.; Chaikof, E. L., Carbohydrate and Protein Immobilization onto Solid Surfaces by Sequential Diels–Alder and Azide–Alkyne Cycloadditions. *Bioconjugate Chemistry* **2005**, 17 (1), 52-57.
164. Haensch, C.; Erdmenger, T.; Fijten, M. W. M.; Hoeppener, S.; Schubert, U. S., Fast Surface Modification by Microwave Assisted Click Reactions on Silicon Substrates. *Langmuir* **2009**, 25 (14), 8019-8024.
165. Li, Y.; Cai, C., Click Chemistry-Based Functionalization on Non-Oxidized Silicon Substrates. *Chemistry – An Asian Journal* **2011**, 6 (10), 2592-2605.
166. Lummerstorfer, T.; Hoffmann, H., Click Chemistry on Surfaces: 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions of Azide-Terminated Monolayers on Silica. *The Journal of Physical Chemistry B* **2004**, 108 (13), 3963-3966.
167. Li, H.; Cheng, F.; Duft, A. M.; Adronov, A., Functionalization of Single-Walled Carbon Nanotubes with Well-Defined Polystyrene by "Click" Coupling. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, 127 (41), 14518-14524.
168. Mazur, M.; Barras, A.; Kuncser, V.; Galatanu, A.; Zaitzev, V.; Turcheniuk, K. V.; Woisel, P.; Lyskawa, J.; Laure, W.; Siriwardena, A.; Boukherroub, R.; Szunerits, S., Iron oxide magnetic nanoparticles with versatile surface functions based on dopamine anchors. *Nanoscale* **2013**, 5 (7), 2692-2702.
169. Drockenmüller, E.; Colinet, I.; Damiro, D.; Gal, F. o.; Perez, H.; Carrot, G. r., Efficient Approaches for the Surface Modification of Platinum Nanoparticles via Click Chemistry. *Macromolecules* **2010**, 43 (22), 9371-9375.
170. Lutz, J.-F.; Zarafshani, Z., Efficient construction of therapeutics, bioconjugates, biomaterials and bioactive surfaces using azide–alkyne "click" chemistry. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2008**, 60 (9), 958-970.
171. Kim, E.-C.; Kim, T.-H.; Jung, J.-H.; Hong, S. O.; Lee, D.-W., Enhanced osteogenic differentiation of MC3T3-E1 on rhBMP-2-immobilized titanium via click reaction. *Carbohydrate Polymers* **2014**, 103 (0), 170-178.
172. Bishop, L. M.; Yeager, J. C.; Chen, X.; Wheeler, J. N.; Torelli, M. D.; Benson, M. C.; Burke, S. D.; Pedersen, J. A.; Hamers, R. J., A Citric Acid-Derived Ligand for Modular Functionalization of Metal Oxide Surfaces via "Click" Chemistry. *Langmuir* **2011**, 28 (2), 1322-1329.
173. Shah, S.; Benson, M. C.; Bishop, L. M.; Huhn, A. M.; Ruther, R. E.; Yeager, J. C.; Tan, Y.; Louis, K. M.; Hamers, R. J., Chemically assembled heterojunctions of SnO₂ nanorods with TiO₂ nanoparticles via "click" chemistry. *Journal of Materials Chemistry* **2012**, 22 (23), 11561-11567.
174. Yadav, S. K.; Madheshwaran, S. R.; Cho, J. W., Synthesis of a hybrid assembly composed of titanium dioxide nanoparticles and thin multi-walled carbon nanotubes using "click chemistry". *Journal of Colloid and Interface Science* **2011**, 358 (2), 471-476.

175. Tchoul, M. N.; Fillery, S. P.; Koerner, H.; Drummy, L. F.; Oyerokun, F. T.; Mirau, P. A.; Durstock, M. F.; Vaia, R. A., Assemblies of Titanium Dioxide-Polystyrene Hybrid Nanoparticles for Dielectric Applications. *Chemistry of Materials* **2010**, 22 (5), 1749-1759.
176. White, M. A.; Maliakal, A.; Turro, N. J.; Koberstein, J., "Click" Dielectrics: Use of 1,3-Dipolar Cycloadditions to Generate Diverse Core-Shell Nanoparticle Structures with Applications to Flexible Electronics. *Macromolecular Rapid Communications* **2008**, 29 (18), 1544-1548.
177. Diels, O.; Alder, K., Synthesen in der hydroaromatischen Reihe. *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1928**, 460 (1), 98-122.
178. Nimmo, C. M.; Shoichet, M. S., Regenerative Biomaterials that "Click": Simple, Aqueous-Based Protocols for Hydrogel Synthesis, Surface Immobilization, and 3D Patterning. *Bioconjugate Chemistry* **2011**, 22 (11), 2199-2209.
179. Kuzmyn, A. R.; de los Santos Pereira, A.; Pop-Georgievski, O.; Bruns, M.; Brynda, E.; Rodriguez-Emmenegger, C., Exploiting end group functionalization for the design of antifouling bioactive brushes. *Polymer Chemistry* **2014**, 5 (13), 4124-4131.
180. Yameen, B.; Rodriguez-Emmenegger, C.; Preuss, C. M.; Pop-Georgievski, O.; Verveniots, E.; Trouillet, V.; Rezek, B.; Barner-Kowollik, C., A facile avenue to conductive polymer brushes via cyclopentadiene-maleimide Diels-Alder ligation. *Chemical Communications* **2013**, 49 (77), 8623-8625.
181. Wendeln, C.; Heile, A.; Arlinghaus, H. F.; Ravoo, B. J., Carbohydrate Microarrays by Microcontact Printing. *Langmuir* **2010**, 26 (7), 4933-4940.
182. Gevrek, T. N.; Ozdeslik, R. N.; Sahin, G. S.; Yesilbag, G.; Mutlu, S.; Sanyal, A., Functionalization of Reactive Polymeric Coatings via Diels-Alder Reaction Using Microcontact Printing. *Macromolecular Chemistry and Physics* **2012**, 213 (2), 166-172.
183. Engel, T.; Kickelbick, G., Thermoreversible Reactions on Inorganic Nanoparticle Surfaces: Diels-Alder Reactions on Sterically Crowded Surfaces. *Chemistry of Materials* **2012**, 25 (2), 149-157.
184. Chen, C.; Fruk, L., Functionalization of maleimide-coated silver nanoparticles through Diels-Alder cycloaddition. *RSC Advances* **2013**, 3 (6), 1709-1713.
185. Sun, X.-L.; Yang, L.; Chaikof, E. L., Chemoselective immobilization of biomolecules through aqueous Diels-Alder and PEG chemistry. *Tetrahedron Letters* **2008**, 49 (16), 2510-2513.
186. Preuss, C. M.; Goldmann, A. S.; Trouillet, V.; Walther, A.; Barner-Kowollik, C., Biomimetic Dopamine-Diels-Alder Switches. *Macromolecular Rapid Communications* **2013**, 34 (8), 640-644.
187. Posner, T., Beiträge zur Kenntniss der ungesättigten Verbindungen. II. Ueber die Addition von Mercaptanen an ungesättigte Kohlenwasserstoffe. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1905**, 38 (1), 646-657.
188. Hoyle, C. E.; Lowe, A. B.; Bowman, C. N., Thiol-click chemistry: a multifaceted toolbox for small molecule and polymer synthesis. *Chemical Society Reviews* **2010**, 39 (4), 1355-1387.
189. Nair, D. P.; Podgórski, M.; Chatani, S.; Gong, T.; Xi, W.; Fenoli, C. R.; Bowman, C. N., The Thiol-Michael Addition Click Reaction: A Powerful and Widely Used Tool in Materials Chemistry. *Chemistry of Materials* **2013**, 26 (1), 724-744.
190. Xi, W.; Wang, C.; Kloxin, C. J.; Bowman, C. N., Nitrogen-Centered Nucleophile Catalyzed Thiol-Vinylsulfone Addition, Another Thiol-ene "Click" Reaction. *ACS Macro Letters* **2012**, 1 (7), 811-814.
191. Hoyle, C. E.; Bowman, C. N., Thiol-Ene Click Chemistry. *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, 49 (9), 1540-1573.
192. Hensarling, R. M.; Patton, D. L., CHAPTER 12 Surface Engineering with Thiol-click Chemistry. In *Thiol-X Chemistries in Polymer and Materials Science*, The Royal Society of Chemistry: 2013; pp 259-285.
193. Liang, X.; Shen, A.; Guo, Z., CHAPTER 13 The Application of Thiol-Ene/Yne Radical Click Chemistry in Surface Modification and Functionalization. In *Thiol-X Chemistries in Polymer and Materials Science*, The Royal Society of Chemistry: 2013; pp 286-308.
194. Lowe, A. B., Thiol-ene "click" reactions and recent applications in polymer and materials synthesis: a first update. *Polymer Chemistry* **2014**, 5 (17), 4820-4870.
195. Jonkheijm, P.; Weinrich, D.; Köhn, M.; Engelkamp, H.; Christianen, P. C. M.; Kuhlmann, J.; Maan, J. C.; Nüsse, D.; Schroeder, H.; Wacker, R.; Breinbauer, R.; Niemeyer, C. M.; Waldmann, H.,

- Photochemical Surface Patterning by the Thiol-Ene Reaction. *Angewandte Chemie* **2008**, 120 (23), 4493-4496.
196. Bexell, U.; Berger, R.; Olsson, M.; Grehk, T. M.; Sundell, P. E.; Johansson, M., Bonding of vegetable oils to mercapto silane treated metal surfaces: Surface engineering on the nano scale. *Thin Solid Films* **2006**, 515 (2), 838-841.
197. Harant, A. W.; Khire, V. S.; Thibodaux, M. S.; Bowman, C. N., Thiol-Ene Photopolymer Grafts on Functionalized Glass and Silicon Surfaces. *Macromolecules* **2006**, 39 (4), 1461-1466.
198. Yang, W. J.; Neoh, K.-G.; Kang, E.-T.; Lay-Ming Teo, S.; Rittschof, D., Stainless steel surfaces with thiol-terminated hyperbranched polymers for functionalization via thiol-based chemistry. *Polymer Chemistry* **2013**, 4 (10), 3105-3115.
199. Gobbo, P.; Biesinger, M. C.; Workentin, M. S., Facile synthesis of gold nanoparticle (AuNP)-carbon nanotube (CNT) hybrids through an interfacial Michael addition reaction. *Chemical Communications* **2013**, 49 (27), 2831-2833.
200. Zhu, J.; Waengler, C.; Lennox, R. B.; Schirrmacher, R., Preparation of Water-Soluble Maleimide-Functionalized 3 nm Gold Nanoparticles: A New Bioconjugation Template. *Langmuir* **2012**, 28 (13), 5508-5512.
201. Tedja, R.; Soeriyadi, A. H.; Whittaker, M. R.; Lim, M.; Marquis, C.; Boyer, C.; Davis, T. P.; Amal, R., Effect of TiO₂ nanoparticle surface functionalization on protein adsorption, cellular uptake and cytotoxicity: the attachment of PEG comb polymers using catalytic chain transfer and thiol-ene chemistry. *Polymer Chemistry* **2012**, 3 (10), 2743-2751.
202. Gao, G.; Yu, K.; Kindrachuk, J.; Brooks, D. E.; Hancock, R. E. W.; Kizhakkedathu, J. N., Antibacterial Surfaces Based on Polymer Brushes: Investigation on the Influence of Brush Properties on Antimicrobial Peptide Immobilization and Antimicrobial Activity. *Biomacromolecules* **2011**, 12 (10), 3715-3727.

CHAPITRE 2 : Elaboration de plateformes de titane aux propriétés physico-chimiques modulables à l'aide d'ancres fonctionnalisées à base de dopamine

Table des Matières

Introduction	63
 I. Synthèse, caractérisation et immobilisation des ancres chimiques à base de dopamine sur des surfaces de titane	 64
I.1. Synthèse et caractérisation des ancres Dopamine-Furane et Dopamine-Maléimide	64
I.2. Immobilisation des ancres sur les surfaces de titane	66
I.2.1. Apprêtage des échantillons	66
I.2.2. Fonctionnalisation chimique des surfaces de titane.....	66
I.2.3. Caractérisation des plateformes Ti-DF et Ti-DM.....	67
 II. Post-fonctionnalisation des plateformes de titane modifiées <i>via</i> la réaction de Diels-Alder	 70
II.1. Post-fonctionnalisation des plateformes de titane à l'aide de sondes électrochimiques fonctionnalisées par un motif furane ou maléimide	70
II.2. Recyclage des plateformes grâce au caractère thermoréversible de la réaction de Diels-Alder.....	74
II.3. Elaboration de plateformes de titane aux propriétés physico-chimiques de surface interchangeables.....	78
 Conclusion	 82
Références bibliographiques	83

Introduction

L'objectif de ce chapitre consiste à démontrer le potentiel des ancres dérivées de dopamine pour développer des plateformes à base de titane dont les propriétés physico-chimiques pourront être modulées à façon et ceci de manière réversible. Plus particulièrement, l'aptitude des dérivés de dopamine à se greffer sur le titane sera exploitée et combinée à la réaction de cycloaddition [4+2] thermoréversible de type Diels-Alder (DA) par l'intermédiaire du système furane/maléimide. A ce stade, deux stratégies de fonctionnalisation peuvent être envisagées : greffage d'une ancre dopamine équipée d'un motif furane puis immobilisation d'un greffon à l'aide de (macro)molécules dotées d'une entité maléimide ou, inversement, élaboration d'une surface incorporant un groupement maléimide puis modification de celle-ci au moyen de (macro)molécules fonctionnalisées par un groupement furane. L'un des objectifs de cette étude sera donc de déterminer quelle est l'approche la plus efficace. Ainsi, nous décrirons dans un premier temps la synthèse et l'immobilisation des ancres chimiques fonctionnalisées sur les surfaces de titane. Dans une seconde partie, nous développerons la stratégie de fonctionnalisation permettant d'immobiliser diverses molécules fonctionnelles sur les plateformes de titane dans le but d'élaborer de nouveaux matériaux recyclables aux propriétés physico-chimiques contrôlables. Nous présenterons ensuite les résultats des différentes études physico-chimiques utilisées pour évaluer l'efficacité du greffage des ancres chimiques et l'immobilisation des diverses molécules sondes sur les surfaces (électrochimie, XPS). Enfin, l'effet de la fonctionnalisation de surface sur les propriétés physico-chimiques des matériaux (balance hydrophile/hydrophobe) sera évalué par des études de mouillabilité (angle de contact).

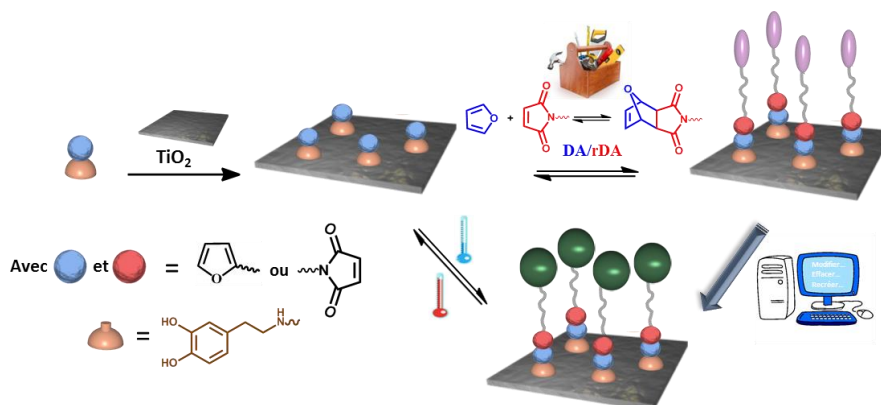


Figure II.42 : Schématisation de la stratégie employée pour l'élaboration de plateformes de titane aux propriétés physico-chimiques interchangeables par l'intermédiaire d'ancres catéchols fonctionnalisées

I. Synthèse, caractérisation et immobilisation des ancres chimiques à base de dopamine sur des surfaces de titane

I.1. Synthèse et caractérisation des ancres Dopamine-Furane et Dopamine-Maléimide

Nous avons tout d'abord synthétisé deux nouvelles ancres chimiques à base de dopamine comportant chacune, un motif catéchol capable de se fixer efficacement sur la surface de titane et une entité furane ou maléimide susceptible d'être engagée dans une réaction thermoréversible de type Diels-Alder. Les synthèses des ancres Dopamine-Furane (DF) et Dopamine-Maléimide (DM) sont décrites dans la Figure II.43.

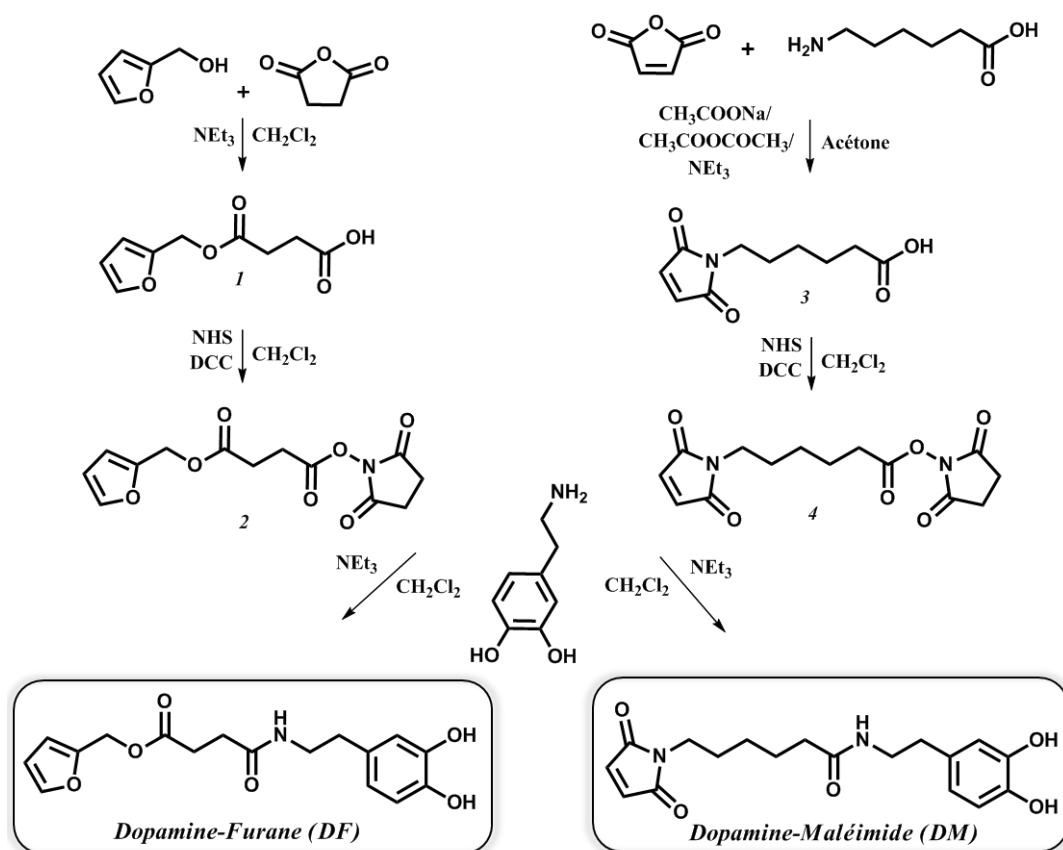


Figure II.43 : Stratégies de synthèse des ancres Dopamine-Furane et Dopamine-Maléimide

Pour l'élaboration de l'ancre DF, l'alcool furfurylique réagit avec l'anhydride succinique en présence de triéthylamine pour donner le composé **1**. Cet acide carboxylique est ensuite activé par le *N*-hydroxysuccinimide (NHS) pour former le composé **2**, qui, par réaction avec la dopamine, fournit l'ancre Dopamine-Furane avec un bon rendement ($\approx 60\%$). L'ancre

Dopamine-Maléimide est obtenue, quant à elle, en mettant en contact l'anhydride maléique et l'acide amino-6-hexanoïque ce qui conduit à l'acide carboxylique **3**. Ce dernier est ensuite activé par le NHS pour donner le composé **4** qui, après une réaction de couplage avec la dopamine, fournit l'ancre DM (rendement $\approx 30\%$).

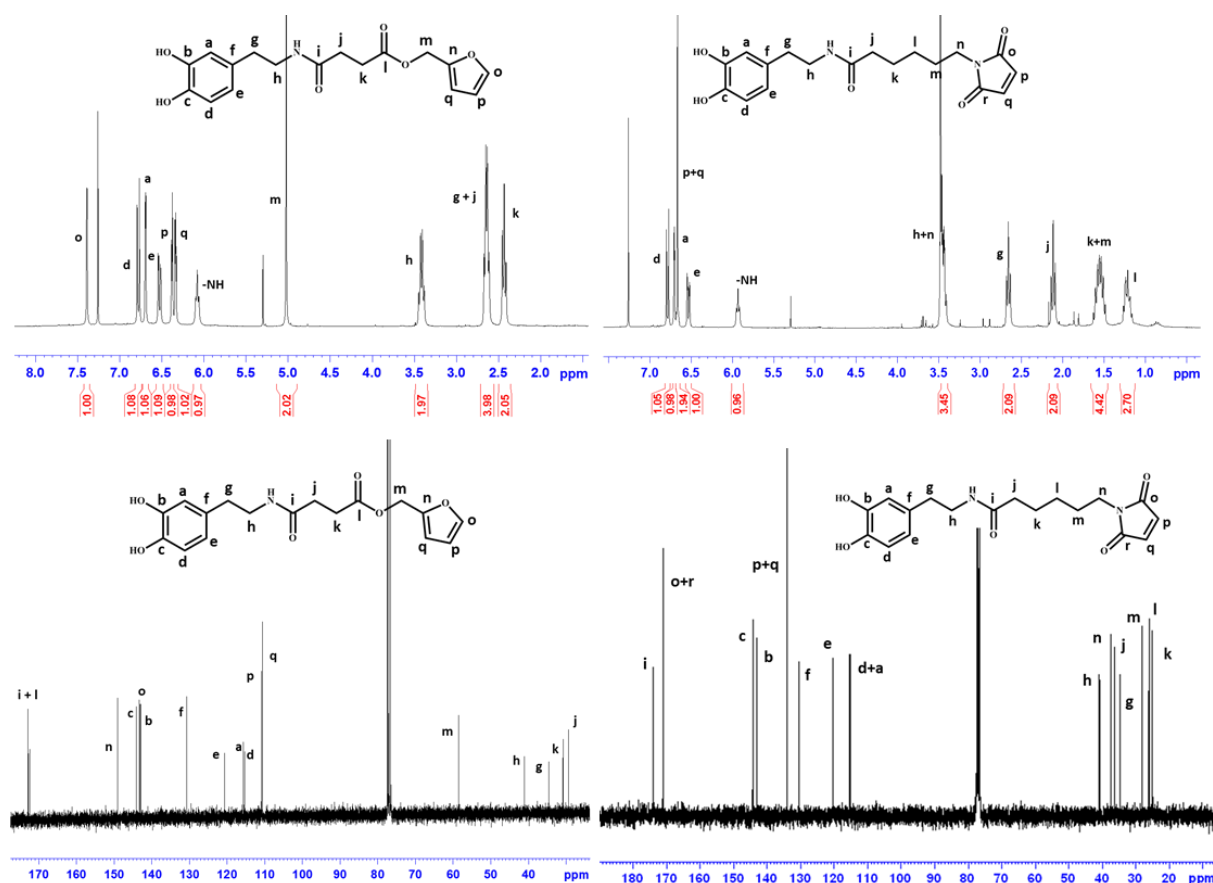


Figure II.44 : Spectres RMN ^1H (haut) et ^{13}C (bas) des ancres Dopamine-Furane (gauche) et Dopamine-Maléimide (droite) dans CDCl_3

Les structures des ancres DF et DM ont été confirmées par des analyses RMN ^1H et ^{13}C (Figure II.44) ainsi que par spectrométrie de masse (partie expérimentale). Les spectres RMN ^1H indiquent dans les deux cas la présence des protons H_a , H_d et H_e caractéristiques du fragment catéchol situés entre $\delta = 6,5$ et $\delta = 6,8$ ppm ainsi que ceux des entités furane ou maléimide observables dans la zone $\delta = 6,3 - 7,4$ ppm et à $\delta = 6,7$ ppm respectivement. Les spectres RMN ^{13}C confirment également les structures des ancres fonctionnalisées dans la mesure où ils révèlent la présence de déplacements chimiques situés aux alentours de 170 ppm relatifs aux fonctions amides contenues dans chacune des ancres.

I.2. Immobilisation des ancres sur les surfaces de titane

I.2.1. Apprêtage des échantillons

La forme et les dimensions des échantillons de titane utilisés pour la fonctionnalisation ainsi que leurs états de surface doivent être parfaitement identiques afin de pouvoir comparer les résultats obtenus : il est donc nécessaire d'apprêter la surface physiquement et chimiquement *via* un protocole standardisé. Pour ce faire, des pastilles circulaires ($\varnothing = 15$ mm, $h = 3$ mm) de titane (grade 4 ; Ti-cp4, 99,6% de pureté) sont utilisées et font l'objet d'un polissage automatique permettant d'obtenir un état de surface qualifié de « miroir ». Cette étape de polissage, qui fournit des échantillons aux rugosités similaires (comprises entre 50 et 100 nm), est immédiatement suivie de rinçages à l'eau distillée, à l'acétone et à l'éthanol afin d'éliminer tout résidu de polissage.

Le titane s'oxyde naturellement au contact de l'air, ce qui engendre la formation d'une couche d'oxyde de titane de quelques nanomètres à sa surface ¹⁻². Afin d'augmenter l'épaisseur de cette couche d'oxyde (constituée principalement de fonctions hydroxyles) et donc d'améliorer le taux de greffage des ancres fonctionnalisées sur la surface de titane, les échantillons sont immergés dans une solution oxydante appelée « piranha ». Cette solution, qui est composée d'un mélange d'acide sulfurique et de peroxyde d'hydrogène (H_2SO_4/H_2O_2 1:1 v/v) est mise en contact avec les surfaces pendant 120 secondes. Ce temps d'immersion est la durée optimale permettant d'augmenter la couche d'oxyde de surface sans pour autant dénaturer l'état de surface du matériau. L'influence du temps d'immersion a fait l'objet d'une étude antérieure de microscopie au laboratoire ³ et ne sera pas décrite dans cette thèse. A la fin de l'étape d'oxydation, le titane est abondamment rincé à l'eau distillée, à l'acétone et à l'éthanol sous ultrasons afin d'éliminer les sources de pollution potentielles telles que les espèces soufrées, par exemple, qui peuvent être préjudiciables pour les applications futures.

I.2.2. Fonctionnalisation chimique des surfaces de titane

Dans un premier temps, la stratégie de fonctionnalisation développée dans cette partie consiste à immobiliser sur les surfaces de titane les ancres DF et DM par l'intermédiaire du motif catéchol présent dans chacune des deux structures (Figure II.45).

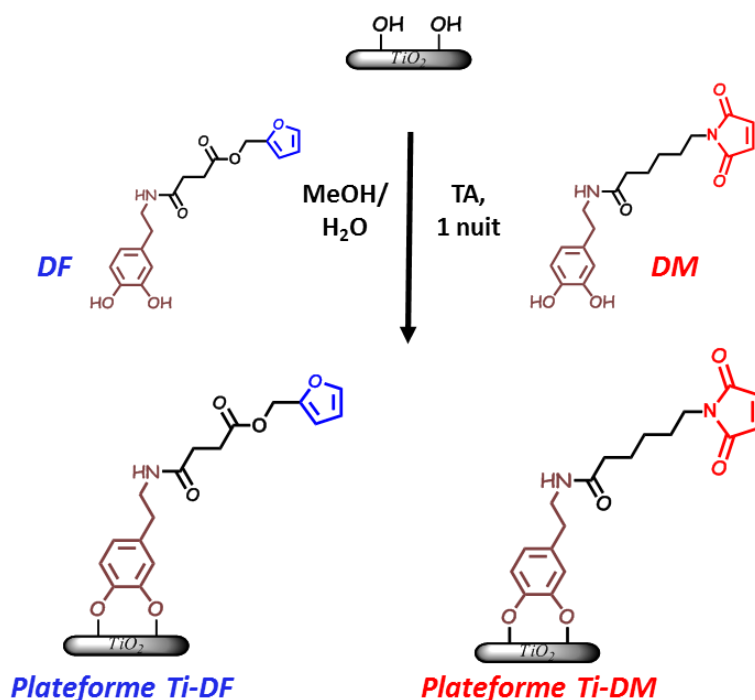


Figure II.45 : Fonctionnalisation du titane par les ancrs DF et DM

Pour ce faire, les surfaces de titane oxydées sont modifiées par simple immersion des échantillons dans une solution ($\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 1:1 v/v) contenant l'ancre dopamine fonctionnalisée furane ou maléimide à une concentration de $1.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Après une nuit à température ambiante et sous agitation, les pastilles de titane sont abondamment rincées avec le mélange de solvant utilisé lors de la fonctionnalisation puis séchées sous flux d'azote.

1.2.3. Caractérisation des plateformes Ti-DF et Ti-DM

Afin de s'assurer du greffage des ancrs sur les plateformes de titane fonctionnalisées, les propriétés électrochimiques du fragment catéchol ont été exploitées. En effet, il est possible de contrôler de manière simple et rapide la présence de l'ancre sur la surface par une étude de voltampérométrie cyclique (CV). Ainsi, nous avons réalisé les voltampérogrammes des surfaces de titane fonctionnalisées par les ancrs DF et DM. Les enregistrements révèlent la présence d'une vague d'oxydation non réversible vers 0,95 V (vs Ag/AgCl) caractéristique de l'oxydation du motif catéchol en quinone, confirmant ainsi le greffage des ancrs sur le matériau ⁴ (Figure II.46).

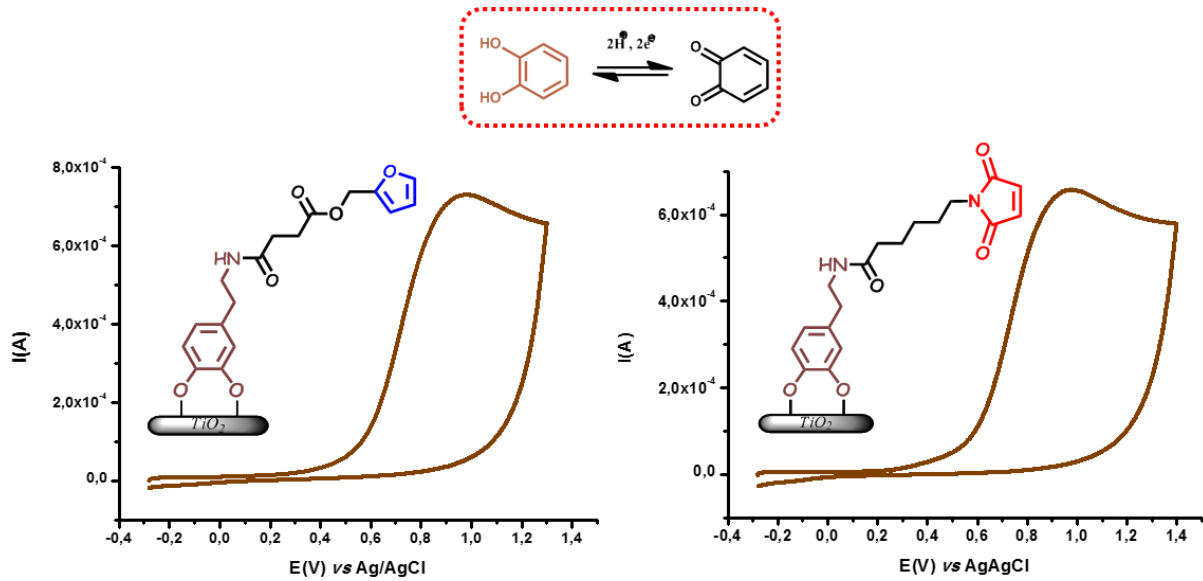


Figure II.46 : Voltampérogrammes cycliques des plateformes Ti-DF (gauche) et Ti-DM (droite) enregistrés dans une solution tampon phosphate à pH = 7 et à une vitesse de balayage de 50 mV.s⁻¹

De plus, l'exploitation de ces résultats permet également d'estimer la densité de greffage de chacune des ancres sur la surface de titane par intégration du signal électrochimique du motif catéchol. Grâce à l'application de l'Équation II.1 où Q représente la quantité de charge obtenue en intégrant l'aire sous la vague d'oxydation et en définissant n égal à 2 (nombre d'électrons échangés lors de l'oxydation du motif catéchol en quinone), des taux de recouvrement de $\Gamma = 9,8 \times 10^{15}$ et de $\Gamma = 1,0 \times 10^{16}$ molécules.cm⁻² sont finalement obtenus pour des surfaces de titane modifiées respectivement par les ancres DF et DM.

$$\Gamma = \frac{QNa}{nFA}$$

où Γ = taux de recouvrement exprimé en molécules.cm⁻²

Q = quantité de charges exprimée en coulomb (C)

Na = nombre d'Avogadro

n = nombre d'électron(s) échangé(s)

F = constante de Faraday exprimée en coulomb par mol (C.mol⁻¹)

A = aire de la surface analysée en cm²

Équation II.1 : Formule utilisée pour calculer le taux de recouvrement Γ des plateformes Ti-DF et Ti-DM à partir des voltampérogrammes enregistrés

Les quantifications obtenues indiquent une densité de greffage élevée en ancre chimique et témoignent ainsi, de nouveau, de l'efficacité des dérivés de dopamine pour fonctionnaliser des surfaces de titane ⁵.

L'immobilisation des ancrs sur les surfaces a également été confirmée par des analyses de spectroscopie de photoélectrons X (XPS). Le Tableau II.2 répertorie les compositions chimiques surfaciques de chacun des échantillons. Tout d'abord, le spectre XPS d'une surface de titane dépourvue de revêtement indique la présence de titane (Ti 2p, 458,6 eV) et d'oxygène (O 1s, 530,1 eV) comme attendu, mais également de carbone, d'azote et de résidus de zinc, pouvant être assimilés à une pollution du matériau acquise lors de la préparation et/ou du traitement des surfaces comme souvent observé dans la littérature ⁶⁻⁹.

Tableau II.2. Quantifications atomiques obtenues sur des surfaces de titane nues et fonctionnalisées par les ancrs catéchols modifiées (valeurs exprimées en %)

	Ti 2p	O 1s	C 1s	N 1s	Zn 2p3
<i>Titane nu</i>	24.95	54.04	19.92	0.89	0.20
<i>Ti Dopamine-Furane (Ti-DF)</i>	16.51	40.99	39.98	2.03	0.49
<i>Ti Dopamine-Maleimide (Ti-DM)</i>	12.10	34.75	49.89	2.90	0.36

Les quantifications XPS des surfaces de titane fonctionnalisées par les ancrs DF et DM montrent, quant à elles, une augmentation significative des signaux du carbone (C 1s) et de l'azote (N 1s) par rapport à la surface non modifiée. On observe également une diminution de l'intensité du signal du titane sur les plateformes Ti-DF et Ti-DM, ce qui coïncide avec un recouvrement des surfaces par un film organique. De plus, la déconvolution du niveau de cœur du carbone de la surface Ti-DF (Figure II.47, gauche) permet d'identifier clairement les composantes C-C/C-H, C-O/C-N et COO (respectivement à 284,9, 286,5 et 288,6 eV) des fonctions chimiques présentes sur l'ancre Dopamine-Furane. De la même manière, lorsque l'on déconvolue le niveau de cœur de l'azote de la surface Ti-DM (Figure II.47, droite), une seule composante à 400,3 eV attribuable à la fonction amide de l'ancre est observée ¹⁰⁻¹¹.

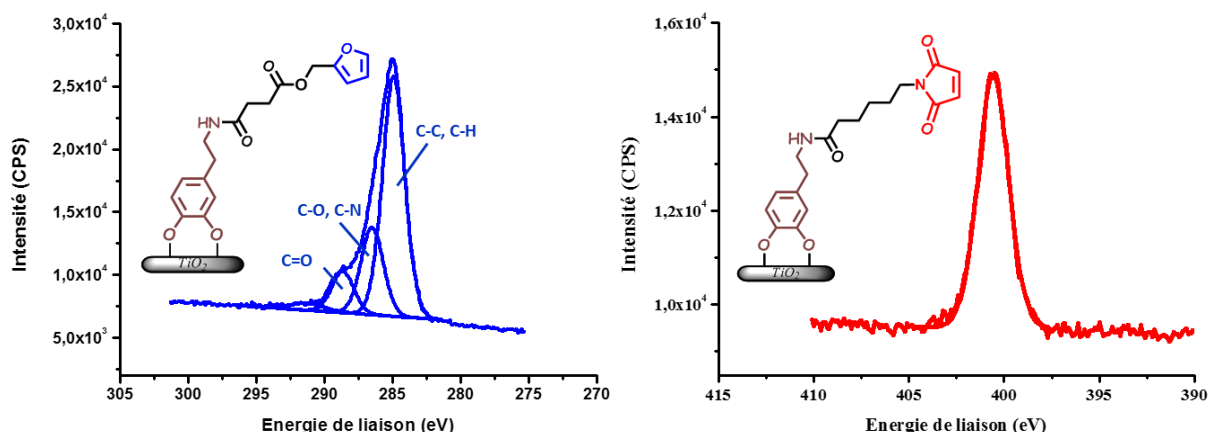


Figure II.47 : Spectre XPS du niveau de cœur C1s d'une surface de Ti-DF (gauche) et spectre XPS du niveau de cœur N1s d'une surface de Ti-DM (droite)

En conclusion, les analyses de voltampérométrie cyclique ainsi que les caractérisations XPS sont en accord avec le greffage des ancres Dopamine-Furane et Dopamine-Maléimide sur les surfaces de titane. Ces plateformes permettent d'envisager la post-fonctionnalisation de ces surfaces par l'intermédiaire de la réaction de Diels-Alder en utilisant une (macro)molécule intégrant un motif complémentaire (furane vs maléimide).

II. Post-fonctionnalisation des plateformes de titane modifiées via la réaction de Diels-Alder

II.1. Post-fonctionnalisation des plateformes de titane à l'aide de sondes électrochimiques fonctionnalisées par un motif furane ou maléimide

Dans un premier temps, pour démontrer et valider la faisabilité de l'immobilisation de (macro)molécules à travers la réaction de Diels-Alder sur les plateformes de titane modifiées, des molécules sondes intégrant le motif électro-actif ferrocène ont été synthétisées (Figure II.48) puis greffées. En effet, le ferrocène s'oxyde de manière réversible en ion ferricinium (Fc^+) par un processus à un électron et possède une signature électrochimique qui peut être très facilement détectée par voltampérométrie cyclique. De plus, par intégration du signal électrochimique du ferrocène, les taux de recouvrement en sondes électro-actives peuvent être évalués.

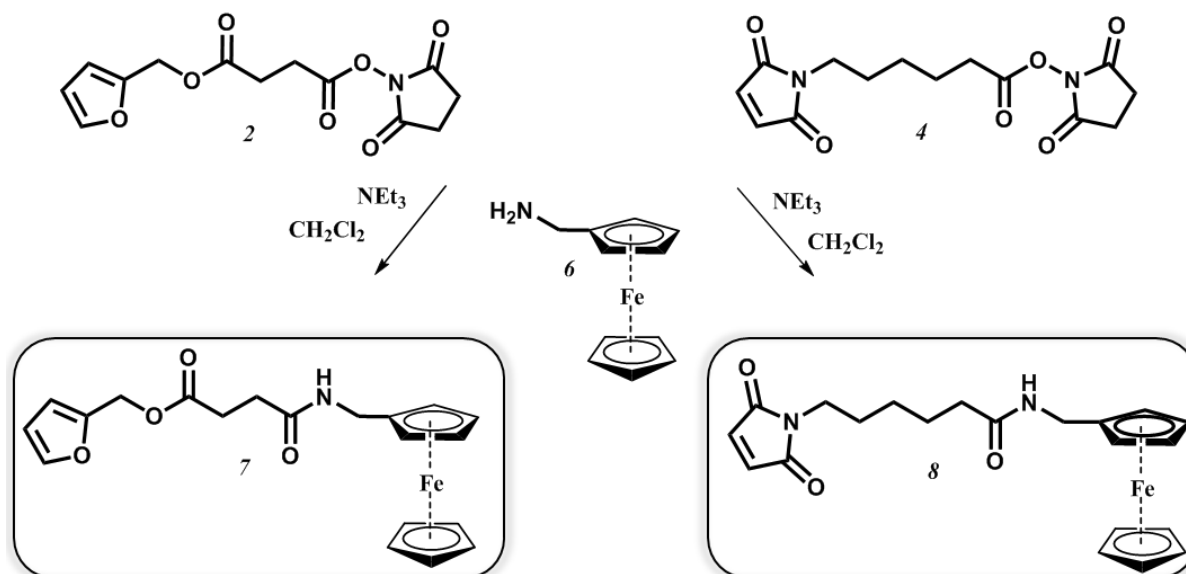


Figure II.48 : Stratégies de synthèse des sondes fonctionnalisées à base de ferrocène

Les sondes ferrocène fonctionnalisées **7** et **8** ont été obtenues par réaction de l'aminométhyle ferrocène **6**¹² avec les esters activés **2** et **4** respectivement (partie expérimentale). La fonctionnalisation des plateformes Ti-DF et Ti-DM par les molécules électro-actives **7** et **8** est réalisée par imprégnation du substrat dans une solution concentrée du dérivé ferrocène adéquat et par chauffage à 60°C pendant une semaine.

Pour des raisons de clarté et de compréhension, seuls les résultats du système utilisant la plateforme de titane modifiée par l'ancre Dopamine-Furane seront détaillés dans ce chapitre.

Les résultats obtenus avec la plateforme Ti-DM sont détaillés en annexes 1.

Après rinçage et séchage des substrats, l'efficacité de l'immobilisation des sondes à base de ferrocène est évaluée en enregistrant les voltampérogrammes des plateformes post-fonctionnalisées (Figure II.49). La présence du motif ferrocène est confirmée dans les deux cas par l'existence d'une vague d'oxydation réversible observée à 0,49 V (vs Ag/AgCl) correspondant à l'oxydation du motif ferrocène en ion ferricinium⁵ (Figure II.49 et Figure A.157, gauche). De plus, l'évolution linéaire des intensités des pics d'oxydation et de réduction avec la vitesse de balayage confirme l'immobilisation du motif ferrocène et infirme une simple adsorption de la sonde électro-active sur les plateformes (Figure II.49 et Figure A.157, droite). De la même manière que précédemment, par intégration du signal électrochimique correspondant à la transformation $\text{Fc} \rightleftharpoons \text{Fc}^+ + 1\text{e}^-$, des taux de recouvrement de $\Gamma = 2,8 \times 10^{-14}$ et de $\Gamma = 1,4 \times 10^{-14}$ molécules.cm⁻² sont obtenus (Équation II.1) pour les plateformes Ti-DF et

Ti-DM respectivement. Ces résultats sont en accord avec les valeurs trouvées dans la littérature avec des systèmes similaires⁵ et suggèrent des hautes densités de greffage. Il est à noter que le taux de recouvrement de la plateforme Ti-DM est deux fois moins important que celui obtenu avec des surfaces Ti-DF. Cette différence peut être attribuée à la dégradation partielle des entités maléimide lors des différentes étapes de fonctionnalisation¹³.

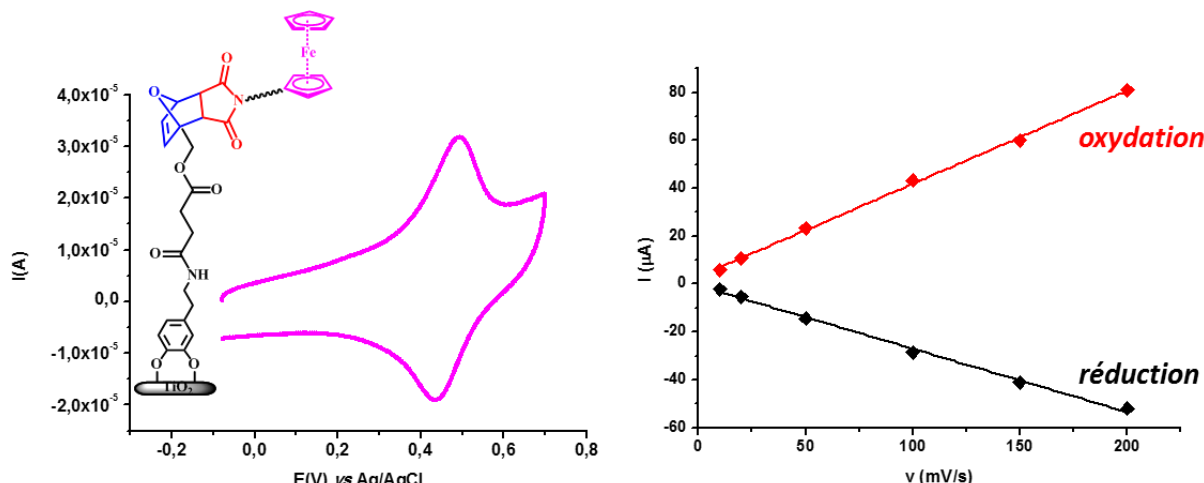


Figure II.49 : (Gauche) Voltampérogramme cyclique de la plateforme Ti-DF fonctionnalisée par le motif ferrocène après réaction de Diels-Alder;
Conditions : acétonitrile / TBAPF₆ 0,1M ; vitesse de balayage de 50 mV.s⁻¹
(Droite) Evolution de l'intensité des pics d'oxydo-réduction en fonction de la vitesse de balayage

L'immobilisation des sondes ferrocène sur les plateformes Ti-DF et Ti-DM a également été confirmée par des analyses XPS. En effet, une diminution de la concentration surfacique en titane est observée après fonctionnalisation ainsi que la présence de fer (Figure II.50 et Figure A.158, gauche). De plus, la déconvolution du niveau de cœur du fer (Fe 2p) montre les deux signaux caractéristiques du fer à 707,9 eV (2p_{3/2}) et 720,7 eV (2p_{1/2}) qui sont attribuables aux motifs ferrocène (Figure II.50 et Figure A.158, droite).

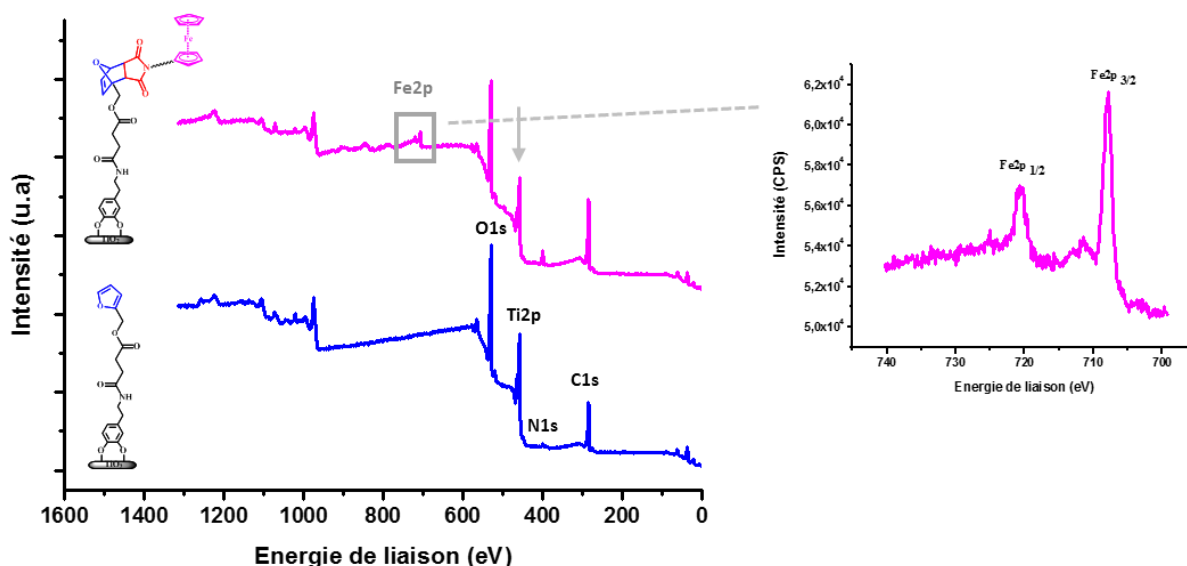


Figure II.50 : (Gauche) Spectres XPS de surfaces de Ti-DF avant (bleu) et après réaction de DA avec la sonde ferrocène **8** (violet)
(Droite) Spectre XPS du niveau de cœur du fer Fe 2p de la plateforme Ti-DF modifiée à l'aide de la sonde électrochimique ferrocène **8**

Afin de démontrer le rôle clé joué par les motifs catéchol et furane, une surface de titane dépourvue d'ancrage a également été mise en contact avec le dérivé ferrocène maléimide **8** dans les mêmes conditions que celles utilisées précédemment. Le voltampérogramme enregistré après réaction (Figure II.51) montre clairement l'absence du signal caractéristique du motif ferrocène, confirmant ainsi la nécessité d'avoir le groupement furane sur la surface de titane pour fonctionnaliser cette dernière.

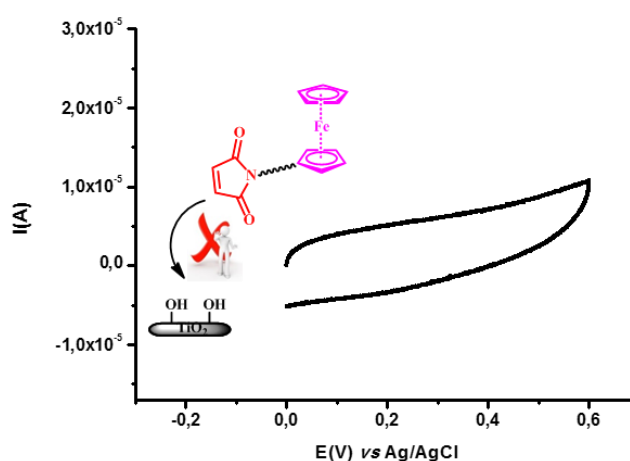


Figure II.51 : Voltampérogramme cyclique d'une surface de titane non modifiée mise à réagir avec le dérivé ferrocène maléimide **8**
Conditions : acétonitrile / TBAPF₆ 0,1M ; vitesse de balayage de 50 mV.s⁻¹

En conclusion, le concept d'immobilisation de molécules électro-actives sur des plateformes de titane fonctionnalisées par des ancres dopamine spécifiques en utilisant la réaction de Diels-Alder a été démontré et validé par des études de voltampérométrie cyclique et par analyses XPS.

II.2. Recyclage des plateformes grâce au caractère thermoréversible de la réaction de Diels-Alder

La stratégie consiste désormais à exploiter le caractère thermoréversible de la réaction de Diels-Alder afin de réutiliser les plateformes Ti-DF et Ti-DM, et d'apporter une nouvelle fonctionnalité sur la surface de titane par l'intermédiaire d'une seconde réaction de Diels-Alder (DA2) (Figure II.52 et Figure A.159).

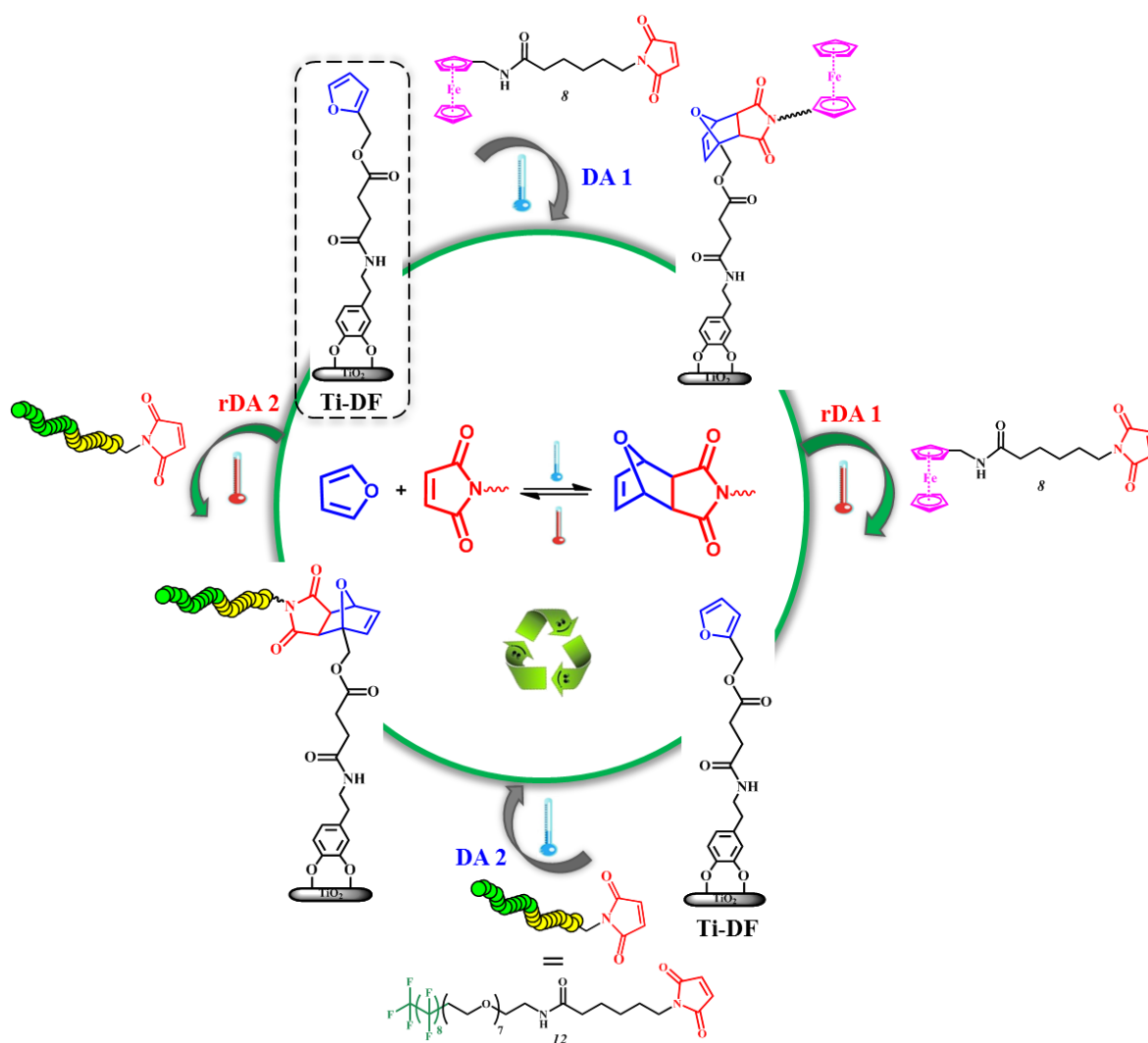


Figure II.52 : Illustration de la stratégie utilisée pour le recyclage des plateformes à base de titane

Pour ce faire, les surfaces précédemment fonctionnalisées par l'unité ferrocène sont soumises à une réaction de rétro Diels-Alder (rDA) en immergeant les échantillons dans du toluène à reflux pendant 48h. Le décrochement des sondes électro-actives des plateformes Ti-DF et Ti-DM a été mis en évidence par des études de voltampérométrie cyclique. Les CV des surfaces ayant subi la réaction de rétro Diels-Alder révèlent la disparition de la vague d'oxydo-réduction caractéristique du motif ferrocène (Figure II.53 et Figure A.160, gauche). De plus, ces résultats ont été confirmés par analyses XPS : aucune composante relative à la présence de fer sur la surface n'est observée après traitement thermique (Figure II.53 et Figure A.160, droite).

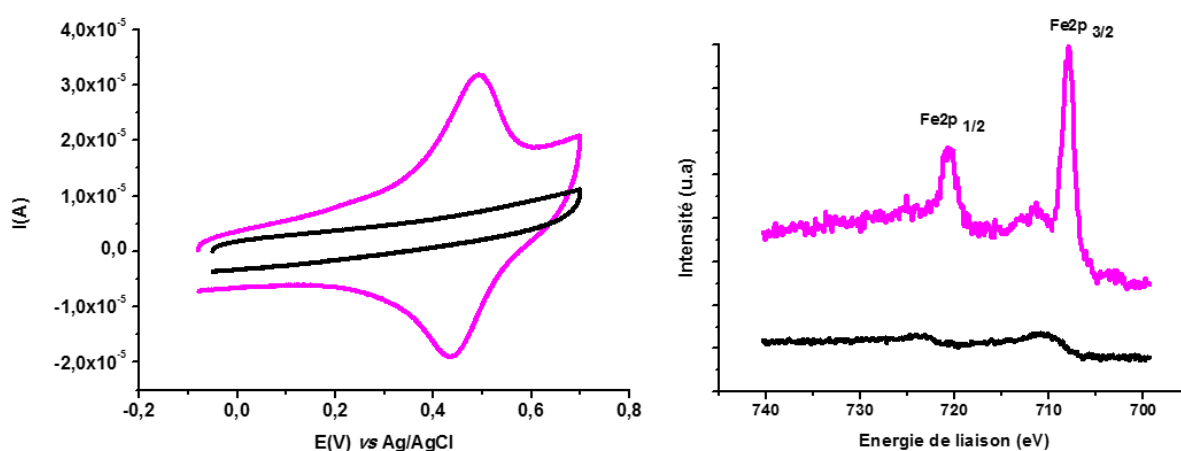


Figure II.53 : (Gauche) Voltampérogrammes cycliques de la plateforme Ti-DF fonctionnalisée par la sonde ferrocène **8** avant (violet) et après (noir) réaction de rétro Diels-Alder; Conditions : acétonitrile / TBAPF₆ 0,1M ; vitesse de balayage de 50 mV.s⁻¹
(Droite) Spectres XPS du niveau de cœur du fer Fe 2p de la plateforme Ti-DF modifiée à l'aide de la sonde électrochimique ferrocène **8** avant (violet) et après (noir) rDA

Fort de ce succès, nous avons ensuite envisagé de réutiliser les plateformes Ti-DF et Ti-DM recyclées afin de réaliser une seconde réaction de Diels-Alder avec l'objectif d'apporter une nouvelle fonctionnalité sur la surface. Dans cette optique, afin de conférer un caractère hydrophobe à la surface du titane, des oligomères fluorés dérivés du Zonyl FSO-100, composés notamment d'un bloc fluoré, ont été modifiés en extrémité de chaîne par un motif furane (**11**) ou maléimide (**12**) selon les réactions décrites dans la Figure II.54. Les sondes fluorées ont été caractérisées par des analyses RMN ¹H et ¹⁹F, par SEC ainsi que par infrarouge (partie expérimentale).

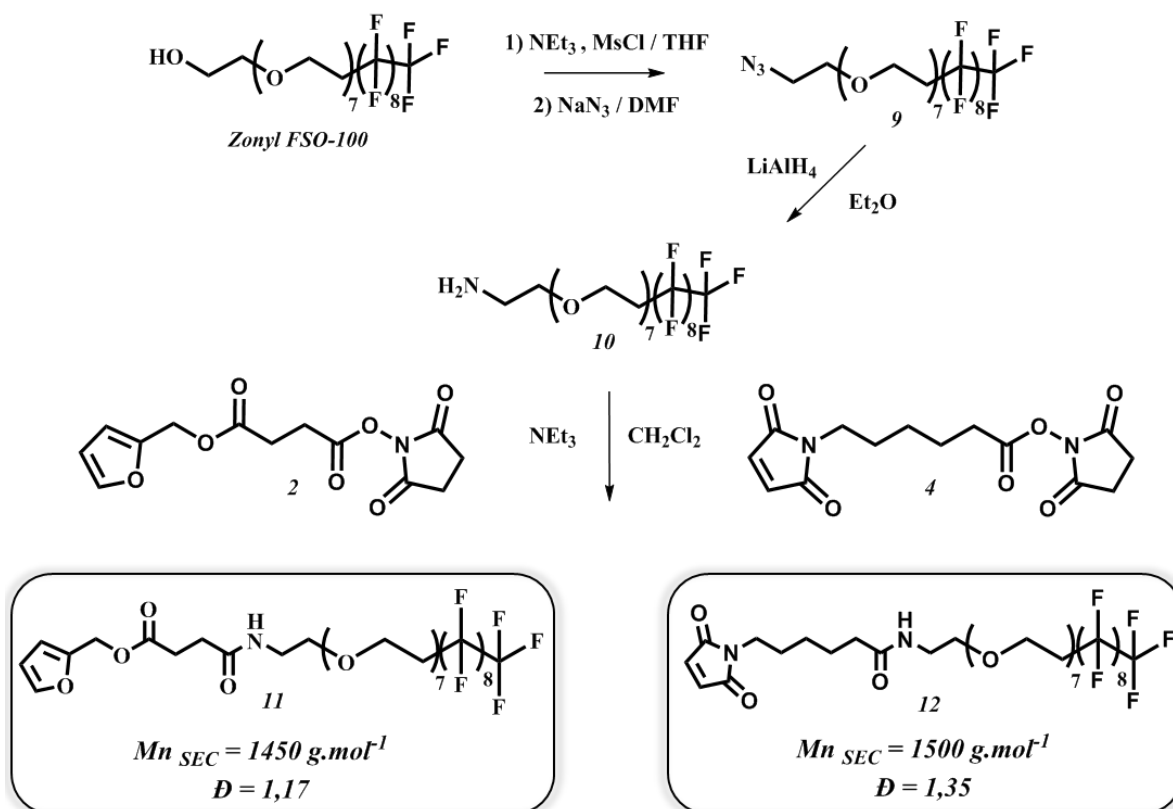


Figure II.54 : Stratégies de synthèse des sondes fluorées fonctionnalisées obtenues à partir de l'oligomère fluoré commercial Zonyl FSO-100

Les plateformes de titane recyclées ont alors été imprégnées avec les sondes fluorées complémentaires dans les mêmes conditions que celles utilisées lors de la première réaction de DA. Après rinçage, les échantillons obtenus ont été analysés par XPS.

Les spectres XPS des plateformes Ti-DF et Ti-DM fonctionnalisées indiquent clairement l'apparition d'un signal intense de fluor F 1s à 689,4 et 689,5 eV respectivement (Figure II.55 et Figure A.161). Ces résultats sont attribuables à la présence des dérivés Zonyl sur les surfaces et confirment ainsi l'aptitude des plateformes recyclées à être réutilisées dans une seconde réaction de Diels-Alder.

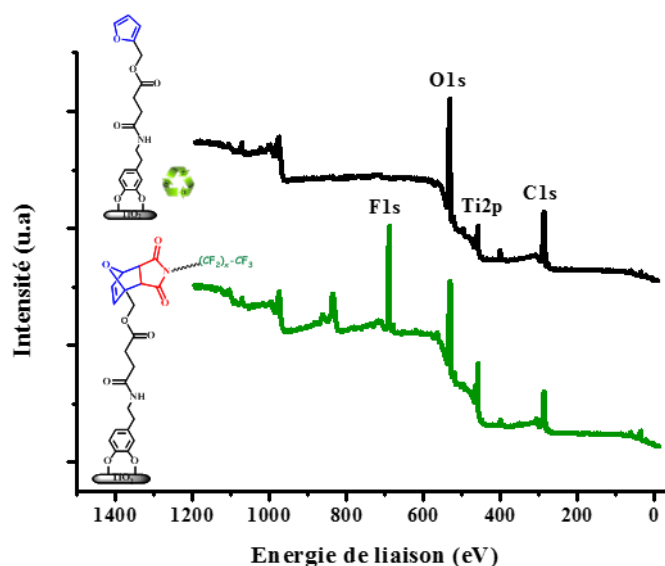


Figure II.55 : Spectres XPS d'une plateforme de Ti-DF recyclée avant (noir) et après une seconde réaction de Diels-Alder (vert) avec la sonde fluorée **12**

L'efficacité et le rendement de la seconde réaction de Diels-Alder a également été évaluée par électrochimie, en utilisant les dérivés ferrocène **7** et **8** comme sondes électro-actives. A cet effet, des plateformes Ti-DF et Ti-DM préalablement fonctionnalisées par les oligomères fluorés lors d'une DA1, ont été engagées dans une seconde réaction de DA au moyen des sondes ferrocène **8** et **7**, après avoir subi le traitement thermique nécessaire à la réaction de rDA.

Les voltampérogrammes cycliques obtenus sont présentés dans les Figure II.56 et Figure A.162 et restituent le signal caractéristique du motif ferrocène immobilisé. Par intégration des signaux électrochimiques du motif électro-actif et par utilisation de l'Équation II.1, des taux de recouvrement de $\Gamma = 2,1 \times 10^{14}$ et de $\Gamma = 1,2 \times 10^{14}$ molécules.cm⁻² sont obtenus pour les plateformes Ti-DF et Ti-DM respectivement. Il est à noter que ces résultats sont similaires aux taux de greffage observés précédemment et démontrent l'efficacité de la séquence rDA/DA2. Nous pouvons toutefois souligner que les taux de fonctionnalisation obtenus avec les plateformes Ti-DM restent deux fois moins importants que ceux enregistrés sur les surfaces Ti-DF ; ce qui confirme une éventuelle dégradation des entités malimide lors des étapes de modification de la surface.

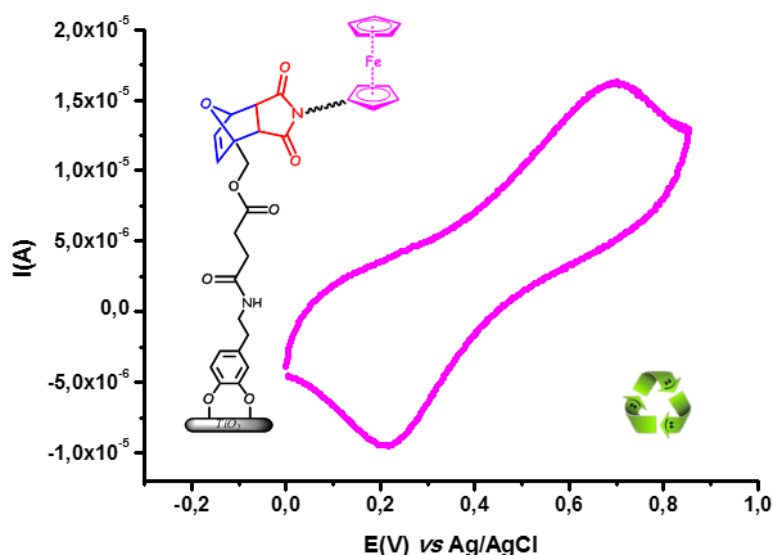


Figure II.56 : Voltampérogramme cyclique d'une plateforme Ti-DF recyclée fonctionnalisée par le motif ferrocène **8** à l'aide d'une seconde réaction de Diels-Alder (DA2); Conditions : acétonitrile / TBAPF₆ 0,1M ; vitesse de balayage de 50 mV.s⁻¹

En conclusion, nous avons réussi à associer les excellentes propriétés d'ancrage de la dopamine avec la réaction thermoréversible de Diels-Alder afin de réaliser des plateformes recyclables pour la fonctionnalisation du titane. Nous avons ainsi montré la possibilité de greffer et de détacher sur demande, différentes molécules fonctionnalisées sur ces plateformes tout en gardant des taux de recouvrement relativement élevés.

II.3. Elaboration de plateformes de titane aux propriétés physico-chimiques de surface interchangeables

Par la suite, nous avons voulu exploiter les résultats obtenus précédemment afin d'envisager la possibilité de contrôler, sur demande, la mouillabilité des plateformes de titane c'est-à-dire de passer d'une surface hydrophobe à hydrophile en utilisant la séquence DA1/rDA/DA2. Ainsi nous avons modifié une surface de titane hydrophobe fonctionnalisée par une sonde fluorée en une surface hydrophile modifiée à l'aide de chaînes de poly (éthylène glycol) (Figure II.57 et Figure A.163).

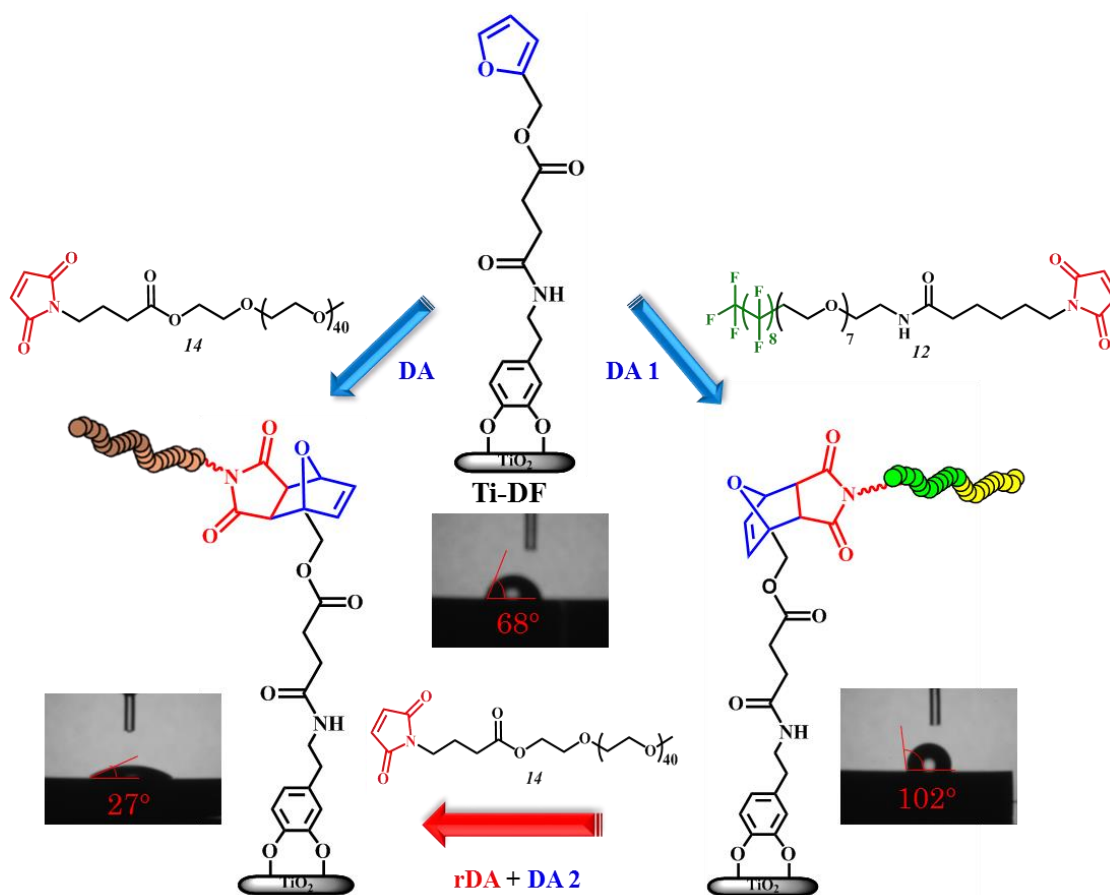


Figure II.57 : Etude du changement de mouillabilité d'une plateforme Ti-DF fonctionnalisée à travers une séquence DA1 réalisée avec **12**, rDA et DA2 réalisée avec **14**

Pour préparer les surfaces hydrophobes, les plateformes Ti-DF et Ti-DM ont subi, dans un premier temps, une réaction de Diels-Alder avec les sondes fluorées complémentaires. L'effet du greffage sur la mouillabilité des surfaces a été suivi par des mesures d'angle de contact (eau) (Figure II.57 et Figure A.163). Tout d'abord, une surface de titane ayant subi le traitement piranha possède un caractère hydrophile ($23^\circ \pm 3$) en raison des fonctions hydroxyles présentes à la surface après oxydation. L'hydrophobie de surface augmente ensuite de manière importante lors du greffage des ancres Dopamine-Furane et Dopamine-Maléimide sur le matériau ($68^\circ \pm 3$ et $78^\circ \pm 4$ respectivement). Ces valeurs augmentent de nouveau et atteignent des valeurs d'angles de $102^\circ (\pm 4)$ et $94^\circ (\pm 5)$ après réaction de cycloaddition des dérivés fluorés **12** et **11** et sont en accord avec l'immobilisation d'oligomères fluorés sur des supports métalliques ¹⁴. Après recyclage des plateformes par l'intermédiaire de la réaction de rDA, les surfaces font l'objet d'une seconde réaction de DA (DA2) en présence d'oligomères hydrophiles de type poly (éthylène glycol) fonctionnalisés en extrémité de chaîne par un motif maléimide (**14**) ou furane (**13**) (les synthèses et les caractérisations de ces

oligomères sont décrites dans la partie expérimentale). Les mesures d'angle de contact révèlent alors le caractère hydrophile des surfaces dans la mesure où des angles de $27^\circ (\pm 3)$ et $20^\circ (\pm 3)$ pour Ti-DF et Ti-DM respectivement, sont obtenus. Nous pouvons noter que ces valeurs sont très proches de celles mesurées lors d'une fonctionnalisation directe des plateformes Ti-DF et Ti-DM à l'aide des mêmes oligomères hydrophiles ($35^\circ \pm 3$ et $29^\circ \pm 3$). Au vu de ces résultats, il semble alors possible de contrôler les propriétés physico-chimiques des plateformes de titane en employant cette stratégie.

Afin de confirmer ces observations, l'ensemble des échantillons a été caractérisé par des analyses XPS (Figure II.58 et Figure A.164).

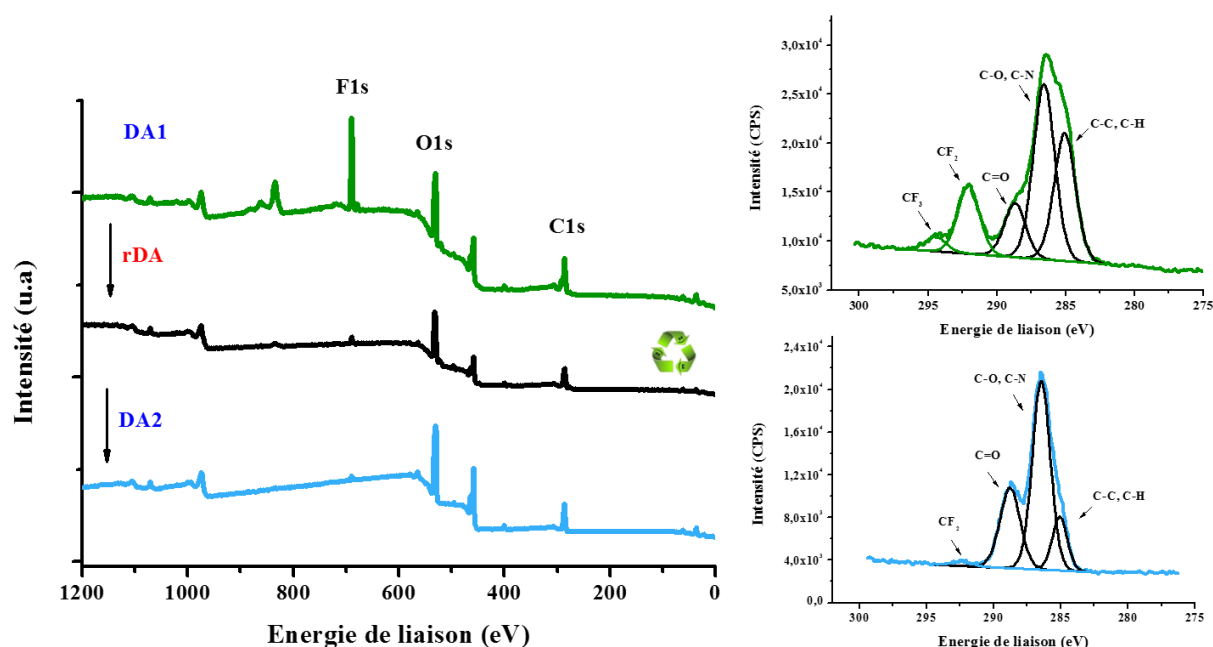


Figure II.58 : (Gauche) Spectres XPS de la plateforme Ti-DF fonctionnalisée avec la sonde fluorée **12** par DA1 puis avec l'oligomère de PEG **14** à travers une séquence rDA/DA2 (Droite) Spectres XPS du niveau de cœur du carbone (C 1s) de la plateforme Ti-DF modifiée avec l'oligomère fluoré **12** (DA1) et l'oligomère de PEG **14** (rDA/DA2)

Après fonctionnalisation des plateformes Ti-DF et Ti-DM par DA1 avec les oligomères fluorés **12** et **11** respectivement, un signal important de fluor F 1s apparaît à 689,4 eV (et 689,3 eV pour Ti-DM) attribuable à la présence de la sonde hydrophobe fluorée sur la surface. Par ailleurs, les déconvolutions du niveau de cœur du carbone C 1s (Figure II.58 et Figure A.164, droite) montrent clairement dans les deux cas, deux composantes à 291,9 eV et 294,3 eV correspondant aux groupements CF₂ et CF₃ respectivement, et attribuables à la partie hydrophobe de la sonde ainsi que les composantes C-C, C-H (284,9 eV) et C-O (286,5 eV) de la

partie poly (éthylène glycol). Après recyclage des plateformes à travers la réaction de rétro Diels-Alder puis DA2 avec les oligomères de PEG **14** et **13**, nous observons sur le spectre XPS une disparition quasi totale du signal du fluor F 1s ainsi qu'une augmentation des signaux relatifs aux composantes C 1s et O 1s pouvant être attribuée à la présence du PEG sur les matériaux. De plus, la déconvolution du niveau de cœur du carbone C 1s (Figure II.58 et Figure A.164, droite) révèle, pour chacune des plateformes, une disparition quasi complète des composantes relatives à l'oligomère fluoré ainsi que la présence des composantes imputables aux chaînes de poly (éthylène glycol). Nous pouvons également noter que nous retrouvons au niveau du carbone C 1s, les composantes C-C, C-H et C-O dans des proportions équivalentes à celles obtenues lors d'une DA1 réalisée avec l'oligomère PEG complémentaire (Figure II.59 et Figure A.165).

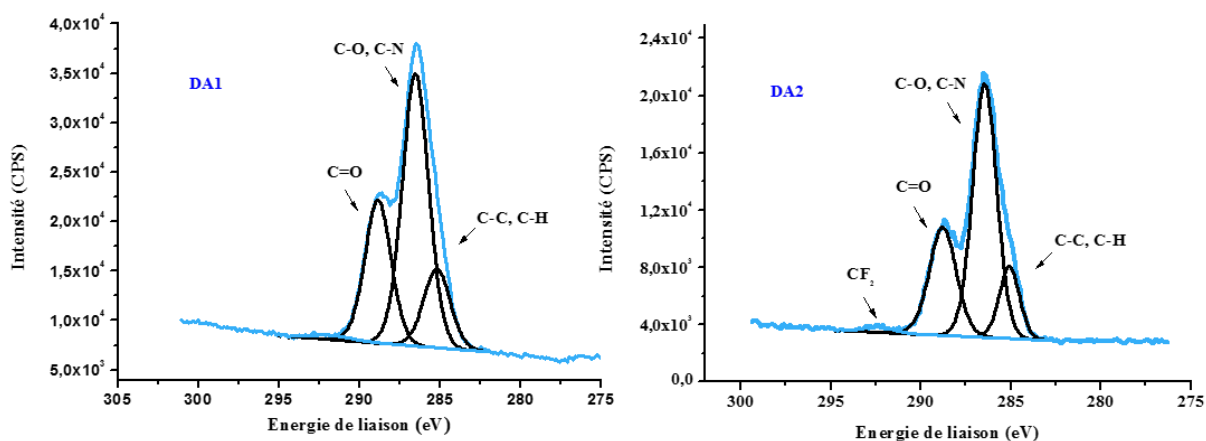


Figure II.59 : Comparaison des spectres XPS du niveau de cœur du carbone (C 1s) de la plateforme Ti-DF modifiée avec l'oligomère de PEG **14** par DA1 (gauche) et par rDA/DA2 (droite)

Ainsi, nous avons démontré la possibilité de modifier à façon, la balance hydrophile/hydrophobe d'une même plateforme de titane en utilisant la séquence DA1/rDA/DA2. Bien que les réactions de cycloaddition paraissent moins efficaces dans le cas des plateformes Ti-DM, des résultats semblables en termes de mouillabilité et de caractérisation XPS ont été obtenus.

Conclusion

En conclusion, deux plateformes de fonctionnalisation à base de titane ont été mises au point par greffage, dans des conditions douces, de deux ancres chimiques à base de dopamine incorporant une entité furane ou maléimide. La réaction de cycloaddition de Diels-Alder a été exploitée afin d'immobiliser sur les plateformes diverses (macro)molécules avec de fortes densités de greffage. Nous avons ensuite démontré, par l'intermédiaire de la réaction de rétro Diels-Alder, qu'il était possible de recycler ces plateformes et de les réengager, sur demande, dans une seconde réaction de cycloaddition afin de leur attribuer de nouvelles propriétés physico-chimiques de surface. Au regard des résultats obtenus dans cette étude, il semblerait néanmoins que la stratégie de fonctionnalisation employant l'ancre Dopamine-Furane permette une plus grande efficacité. En raison du rôle important que joue la mouillabilité dans de nombreux domaines d'applications (biomédical, nanotechnologies...), nous pouvons envisager une utilisation future de cette stratégie dans l'élaboration de nouveaux matériaux multi-stimulables à base de titane.

Références bibliographiques

1. Liu, X.; Chu, P. K.; Ding, C., Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. *Materials Science and Engineering: R: Reports* **2004**, 47 (3–4), 49-121.
2. Park, J. Y.; Kim, J. S.; Nam, Y. S., Mussel-inspired modification of dextran for protein-resistant coatings of titanium oxide. *Carbohydrate Polymers* **2013**, 97 (2), 753-757.
3. Zobrist, C. Elaboration de brosses polymères à la surface du titane en vue d'applications biomédicales. Thèse de Doctorat, Université de Lille 1, Lille, 2011.
4. Liu, J.; Yang, W.; Zareie, H. M.; Gooding, J. J.; Davis, T. P., pH-Detachable Polymer Brushes Formed Using Titanium–Diol Coordination Chemistry and Living Radical Polymerization (RAFT). *Macromolecules* **2009**, 42 (8), 2931-2939.
5. Watson, M. A.; Lyskawa, J.; Zobrist, C.; Fournier, D.; Jimenez, M.; Traisnel, M.; Gengembre, L.; Woisel, P., A "Clickable" Titanium Surface Platform. *Langmuir* **2010**, 26 (20), 15920-15924.
6. Brunette, D. M., Tengvall, P., Textor, M., Thomsen, P., *Titanium in medicine : material science, engineering, biological responses and medical application*. Springer: Berlin, 2001.
7. Viorner, C.; Chevotot, Y.; Léonard, D.; Aronsson, B.-O.; Péchy, P.; Mathieu, H. J.; Descouts, P.; Grätzel, M., Surface Modification of Titanium with Phosphonic Acid To Improve Bone Bonding: Characterization by XPS and ToF-SIMS. *Langmuir* **2002**, 18 (7), 2582-2589.
8. Nanci, A.; Wuest, J. D.; Peru, L.; Brunet, P.; Sharma, V.; Zalzal, S.; McKee, M. D., Chemical modification of titanium surfaces for covalent attachment of biological molecules. *Journal of Biomedical Materials Research* **1998**, 40 (2), 324-335.
9. Fan, X.; Lin, L.; Dalsin, J. L.; Messersmith, P. B., Biomimetic Anchor for Surface-Initiated Polymerization from Metal Substrates. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, 127 (45), 15843-15847.
10. Graf, N.; Yegen, E.; Gross, T.; Lippitz, A.; Weigel, W.; Krakert, S.; Terfort, A.; Unger, W. E. S., XPS and NEXAFS studies of aliphatic and aromatic amine species on functionalized surfaces. *Surface Science* **2009**, 603 (18), 2849-2860.
11. Hu, H.; Yu, B.; Ye, Q.; Gu, Y.; Zhou, F., Modification of carbon nanotubes with a nanothin polydopamine layer and polydimethylamino-ethyl methacrylate brushes. *Carbon* **2010**, 48 (8), 2347-2353.
12. Casas-Solvas, J. M.; Vargas-Berenguel, A.; Capitán-Vallvey, L. F.; Santoyo-González, F., Convenient Methods for the Synthesis of Ferrocene–Carbohydrate Conjugates. *Organic Letters* **2004**, 6 (21), 3687-3690.
13. Preuss, C. M.; Goldmann, A. S.; Trouillet, V.; Walther, A.; Barner-Kowollik, C., Biomimetic Dopamine-Diels–Alder Switches. *Macromolecular Rapid Communications* **2013**, 34 (8), 640-644.
14. Rodenstein, M.; Zürcher, S.; Tosatti, S. G. P.; Spencer, N. D., Fabricating Chemical Gradients on Oxide Surfaces by Means of Fluorinated, Catechol-Based, Self-Assembled Monolayers†. *Langmuir* **2010**, 26 (21), 16211-16220.

CHAPITRE 3 : Elaboration de polymères fonctionnalisés en extrémité de chaine par polymérisation RAFT

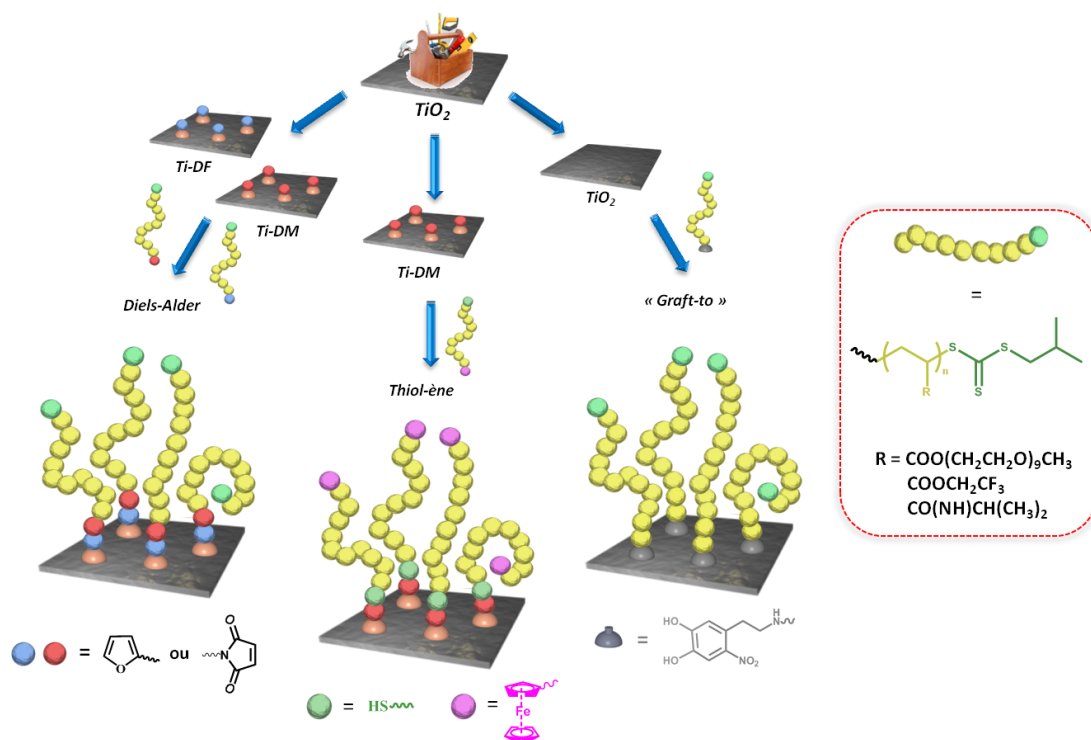
Table des Matières

Introduction	89
 I. Choix de la structure des polymères parfaitement définis	90
I.1. Rappels bibliographiques sur la Polymérisation Radicalaire Contrôlée (PRC)	90
I.2. La polymérisation radicalaire par transfert de chaîne réversible par addition fragmentation (RAFT).....	92
I.3. Nature des polymères employés pour la fonctionnalisation de surfaces	94
 II. Synthèse et caractérisation de polymères fonctionnalisés en extrémité de chaîne par un motif furane ou maléimide	96
II.1. Synthèses et caractérisations des agents de transfert CTA3 et CTA4 incorporant une entité furane ou maléimide protégé	97
II.2. Polymérisation RAFT en présence des agents de transfert CTA3 et CTA4	99
II.2.1. Polymérisation RAFT en présence de l'agent de transfert CTA3	99
II.2.2. Polymérisation RAFT en présence de l'agent de transfert CTA4	101
II.3. Déprotection des polymères fonctionnalisés par l'agent de transfert CTA4	103
 III. Synthèse et caractérisation d'un PNIPAM fonctionnalisé en extrémité de chaîne par une sonde ferrocène	106
III.1. Synthèse et caractérisation de l'agent de transfert fonctionnalisé par le motif ferrocène.....	107
III.2. Polymérisation RAFT du NIPAM en présence de l'agent de transfert CTA5	108
III.3. Génération de fonctions thiols à partir du polymère CTA5-PNIPAM	110
 IV. Synthèse et caractérisation de polymères fonctionnalisés en extrémité de chaîne par un motif nitro-catéchol.....	113
IV.1. Synthèse et caractérisation d'agents de transfert fonctionnalisés par un motif (nitro) catéchol.....	114
IV.2. Polymérisation RAFT à l'aide de l'agent de transfert CTA6.....	115
IV.3. Polymérisation RAFT à l'aide de l'agent de transfert CTA7	119
Conclusion	121
Références bibliographiques.....	122

Introduction

L'objectif général de cette thèse consiste à développer de nouvelles méthodologies de greffage de polymères sur des surfaces de titane en vue de concevoir des matériaux stimulables aux propriétés physico-chimiques modulables. Ainsi, le but de ce chapitre consistera à décrire la synthèse et la caractérisation de différents polymères fonctionnalisés en extrémité de chaîne par un groupement susceptible de réagir avec une fonction complémentaire présente à la surface d'un matériau (Figure III.60). Il s'agira alors dans un premier temps d'exploiter les plateformes de titane mises au point dans le chapitre précédent afin d'immobiliser des polymères parfaitement définis. Pour cela, nous décrirons la synthèse de deux agents de transfert RAFT incorporant une entité furane ou maléimide protégé capables de générer des polymères fonctionnalisés en extrémité de chaîne et pouvant être engagés à travers la réaction de cycloaddition de Diels-Alder. Nous détaillerons ensuite la synthèse d'un polymère stimuable élaboré à partir d'un agent de transfert RAFT doté d'une sonde ferrocène et dont la partie trithiocarbonate a été exploitée dans l'optique de disposer de fonctions thiols réactives pouvant être engagées dans des réactions de type thiol-ène avec des surfaces incorporant le groupement maléimide. Enfin, nous décrirons l'élaboration de plusieurs polymères fonctionnalisés en extrémité de chaîne par un motif nitro-dopamine permettant d'élaborer de nouveaux matériaux stimulables aux propriétés spécifiques. Nous verrons notamment qu'il sera possible de libérer ces (macro)molécules sous l'influence d'un stimulus.

Cependant, avant de développer l'ensemble de cette partie descriptive, de brefs rappels bibliographiques concernant la polymérisation radicalaire contrôlée et plus particulièrement celle par voie RAFT seront donnés afin de mieux comprendre le choix de la structure des polymères parfaitement définis utilisés dans le cadre de la fonctionnalisation des substrats à base de titane.



I. Choix de la structure des polymères parfaitement définis

Plusieurs méthodes de polymérisation permettent d'accéder à des polymères parfaitement définis. Nous pouvons notamment citer les polymérisations anioniques ¹, cationiques ²⁻³ et par ouverture de cycle (ROMP, pour Ring Opening Metathesis Polymerization) ⁴ qui permettent d'accéder à de telles architectures, toutefois elles restent limitées à certains monomères ou bien font appel à des dérivés organométalliques souvent toxiques. Notre choix s'est ainsi porté vers les méthodes de polymérisations radicalaires contrôlées (PRC) ⁵ qui permettent, quant à elles, de polymériser une large variété de monomères dans des conditions relativement douces.

I.1. Rappels bibliographiques sur la Polymérisation Radicalaire Contrôlée (PRC)

Les techniques de polymérisation radicalaire contrôlée (PRC) se sont développées ces dernières années avec la volonté de pallier aux principaux inconvénients rencontrés avec la polymérisation radicalaire classique qui génèrent des polymères mal définis et difficilement

contrôlables en raison notamment de la présence de nombreuses réactions secondaires. En effet, la PRC quant à elle, donne accès à diverses architectures macromoléculaires fonctionnalisées bien définies tout en exerçant un contrôle sur les paramètres macromoléculaires (masse molaire moyenne en nombre M_n , indice de polymolécularité $\bar{D}$). Son principe est basé dans l'introduction d'une réaction supplémentaire dans le processus de polymérisation radicalaire classique afin de limiter la concentration en radicaux dans le milieu et donc de diminuer les réactions de terminaison et de transfert irréversibles. Deux stratégies ont plus particulièrement été développées (Figure III.61) :

- soit une réaction de terminaison réversible reposant sur un équilibre d'activation et de désactivation des chaînes en croissance
- soit une réaction de transfert réversible

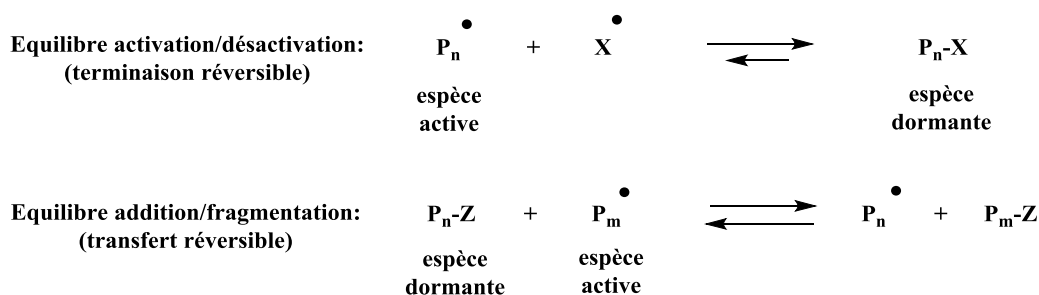


Figure III.61 : Equilibres mis en jeu lors des polymérisations radicalaires contrôlées ⁶

Pour que la polymérisation radicalaire soit considérée comme contrôlée, plusieurs paramètres doivent être respectés parmi lesquels:

- une évolution linéaire des masses molaires moyennes en nombre (M_n) expérimentales avec la conversion du monomère
- une distribution étroite des masses molaires caractérisée par un indice de polymolécularité $\bar{D}$ proche de 1

Pour cela, il est nécessaire que la vitesse d'amorçage soit élevée devant celle de la propagation pour permettre une croissance uniforme de toutes les chaînes et que les réactions secondaires de transfert et de terminaison irréversibles soient quasi-inexistantes.

Les processus de polymérisation radicalaire contrôlée les plus étudiés sont incontestablement la polymérisation radicalaire en présence de nitroxydes (NMP) ⁷, la polymérisation radicalaire

par transfert d'atome (ATRP) ⁸⁻⁹ et la polymérisation par transfert de chaîne réversible par addition fragmentation (RAFT) ¹⁰.

Toutefois, en raison de quelques inconvénients concernant les deux premières techniques citées ci-dessus, nous nous sommes orientés vers l'utilisation de la polymérisation de type RAFT. En effet, en ce qui concerne la polymérisation par NMP, la synthèse des alcoxyamines utilisées est souvent complexe. Dans le cas de la polymérisation par ATRP, les systèmes métal/ligand employés sont généralement à base de cuivre. La complexation de ce métal avec les catéchols ¹¹ inhiberait ainsi un greffage ultérieur de tels polymères sur les surfaces.

I.2. La polymérisation radicalaire par transfert de chaîne réversible par addition fragmentation (RAFT)

La technique de polymérisation radicalaire contrôlée par transfert de chaîne réversible par addition fragmentation (RAFT) est basée sur un processus de transfert de chaîne dégénératif permettant le contrôle de la polymérisation ¹²⁻¹³. Ce type de polymérisation se déroule en présence d'un amorceur radicalaire (AIBN et dérivés) qui amorcent la polymérisation et d'un agent de transfert de chaîne (CTA).

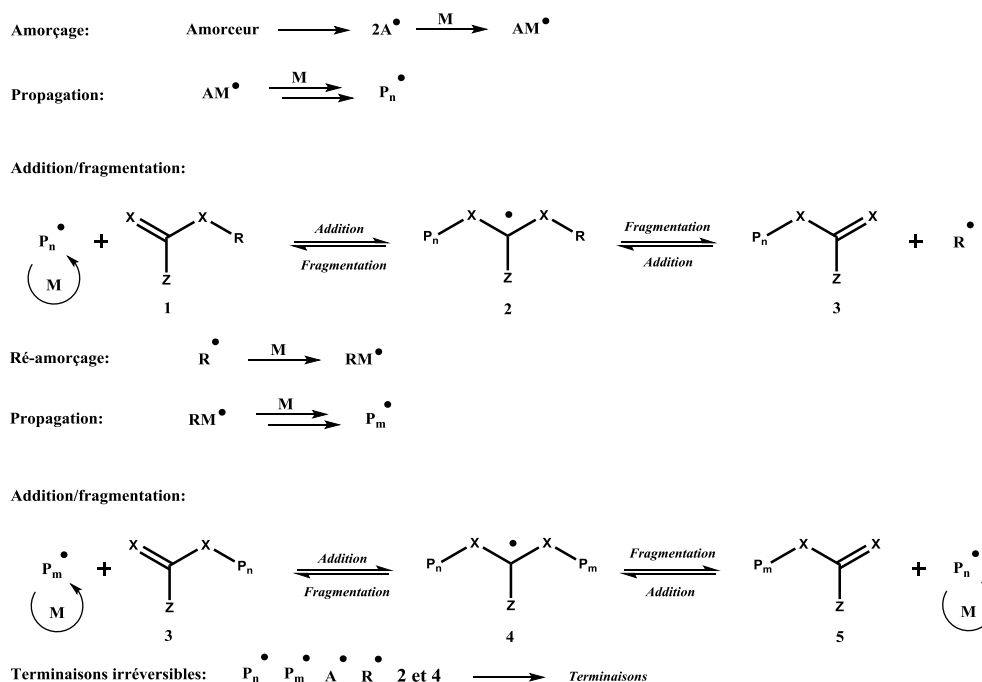


Figure III.62 : Mécanisme général du procédé RAFT

Dans un premier temps, l'oligoradical ($P_n^\bullet$) formé par réaction entre l'amorceur et le monomère réagit rapidement avec l'agent de transfert (**1**) pour conduire à la formation d'un intermédiaire radicalaire (**2**). Ce dernier se fragmente ensuite pour donner naissance à l'espèce **3** et un nouveau radical $R^\bullet$ susceptible de réamorcer la polymérisation (formation de nouvelles chaînes $P_m^\bullet$). Après consommation totale de l'agent de transfert, un équilibre se forme entre les chaînes actives ($P_n^\bullet$ et $P_m^\bullet$) et les chaînes dormantes (**3** et **5**) en passant par un intermédiaire radicalaire (**4**). Ce dernier se fragmente ensuite, libérant les groupes terminaux des chaînes qui peuvent alors soit redevenir une chaîne dormante soit réagir avec un monomère et allonger la chaîne polymère. Malgré de faibles taux de radicaux, des réactions de terminaison irréversible peuvent se produire.

Les agents de transfert les plus utilisés lors du processus de polymérisation par voie RAFT sont porteurs de groupements thiocarbonylthio ($(C=S)S$) (Figure III.63). Les groupements R et Z sont susceptibles de varier et d'influencer l'efficacité du contrôle de la polymérisation ¹⁴⁻¹⁶.

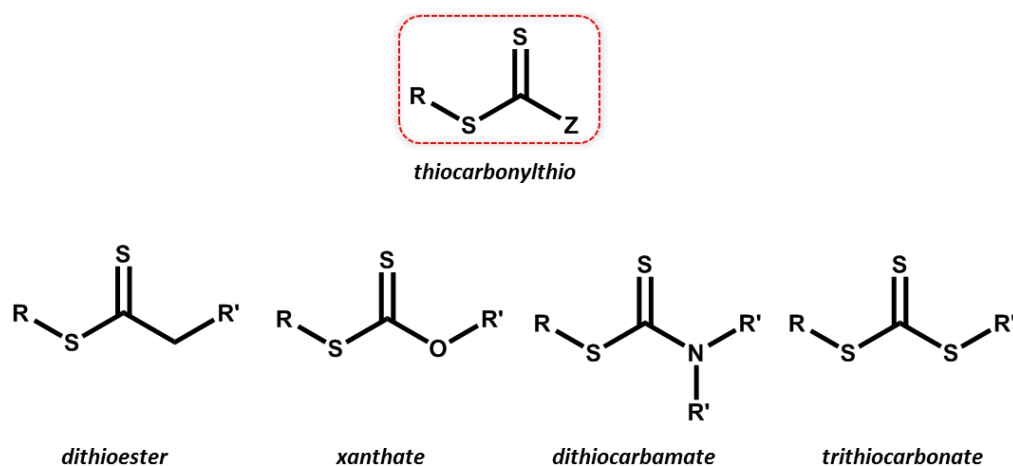


Figure III.63 : Structure générale et principaux agents de transfert de type thiocarbonylthio

Les composés thiocarbonylthio sont généralement classés par famille selon la nature du groupement Z, à savoir les dithioesters ($Z=R'$, R' étant un groupe alkyle), xanthates (ou dithiocarbonates) ($Z=OR'$), dithiocarbamates ($Z=N(R')_2$) et les trithiocarbonates ($Z=SR'$) (Figure III.63). Les dithioesters et les trithiocarbonates sont plutôt utilisés dans le contrôle de la polymérisation de monomères tels que les (méth)acryliques, (méth)acrylamides ou styréniques alors que les xanthates et les dithiocarbamates ont, quant à eux, une meilleure faculté à contrôler la polymérisation de monomères tels que les esters vinyliques et les lactames vinyliques ¹⁷.

I.3. Nature des polymères employés pour la fonctionnalisation de surfaces

Les stratégies développées dans le cadre de notre étude (Figure III.60) nécessitent l'emploi de polymères parfaitement définis fonctionnalisés en extrémité de chaîne par des motifs i) furane, ii) maléimide, iii) ferrocène et iv) nitro-dopamine. Pour les raisons évoquées précédemment, la polymérisation par voie RAFT a donc été retenue dans la mesure où elle représente la méthode de polymérisation la mieux adaptée pour contrôler la synthèse de tels polymères. De plus, le procédé RAFT est une approche attrayante puisqu'elle autorise la polymérisation d'une large gamme de monomères ¹⁸ et n'exige aucun catalyseur (absence de purification supplémentaire). Par ailleurs, les polymères préparés à partir de ces agents de transfert de type thiocarbonylthio peuvent être aisément convertis de manière quantitative en fonctions thiols réactives ¹⁹⁻²⁰.

Pour parvenir à ces architectures, nous avons ainsi choisi d'employer comme brique de départ, un agent de transfert trithiocarbonate doté d'un groupement Z de type isobutyle et d'un groupement R porteur d'une fonction acide carboxylique (**CTA1**). En effet, les agents de transfert de type trithiocarbonate sont connus pour contrôler de manière plus efficace les monomères acryliques et acrylamides comparés aux CTA de type dithioester plutôt aptes à maîtriser la polymérisation de monomères méthacryliques, méthacrylamides et styréniques ¹⁷. L'incorporation d'une fonction acide carboxylique permettra, quant à elle, d'envisager la modification chimique de l'agent de transfert, notamment à travers des réactions de couplage avec des alcools ou des amines en vue de disposer d'un panel d'agents de transfert fonctionnalisés (Figure III.64).

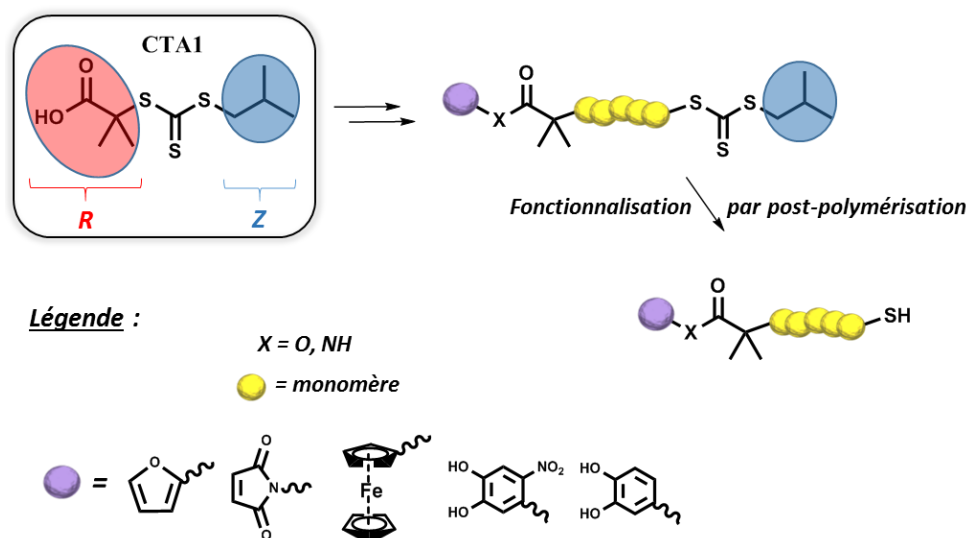


Figure III.64 : Illustration de la stratégie utilisée pour concevoir des polymères fonctionnels à partir de l'agent de transfert **CTA1** de type trithiocarbonate

Dans l'optique de contrôler les propriétés physico-chimiques de surface des matériaux à base de titane, nous nous sommes orientés vers la conception de trois polymères fonctionnalisés de natures différentes : (i) un polymère à caractère hydrophile, (ii) un polymère hydrophobe et (iii) un polymère thermosensible pouvant présenter soit l'une ou l'autre des deux caractéristiques en fonction de la température.

(i) Les poly (éthylène glycols) sont des polymères hydrophiles biocompatibles bien connus pour rendre les surfaces résistantes à certaines protéines et/ou cellules²¹⁻²². Parmi les multiples monomères incorporant une chaîne de PEG, nous avons ainsi opté pour la polymérisation d'un acrylate d'oligo (éthylène glycol) commercial possédant 9 unités de répétition éthylène glycol (OEGA) afin de posséder un caractère hydrophile suffisamment prononcé²³.

(ii) Parmi les nombreux polymères hydrophobes (polystyrène, polyacrylate de butyle...), les polyacrylates fluorés incorporant des groupements fluorés en chaîne latérale sont particulièrement intéressants. En effet, ils possèdent de faibles énergies de surface grâce à la présence des motifs $-CF_2$ et $-CF_3$ et peuvent être facilement décelables sur un substrat par spectroscopie de photoélectrons X. Ils sont très largement utilisés dans de nombreuses applications telles que la modification de surfaces textiles, papiers ou dans le domaine du bâtiment²⁴⁻²⁷. Ainsi, afin d'élaborer des polymères hydrophobes, nous avons opté pour l'acrylate de 2,2,2-trifluoroéthyle (TFEA) capable de former des films polymères de haute

hydrophobie ²⁸. De plus, contrairement aux polymères fluorés possédant de longues chaînes alkyles perfluorées, connus pour être des polluants organiques persistants ²⁴ souvent peu solubles dans les solvants organiques, le polymère formé (PTFEA) ne possède qu'un seul groupement trifluorométhyle en chaîne latérale ce qui facilitera sa solubilité et donc son utilisation.

(iii) Nous avons également opté pour un polymère stimuable possédant un caractère hydrophile ou hydrophobe dont le comportement est programmable sous l'effet d'un stimulus externe (température, pH, lumière...), afin de moduler les propriétés physico-chimiques de surface du matériau. Parmi la multitude de matériaux polymères stimulables, nous avons sélectionné le poly *N*-isopropylacrylamide (PNIPAM), un polymère thermosensible très connu et largement employé dans de nombreuses applications et notamment dans le domaine biomédical ²⁹⁻³⁰. Il a ainsi été utilisé pour contrôler l'adhésion de protéines ³¹, l'immobilisation de cellules endothéliales ³² ou de bactéries sur des surfaces ³³ et ce, de manière réversible en faisant simplement varier la température du substrat.

II. Synthèse et caractérisation de polymères fonctionnalisés en extrémité de chaîne par un motif furane ou maléimide

Le but de cette partie réside dans la capacité à élaborer des polymères parfaitement définis fonctionnalisés en extrémité de chaîne par un groupement furane ou maléimide afin d'étudier leurs aptitudes à être immobilisés sur les plateformes de titane (Ti-DM et Ti-DF respectivement) décrites précédemment. Pour ce faire, deux agents de transfert de type trithiocarbonate incorporant une entité furane ou maléimide ont été synthétisés. Toutefois, en raison de la grande réactivité du groupement maléimide et afin de s'assurer de sa présence lors de l'immobilisation des polymères sur les surfaces, le motif a été protégé pendant tout le processus d'élaboration ³⁴⁻³⁶ (synthèse de l'agent de transfert et polymérisation).

II.1. Synthèses et caractérisations des agents de transfert CTA3 et CTA4 incorporant une entité furane ou maléimide protégé

L'agent de transfert de chaîne **CTA2**, obtenu par activation de l'acide **CTA1** en présence de *N*-hydroxysuccinimide (NHS) et de *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC), est mis à réagir avec la furfurylamine en présence de triéthylamine pour donner l'agent de transfert **CTA3** intégrant le groupement fonctionnel furane. L'agent de transfert **CTA4** porteur d'un groupement maléimide protégé est obtenu, quant à lui, par couplage entre le **CTA1** et le composé **15**³⁷ qui se présente sous la forme d'un adduit bicyclique issu de la réaction entre le groupement maléimide et le furane (formation d'un oxanorbornène) (Figure III.65).

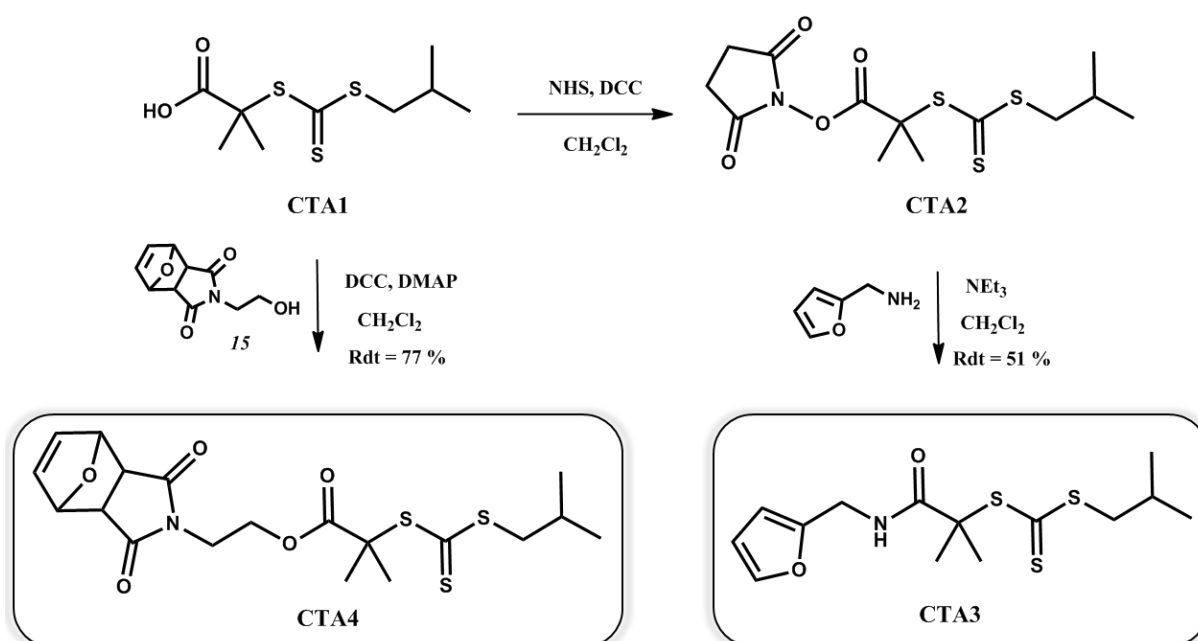


Figure III.65 : Voies de synthèse des agents de transfert **CTA3** et **CTA4**

Les structures des agents de transfert de chaînes **CTA1**, **CTA2**, **CTA3** et **CTA4** ont été confirmées par des analyses RMN. Les spectres RMN du proton ^1H et du carbone ^{13}C des agents de transfert **CTA3** et **CTA4** sont présentés dans la Figure III.66 et les spectres correspondant aux **CTA1** et **CTA2** sont détaillés dans la partie expérimentale.

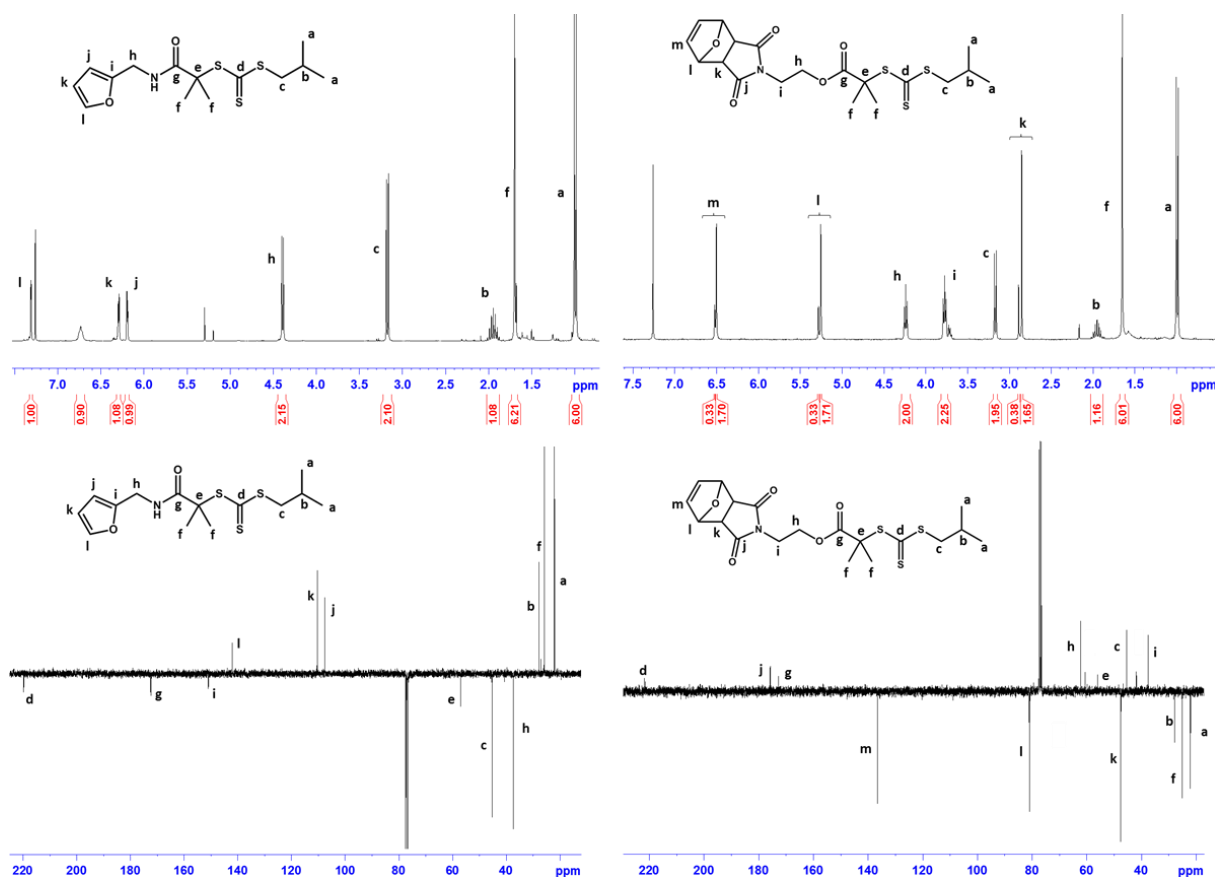


Figure III.66 : Spectres RMN ^1H (haut) et ^{13}C (bas) des agents de transfert **CTA3** (gauche) et **CTA4** (droite) dans CDCl_3

Les spectres RMN ^1H des **CTA3** et **CTA4** permettent d'identifier, pour les deux agents de transfert, la présence des protons du fragment trithiocarbonate situés à 1,0 ppm (H_a), 1,9 ppm (H_b) et 3,2 ppm (H_c) ainsi que ceux caractéristiques de l'entité furane situés entre 6,2 et 7,4 ppm (H_j , H_k et H_l) et du groupement maléimide protégé observables à 2,9 ppm (H_k), 5,3 ppm (H_l) et 6,5 ppm (H_m) (Figure III.66, haut). Les spectres RMN ^{13}C corroborent également les structures des agents de transfert puisqu'ils présentent des déplacements chimiques aux alentours de $\delta = 220$ ppm (fonction thiocarbonyle, C_d) ainsi que vers $\delta = 170\text{-}175$ ppm (groupement carbonyle, C_g) relatifs aux fonctions amide et ester présentes dans les structures des agents **CTA3** et **CTA4** respectivement (Figure III.66).

II.2. Polymérisation RAFT en présence des agents de transfert CTA3 et CTA4

La capacité des agents de transfert **CTA3** et **CTA4** à engendrer la polymérisation des trois différents monomères présentés précédemment (OEGA, TFEA et NIPAM) a été étudiée. Pour ce travail, nous avons choisi d'élaborer des polymères dont les masses molaires sont en théorie inférieures à 15000 g.mol^{-1} afin de visualiser les extrémités de chaîne par RMN ^1H , tout en gardant des distributions étroites de masses molaires et donc un indice de polymolécularité ($\bar{D}$) faible.

II.2.1. Polymérisation RAFT en présence de l'agent de transfert CTA3

Tout d'abord, nous avons étudié les polymérisations RAFT des trois monomères en présence de l'agent de transfert **CTA3**. Celles-ci ont été conduites dans le diméthylformamide (DMF) à 80°C selon les paramètres répertoriés dans le Tableau III.3.

Tableau III.3 : Paramètres de polymérisation et caractérisations RMN ^1H et SEC des polymères élaborés à partir de l'agent de transfert **CTA3**

Polymère	$[\text{M}]_0/[\text{CTA}]_0/[\text{A}]_0$	$\tau (\%)^a$	$\text{Mn}_{\text{RMN}} (\text{g.mol}^{-1})^a$	$\text{Mn}_{\text{SEC}} (\text{g.mol}^{-1})^b$	$\bar{D}^b$
CTA3-POEGA	30/1/0,2	94,5	15050	6650	1,22
CTA3-PTFEA	100/1/0,2	74,4	11250	3600	1,18
CTA3-PNIPAM	100/1/0,2	95,0	12900	7500	1,18

a) Déterminés par RMN ^1H , b) Déterminés par SEC THF (POEGA et PNIPAM) et SEC toluène (PTFEA) ;
 τ = taux de conversion en polymère

Les polymères ont ensuite été caractérisés par RMN ^1H afin de déterminer les masses molaires moyennes en nombre Mn_{RMN} ainsi que par chromatographie d'exclusion stérique (SEC) pour évaluer les indices de polymolécularité $\bar{D}$. Les spectres RMN ^1H des polymères CTA3-POEGA, CTA3-PTFEA et CTA3-PNIPAM sont présentés dans la Figure III.67.

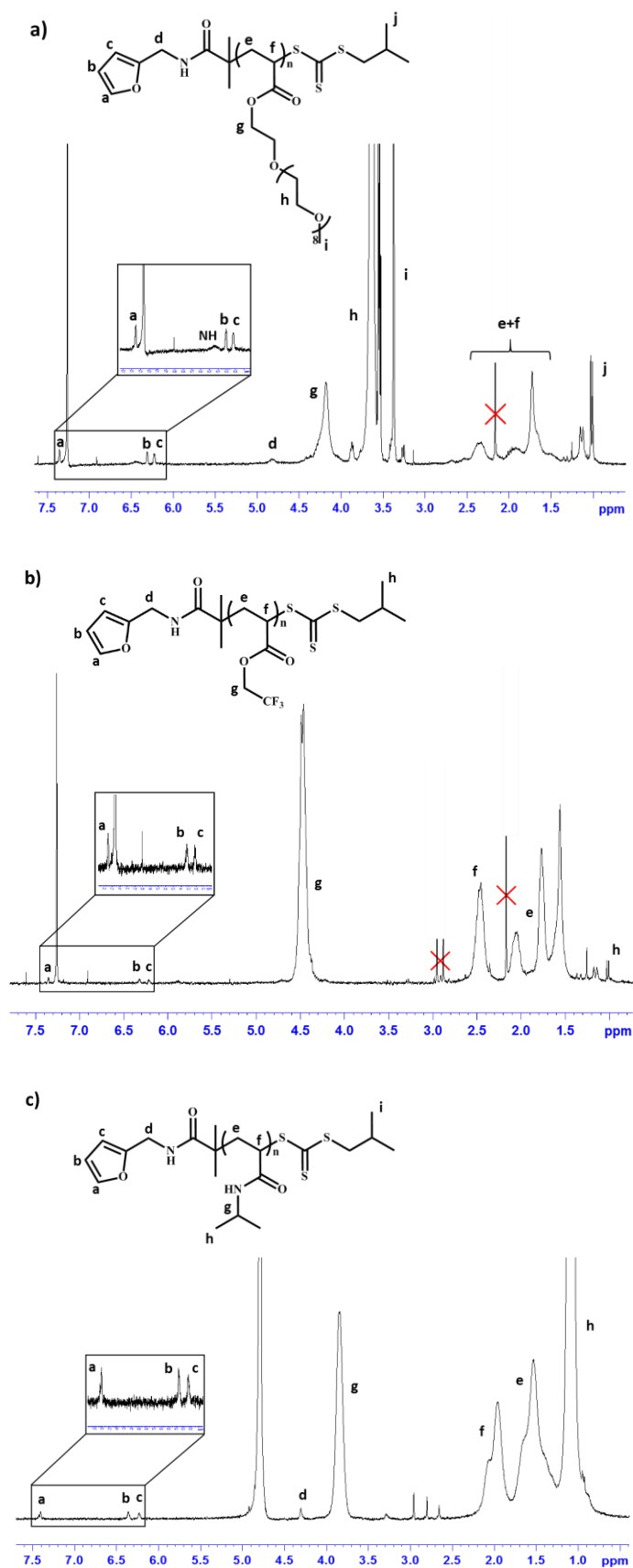


Figure III.67 : Spectres RMN ^1H des polymères CTA3-POEGA (a), CTA3-PTFEA (b) dans CDCl_3 et CTA3-PNIPAM (c) dans D_2O

Nous pouvons remarquer sur chaque spectre RMN ^1H des polymères fonctionnalisés en extrémité de chaîne par le groupement furane, les signaux des protons H_e , H_f et H_g caractéristiques du squelette polymère ainsi que la présence des signaux correspondants aux protons H_a , H_b et H_c du groupement furane situés entre $\delta = 6,2$ et $7,4$ ppm. En intégrant les signaux des protons du groupement furane et les protons H_g de la chaîne polymère, nous avons ensuite été en mesure d'évaluer les masses molaires moyennes en nombre Mn_{RMN} de chaque polymère (Équation PE.5) (Mn_{RMN} CTA3-POEGA = 15050 g.mol^{-1} , Mn_{RMN} CTA3-PTFEA = 11250 g.mol^{-1} et Mn_{RMN} CTA3-PNIPAM = 12900 g.mol^{-1}).

De plus, les caractérisations de ces polymères par chromatographie d'exclusion stérique (SEC) ont permis de mettre en évidence de faibles indices de polymolécularité. Les valeurs obtenues sont résumées dans le Tableau III.3.

Il est à noter qu'il s'est avéré impossible de caractériser le polymère CTA3-PTFEA par analyse SEC dans le THF en raison d'un indice de réfraction trop proche de celui du solvant utilisé pour l'analyse ³⁸⁻³⁹. Pour pallier à ce problème, l'analyse SEC de ce polymère a été effectuée dans le toluène. De manière générale, nous remarquons que les masses molaires moyennes en nombre calculées par RMN (Mn_{RMN}) sont supérieures à celles obtenues par chromatographie d'exclusion stérique (Mn_{SEC}). L'origine de cette différence est très probablement reliée à la calibration de la chromatographie SEC réalisée à l'aide de standards polystyrènes.

II.2.2. Polymérisation RAFT en présence de l'agent de transfert CTA4

Nous avons ensuite réalisé la polymérisation des trois monomères en présence de l'agent de transfert **CTA4**. Les polymérisations ont également été menées dans le diméthylformamide (DMF) en utilisant les paramètres de concentration répertoriés dans le Tableau III.4. La température de polymérisation a toutefois été fixée à 75°C afin de limiter les réactions de déprotection de la partie maléimide. Les spectres RMN ^1H des polymères purifiés sont représentés dans la Figure III.68.

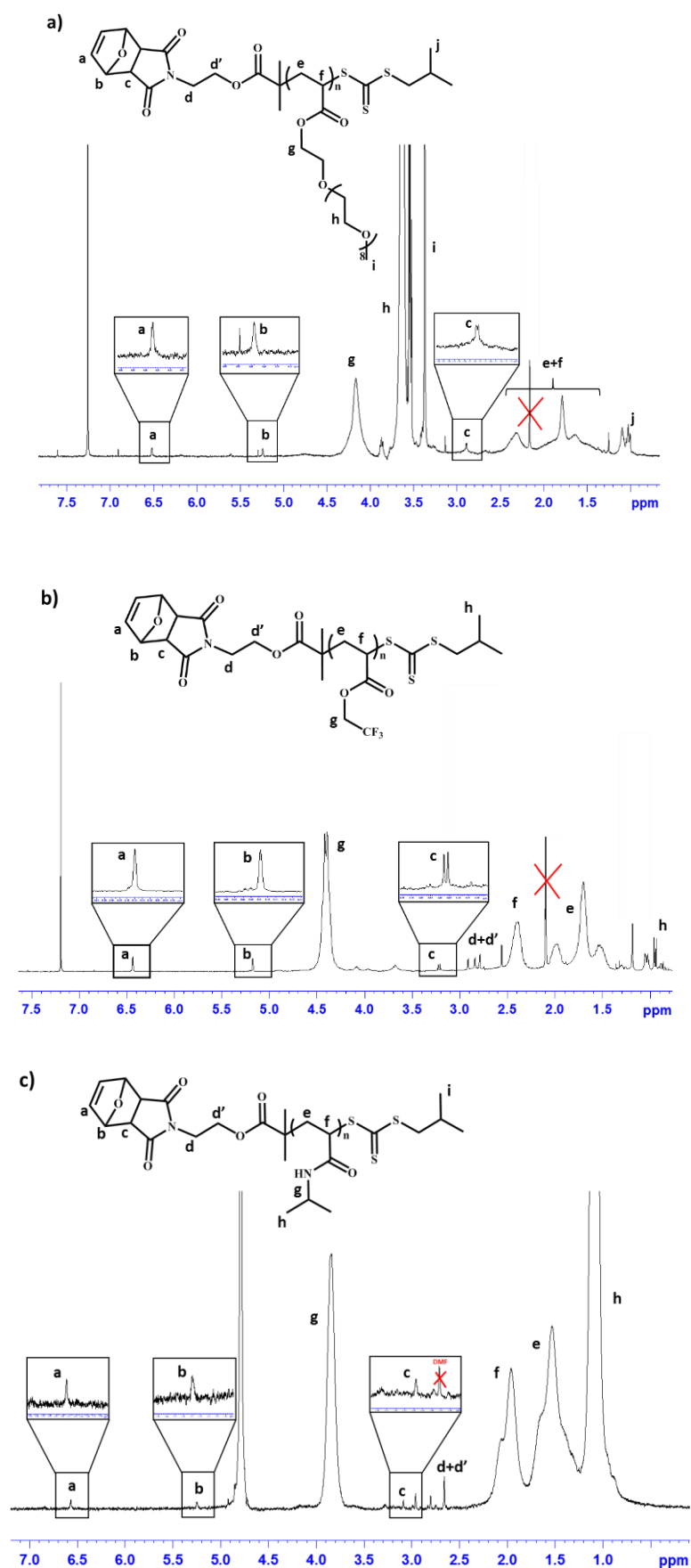


Figure III.68 : Spectres RMN ^1H des polymères CTA4-POEGA (a), CTA4-PTFEA (b) dans CDCl_3 et CTA4-PNIPAM (c) dans D_2O

Comme observé précédemment avec le **CTA3**, chaque spectre RMN ^1H des polymères fonctionnalisés en extrémité de chaîne par le groupement maléimide protégé présente les signaux des protons H_e , H_f et H_g caractéristiques des différents motifs de répétition de la chaîne polymère ainsi que les protons H_a , H_b et H_c localisés sur l'entité maléimide protégée résonnant dans les zones de déplacements chimiques situées respectivement vers 6,5, 5,2 et 3,0 ppm (Figure III.68). Ces signaux ont été utilisés pour calculer les masses molaires Mn_{RMN} dont les valeurs sont répertoriées dans le Tableau III.4, tableau comprenant également les résultats obtenus par SEC.

Tableau III.4 : Paramètres de polymérisation et caractérisations RMN ^1H et SEC des polymères élaborés à partir de l'agent de transfert **CTA4**

Polymère	$[\text{M}]_0/[\text{CTA}]_0/[\text{A}]_0$	τ (%) ^a	Mn_{RMN} (g.mol ⁻¹) ^a	Mn_{SEC} (g.mol ⁻¹) ^b	$\bar{D}$ ^b
CTA4-POEGA	30/1/0,2	92,5	15400	7350	1,21
CTA4-PTFEA	100/1/0,2	64,0	10900	2650	1,20
CTA4-PNIPAM	200/1/0,2	65,5	15850	12380	1,35

a) Déterminés par RMN ^1H , b) Déterminés par SEC THF (POEGA et PNIPAM) et SEC toluène (PTFEA)
 τ = taux de conversion en polymère

Pour les mêmes raisons que précédemment, les masses molaires moyennes en nombre estimées par RMN (Mn_{RMN}) sont supérieures à celles obtenues par chromatographie d'exclusion stérique (Mn_{SEC}).

Ces polymères aux propriétés variées et fonctionnalisés en extrémité de chaîne seront utilisés par la suite afin de modifier les mêmes plateformes de titane à base de dopamine décrites dans le chapitre 2. Toutefois, les polymères échafaudés à l'aide du **CTA4** nécessiteront une étape de déprotection avant d'envisager leur ancrage, grâce au groupement fonctionnel maléimide, sur les surfaces de titane.

II.3. Déprotection des polymères fonctionnalisés par l'agent de transfert **CTA4**

Après avoir vérifié l'aptitude de l'agent de transfert **CTA4** à générer des polymères bien définis, nous avons opéré la déprotection du groupement maléimide situé en extrémité de chaîne. Pour cela, les trois polymères obtenus précédemment ont été placés à reflux dans le toluène pendant 48h afin d'engendrer la réaction de rétro Diels-Alder. Après évaporation du solvant, les polymères nommés de manière systématique « CTA4'-polymère », ont fait l'objet

de caractérisations par RMN ^1H afin de contrôler l'efficacité de l'étape de déprotection (Figure III.69).

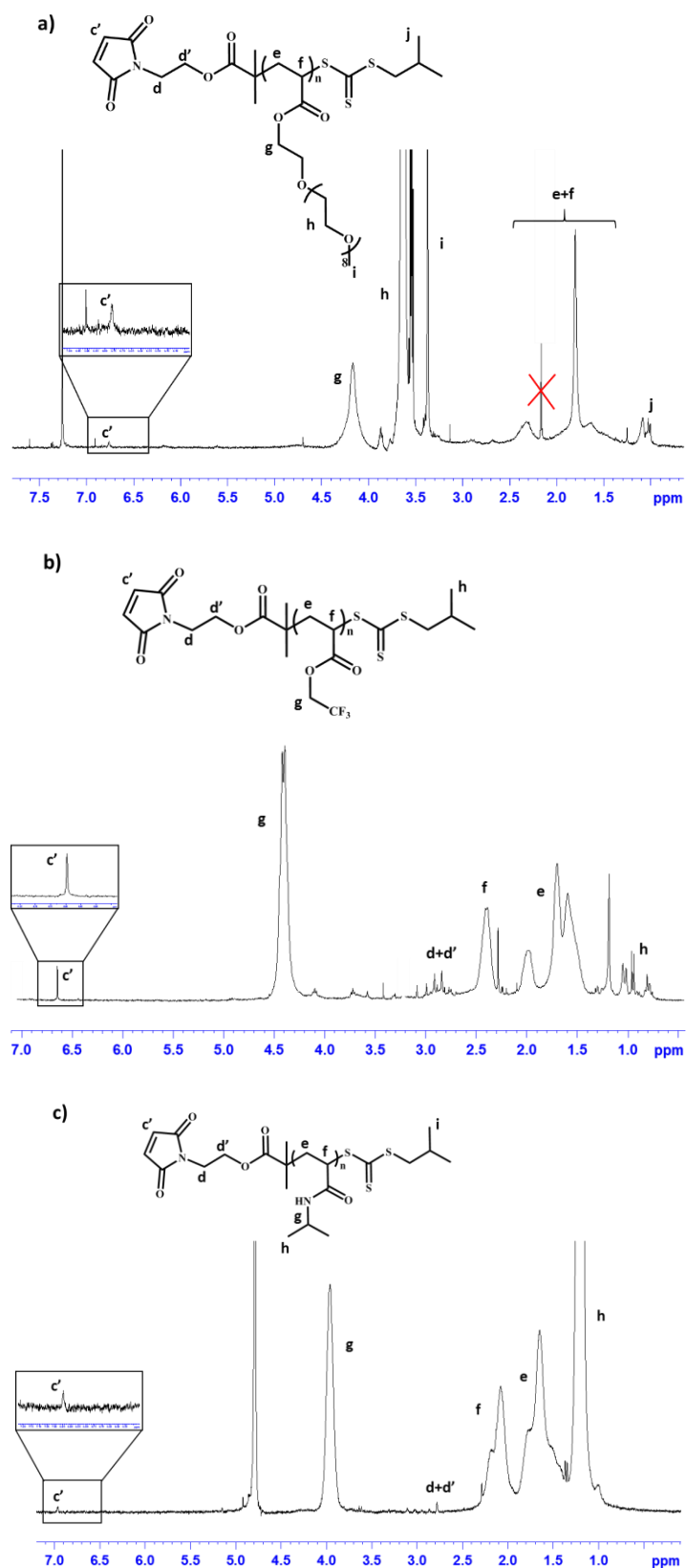


Figure III.69 : Spectres RMN ^1H des polymères CTA4'-POEGA (a), CTA4'-PTFEA (b) dans CDCl_3 et CTA4'-PNIPAM (c) dans D_2O après réaction de rDA

Nous pouvons distinguer très clairement sur les spectres RMN ^1H , la disparition totale des signaux des protons correspondants au groupement furane protecteur de chacun des polymères (pour rappel, situés vers 6,5, 5,2 et 3,0 ppm) et l'apparition d'un nouveau signal situé entre $\delta = 6,7$ et $7,0$ ppm attribuable aux deux protons H_c du groupement maléimide. Ces observations permettent de mettre en évidence des rendements de déprotection quantitatifs des extrémités de chaîne des trois polymères. Toutefois, nous remarquons que les masses molaires moyennes en nombre calculées par RMN ^1H (Mn_{RMN}), déterminées par intégration des signaux des protons H_c et des protons H_g de la chaîne polymère, sont légèrement plus importantes après l'étape de déprotection (Tableau III.5, rouge).

Ces résultats indiquent probablement que certains des groupements situés en extrémité de la chaîne polymère ont dû être endommagés lors du processus de déprotection ⁴⁰. En effet, l'intensité des signaux des protons H_c déterminés par RMN ^1H devient alors plus faible et le rapport H_g/H_c plus grand, ce qui tend à obtenir des Mn_{RMN} plus importantes après déprotection.

Tableau III.5 : Paramètres de polymérisation et caractérisations RMN ^1H et analyses SEC des polymères élaborés à partir de l'agent de transfert **CTA4** avant (noir) et après déprotection du groupement maléimide (rouge)

Polymère	Mn_{RMN} ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) ^a	Mn_{SEC} ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) ^b	$\bar{D}$ ^b
CTA4-POEGA	15400	7350	1,21
CTA4'-POEGA	16700	7160	1,22
CTA4-PTFEA	10900	2650	1,20
CTA4'-PTFEA	11200	2450	1,22
CTA4-PNIPAM	15850	12380	1,35
CTA4'-PNIPAM	18200	12060	1,37

a) Déterminées par RMN ^1H , b) Déterminés par SEC THF (POEGA et PNIPAM) et SEC toluène (PTFEA)

Afin de confirmer cette hypothèse et s'assurer qu'il n'existe pas de réaction de couplage entre les chaînes polymères, ces derniers ont fait l'objet d'analyses par SEC (Tableau III.5). Nous pouvons noter que les valeurs obtenues par cette technique (Mn_{SEC} et $\bar{D}$) sont quasi similaires avant et après réaction de rDA pour les trois polymères élaborés. A titre d'exemple, nous avons également comparé les chromatogrammes du PNIPAM obtenus avant et après déprotection des extrémités de chaîne du polymère (Figure III.70). Les tracés SEC obtenus

n'affichent aucune différence notable et confirment ainsi qu'il n'existe pas de réaction de couplage entre les chaînes polymères lors du processus thermique.

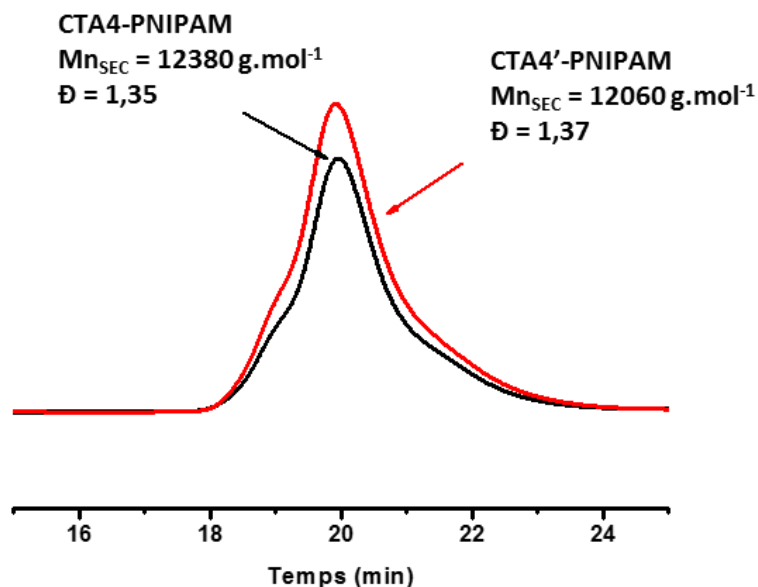


Figure III.70 : Superposition des chromatogrammes SEC des polymères CTA4-PNIPAM et CTA4'-PNIPAM obtenus respectivement avant et après déprotection des extrémités de chaîne

Les polymères échafaudés à l'aide du **CTA4** présentent désormais un groupement maléimide réactif susceptible d'être engagé dans une réaction de Diels-Alder. Ainsi, tout comme les polymères obtenus à partir du **CTA3**, ces polymères seront utilisés dans le chapitre suivant pour évaluer leurs immobilisations sur les plateformes à base de titane développées précédemment.

III. Synthèse et caractérisation d'un PNIPAM fonctionnalisé en extrémité de chaîne par une sonde ferrocène

Le but de cette partie consiste à échafauder des polymères à base de PNIPAM fonctionnalisés :

(i) à une extrémité par un groupement thiol en vue d'étudier leur immobilisation sur les plateformes Ti-DM en exploitant la réactivité du groupement maléimide à l'égard des réactions de type thiol-ène.

(ii) à l'autre extrémité par une sonde électro-active de type ferrocène permettant de détecter aisément leur présence sur une surface par des études de voltampérométrie cyclique.

Pour ce faire, les polymères préparés par voie RAFT semblent être d'excellents candidats dans la mesure où il est possible de transformer, dans des conditions douces et en une seule étape, les extrémités de chaînes trithiocarbonate en fonctions thiols ¹⁹. De plus, ces polymères sont généralement élaborés à partir d'agents de transfert fonctionnalisés sur la partie R, ce qui permet d'incorporer facilement une fonction spécifique ou une molécule d'intérêt. La stratégie développée dans cette partie consiste ainsi à élaborer un polymère de PNIPAM, préparé à partir d'un nouvel agent de transfert doté d'une sonde ferrocène (**CTA5**), puis de générer des fonctions thiols à partir des groupements trithiocarbonates afin de réaliser la fonctionnalisation des substrats de titane modifiés par l'ancre Dopamine-Maléimide.

III.1. Synthèse et caractérisation de l'agent de transfert fonctionnalisé par le motif ferrocène

La stratégie de synthèse aboutissant à l'agent de transfert **CTA5** fonctionnalisé par le motif électro-actif ferrocène, est décrite dans la Figure III.71. Il est obtenu par réaction d'estérification entre le **CTA 1** et l'hydroxypentyle ferrocène **16** ⁴¹ en présence de 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyle) carbodiimide (EDCI).

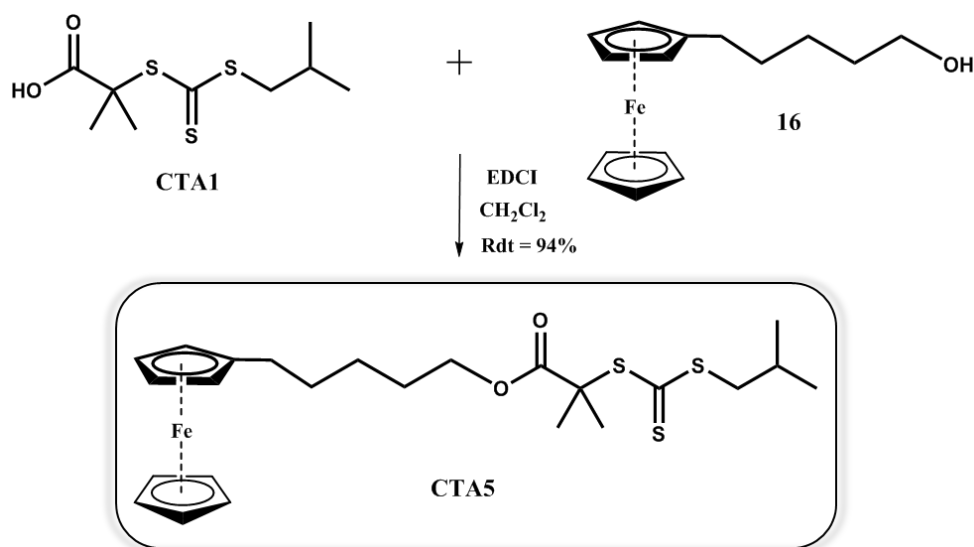


Figure III.71 : Synthèse de l'agent de transfert RAFT **CTA5**

La structure de l'agent de transfert **CTA5** a été confirmée par RMN ^1H et ^{13}C (Figure III.72). En effet, nous pouvons observer distinctement sur le spectre proton, les signaux des protons caractéristiques du groupement trithiocarbonate ($\delta_a = 1,0$ ppm, $\delta_b = 2,0$ ppm et $\delta_c = 3,2$ ppm) ainsi que les 9 protons H_n appartenant au motif ferrocène situés à 4,3 ppm. De plus, le spectre RMN ^{13}C montre la présence d'un signal situé à 171,8 ppm caractéristique de la fonction ester générée lors de la réaction de couplage.

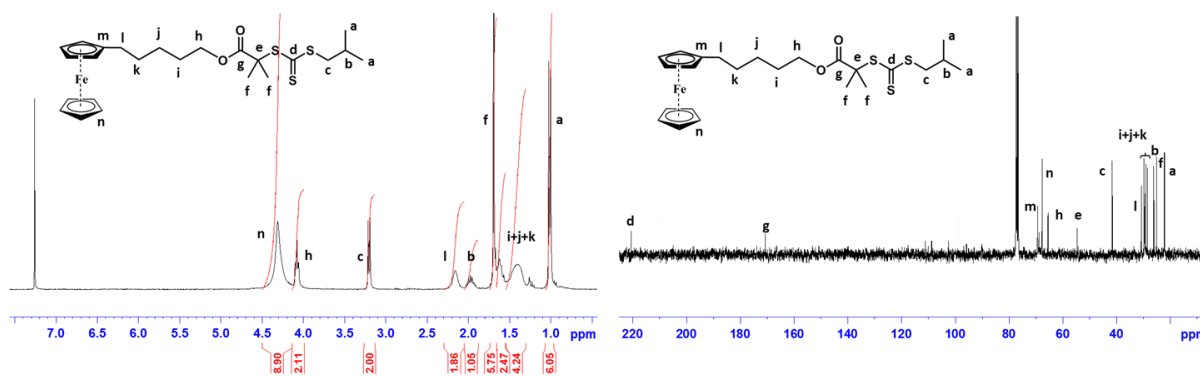


Figure III.72 : Spectres RMN ^1H (gauche) et ^{13}C (droite) de l'agent de transfert **CTA5** dans CDCl_3

III.2. Polymérisation RAFT du NIPAM en présence de l'agent de transfert **CTA5**

Nous nous sommes ensuite intéressés à la polymérisation du *N*-isopropylacrylamide (NIPAM) en présence de l'agent de transfert **CTA5**. L'élaboration de polymères fonctionnalisés parfaitement définis est essentielle afin de disposer de fonctions thiols disponibles pour l'immobilisation sur la surface et de sondes ferrocène pour la détection du polymère sur le matériau.

Ainsi, la polymérisation du NIPAM a été réalisée dans le toluène à 80°C dans les conditions suivantes : $[\text{CTA5}] / [\text{AIBN}] / [\text{NIPAM}] = 1 / 0,2 / 100$ pendant 5h, temps pour lequel un taux de conversion de 99% a été atteint. Après précipitation dans l'éther diéthylique, le polymère a fait l'objet de caractérisations par RMN ^1H (Figure III.73) et d'analyses par SEC.

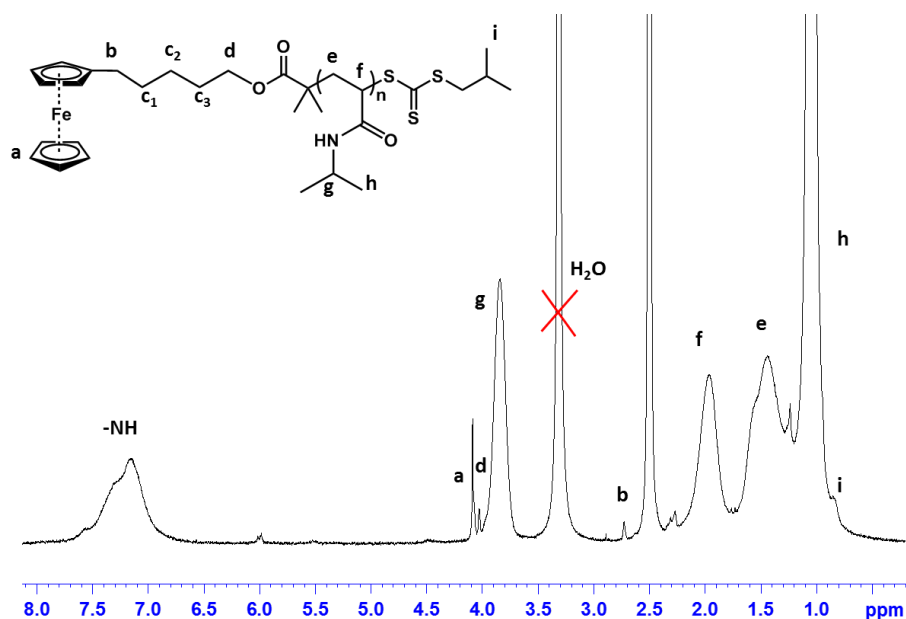


Figure III.73 : Spectre RMN ^1H du CTA5-PNIPAM dans le DMSO

Nous pouvons observer très distinctement sur le spectre Figure III.73, les signaux des protons H_e ($\delta = 1,2\text{-}1,75$ ppm) et H_f ($\delta = 1,75\text{-}2,2$ ppm) caractéristiques du squelette du polymère ainsi que ceux appartenant au groupement isopropyle (H_g et H_h) localisés respectivement à 3,7-4,0 ppm et à 0,8-1,2 ppm. L'analyse spectrale permet également de mettre en évidence la présence de l'extrémité de chaîne ferrocène grâce au signal situé à 4,1 ppm (δH_a). De plus, par intégration des signaux des protons de cette unité électro-active et de ceux appartenant à la chaîne polymère (H_g), il est possible grâce à l'utilisation de l'Équation PE.5, de déterminer la masse molaire moyenne en nombre du polymère ($\text{Mn}_{\text{RMN CTA5-PNIPAM}} = 11100 \text{ g.mol}^{-1}$).

Les signaux des protons caractéristiques du groupement isobutyle de l'agent de transfert (H_i) sont généralement proches voir dissimulés dans les signaux de la chaîne carbonée et il est donc délicat d'affirmer leur présence au sein de la chaîne polymère simplement à l'aide de caractérisations RMN ^1H . Afin de confirmer la présence du groupement trithiocarbonate au sein de la chaîne polymère, nous avons donc mené une étude UV-visible (Figure III.74).

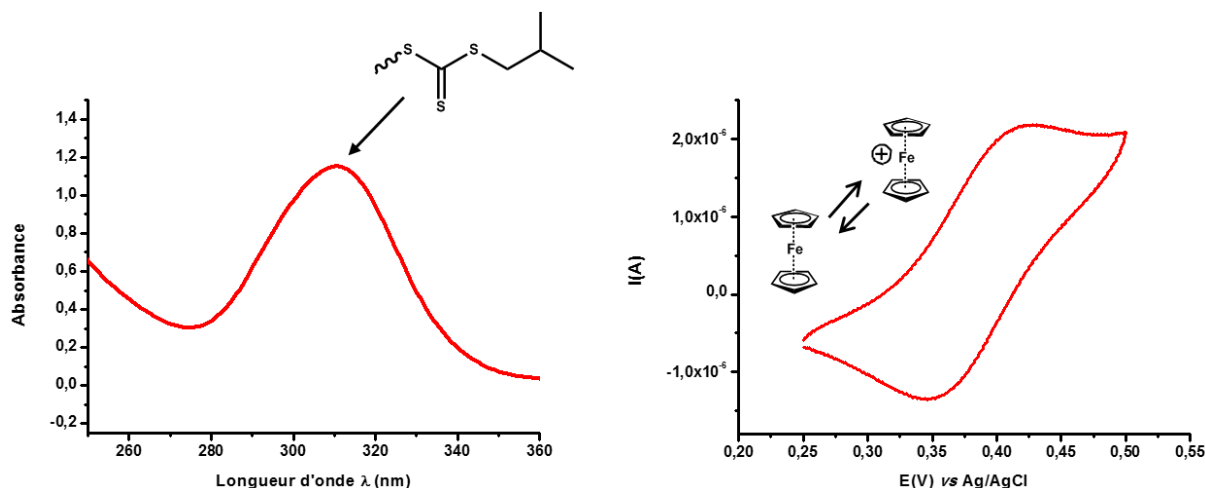


Figure III.74 : (Gauche) Spectre UV-visible du CTA5-PNIPAM (10^{-4} M) enregistré à 20°C dans ACN (Droite) Voltampérogramme cyclique du CTA5-PNIPAM à une concentration de 0,1 M; Conditions : solution électrolyte (TBAPF₆ 0,1 M) dans ACN; vitesse de balayage de 50 mV.s⁻¹

L'enregistrement du spectre UV-visible du polymère réalisé dans l'acétonitrile (Figure III.74, gauche) a confirmé la présence du groupement trithiocarbonate de l'extrémité de chaîne dans la mesure où la bande d'absorption caractéristique centrée à 310 nm est observée.

Parallèlement, pour vérifier qualitativement la présence du motif ferrocène, une étude de voltampérométrie cyclique du CTA5-PNIPAM ($M_{nSEC} = 9120$ g.mol⁻¹, $\bar{D} = 1,16$) a été réalisée dans l'acétonitrile (Figure III.74, droite). Comme attendu, une vague d'oxydation réversible centrée à 0,42 V, caractéristique du comportement électrochimique du motif ferrocène, est observée sur le voltampérogramme du polymère.

III.3. Génération de fonctions thiols à partir du polymère CTA5-PNIPAM

Les polymères préparés par le procédé RAFT en présence d'agents de transfert de type trithiocarbone présentent l'avantage d'être doublement fonctionnalisables sur les parties R et Z. Ainsi, nous avons étudié la possibilité de réaliser une réaction de fonctionnalisation post-polymérisation du polymère CTA5-PNIPAM afin de convertir le groupement trithiocarbonate en fonction thiol par aminolyse. Ce type de réaction s'opère en une seule étape, dans des conditions douces et permet d'obtenir quantitativement des polymères utilisés dans de nombreuses applications telles que dans l'électronique, les nanotechnologies ou plus particulièrement en science des matériaux ⁴².

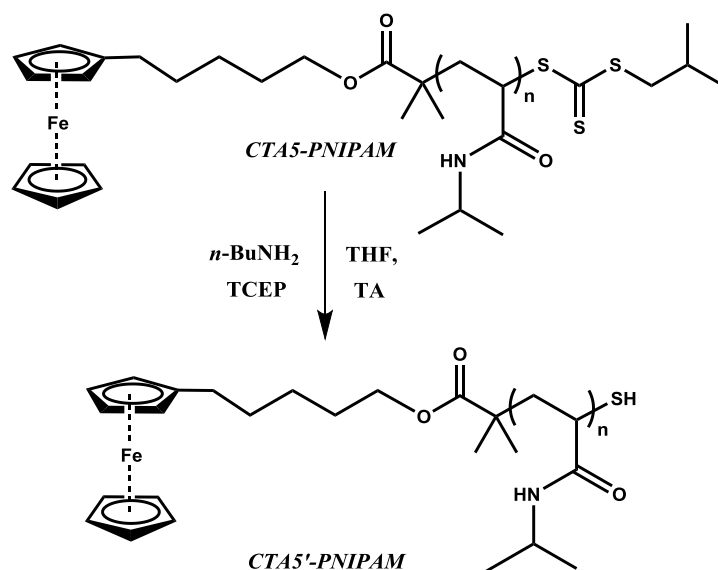


Figure III.75 : Post-fonctionnalisation du polymère CTA5-PNIPAM par aminolyse

Pour ce faire, le groupement trithiocarbonate du polymère CTA5-PNIPAM est converti en fonction thiol par aminolyse en présence d'un excès de *n*-butylamine (Figure III.75). L'utilisation d'un excès de base est importante afin de s'assurer que la conversion des extrémités de chaîne soit totale puisqu'il existe des réactions secondaires pouvant conduire à la formation de dérivés indésirables tels que la dibutylthiourée et l'isobutylthiol ⁴². Après 1 heure de réaction, le polymère désormais nommé CTA5'-PNIPAM, est de nouveau précipité dans l'éther diéthylique afin d'éliminer les excès de *n*-butylamine ainsi que les sous-produits formés lors de la réaction.

Il est bien établi que les espèces thiols peuvent s'oxyder facilement et former des ponts disulfures par couplage de deux chaînes polymères. Afin de pallier à ce phénomène, nous avons ajouté un agent réducteur à base de phosphine dans le milieu réactionnel (TCEP, 0,05 éq) capable de réduire rapidement les ponts disulfures ⁴³. L'efficacité de l'agent réducteur a pu être mise en évidence en caractérisant les polymères générés par chromatographie d'exclusion stérique (Figure III.76).

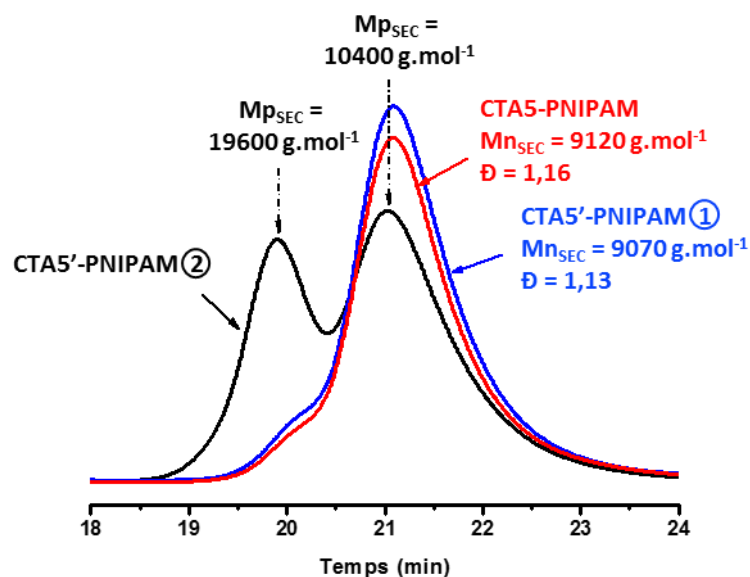


Figure III.76 : Superposition des chromatogrammes SEC des polymères CTA5'-PNIPAM obtenus en présence (bleu) et en absence d'agent réducteur TCEP (noir) en comparaison avec celui du polymère CTA5-PNIPAM (rouge)

Sur le chromatogramme du polymère CTA5'-PNIPAM 2 obtenu par aminolyse en absence d'agent réducteur TCEP, nous pouvons noter l'apparition d'une seconde population vers les plus hautes masses molaires, suggérant la formation de dimères par formation de ponts disulfures entre les polymères. En effet, les valeurs des masses molaires aux pics M_{pSEC} des deux populations se différencient par un coefficient 2 (10400 g.mol⁻¹ et 19600 g.mol⁻¹) évoquant ainsi une réaction de couplage entre deux polymères. Ce phénomène n'est pas observé sur le PNIPAM post-fonctionnalisé en présence du TCEP (CTA5-PNIPAM 1) ce qui confirme le rôle clé joué par l'agent réducteur lors de l'aminolyse du groupement trithiocarbonate du polymère.

Afin de suivre qualitativement la conversion des extrémités de chaîne en fonctions thiols, nous avons ensuite comparé les spectres UV-visibles du polymère avant (CTA5-PNIPAM, rouge) et après post-fonctionnalisation en présence de TCEP (CTA5'-PNIPAM, bleu). Il apparaît sur la Figure III.77, une diminution importante de la bande d'absorption à 310 nm après aminolyse en accord avec la formation de fonctions thiols en extrémité de la chaîne polymère. Nous pouvons toutefois noter que la disparition de la bande n'est pas totale probablement en raison de la présence du motif ferrocène, absorbant également au voisinage de 310 nm (Figure III.77, gauche, noir). Par ailleurs, une vague d'oxydo-réduction centrée à 0,41 V est toujours décelable après aminolyse par des mesures électrochimiques confirmant ainsi l'innocuité de la réaction vis-à-vis de la sonde électro-active (Figure III.77, droite).

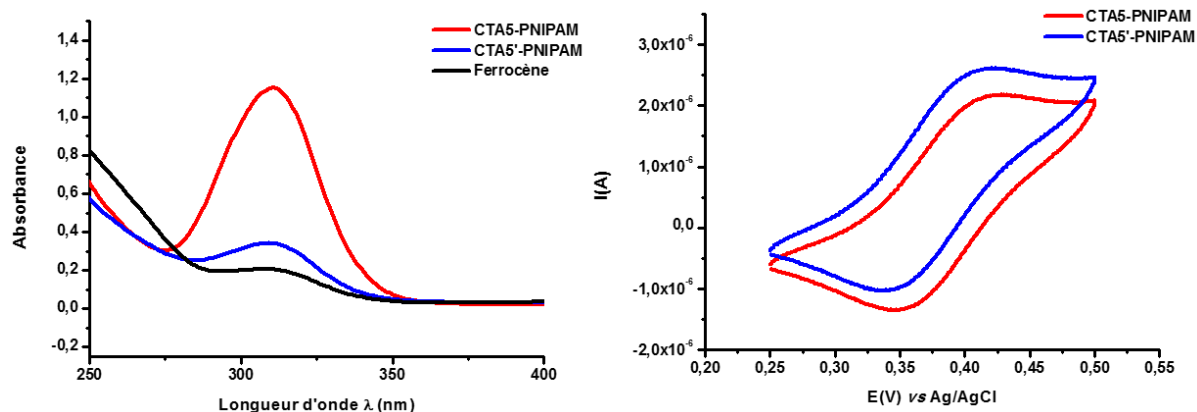


Figure III.77 : (Gauche) Comparaison des spectres UV-visible du ferrocène (noir) et du polymère CTA5-PNIPAM avant (rouge) et après aminolyse (bleu). Spectres enregistrés à 20°C à une concentration de 10^{-4} M dans l'acétonitrile (ACN)

(Droite) Comparaison des voltampérogrammes cycliques du CTA5-PNIPAM enregistrés avant (rouge) et après aminolyse (bleu) à une concentration de 0,1 M;

Conditions : solution électrolyte (TBAPF₆ 0,1 M) dans ACN; vitesse de balayage de 50 mV.s⁻¹

En conclusion, nous sommes parvenus à élaborer un polymère α,ω -fonctionnel bien défini comportant à une extrémité, une unité ferrocène électro-active et à l'autre extrémité une fonction thiol libre. La capacité de ce polymère à être immobilisé sur les plateformes Ti-DM par l'intermédiaire de la fonction thiol sera étudiée dans le chapitre suivant.

IV. Synthèse et caractérisation de polymères fonctionnalisés en extrémité de chaîne par un motif nitro-catéchol

L'objectif de cette étude consiste à élaborer des polymères parfaitement définis capables de se greffer d'une part sur la surface de matériaux à travers une stratégie « graft to » puis d'être éliminés du substrat sur demande, d'autre part, sous l'action d'un stimulus tel qu'un rayonnement ultra-violet. Ainsi, nous avons préparé par le procédé RAFT, des polymères dotés d'un motif catéchol porteur d'un groupement nitro possédant simultanément d'excellentes propriétés d'ancrage grâce au motif catéchol et un caractère photosensible conféré par le groupement -NO₂.

IV.1. Synthèse et caractérisation d'agents de transfert fonctionnalisés par un motif (nitro) catéchol

L'agent de transfert de chaîne **CTA6** fonctionnalisé par un motif catéchol porteur d'un groupement nitro est obtenu avec un bon rendement (> 60%) par réaction de l'agent de transfert **CTA2** avec la nitro-dopamine (**17**)⁴⁴, en présence de triéthylamine (Figure III.78). Un autre agent de transfert dépourvu du groupement -NO₂ (**CTA7**) a été également synthétisé selon le même schéma réactionnel mais en remplaçant la nitro-dopamine par le chlorohydrate de dopamine commercial, en vue de démontrer l'importance du rôle joué par le motif nitro dans la stimulation du matériau par la lumière UV.

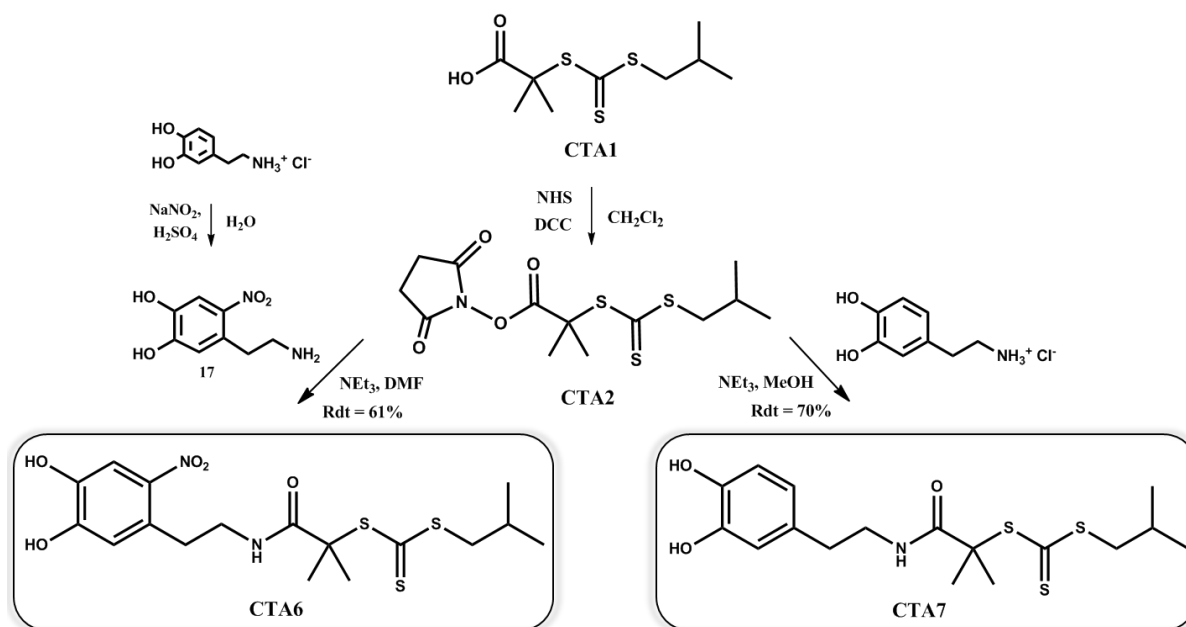


Figure III.78 : Synthèses des agents de transfert **CTA6** et **CTA7**

Les structures des agents de transfert **CTA6** et **CTA7** ont été élucidées par RMN ¹H et ¹³C. Les spectres RMN du **CTA6** sont présentés Figure III.79 alors que ceux de l'agent de transfert dépourvu du groupement -NO₂ sont décrits dans la partie expérimentale. Le spectre RMN ¹H du **CTA6** présenté ci-dessous, permet d'identifier clairement les signaux des protons H_a, H_b et H_c caractéristiques du fragment trithiocarbonate aux faibles déplacements chimiques ainsi que les signaux des deux protons H_k et H_n appartenant au motif catéchol présents à δ = 6,9 ppm et δ = 7,5 ppm respectivement. Le spectre RMN ¹³C confirme la structure de l'agent de

transfert **CTA6** notamment par l'intermédiaire de la présence des signaux attribuables à la fonction amide ($\delta_{C_g} = 175$ ppm) ainsi qu'à celle de la fonction thiocarbonyle ($\delta_{C_d} = 220$ ppm).

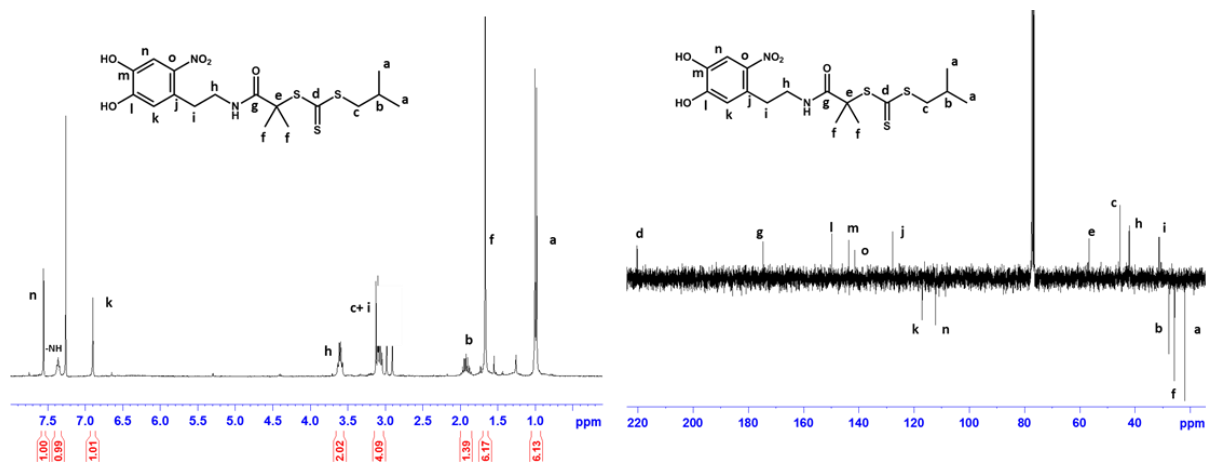


Figure III.79 : Spectres RMN 1H (gauche) et ^{13}C (droite) de l'agent de transfert **CTA6** dans $CDCl_3$

IV.2. Polymérisation RAFT à l'aide de l'agent de transfert CTA6

Après avoir synthétisé et caractérisé l'agent de transfert **CTA6**, nous avons étudié son aptitude à échafauder diverses macromolécules fonctionnalisées en extrémité de chaîne par un motif nitro-catéchol capable d'interagir avec la surface des matériaux.

Pour ce faire, les polymérisations des monomères OEGA, TFEA et NIPAM, ont été menées à 80°C en utilisant les conditions décrites dans le Tableau III.6. Les polymères résultants ont fait l'objet de caractérisations RMN 1H et d'analyses par SEC. De manière générale, les spectres RMN 1H des polymères (Figure III.80) présentent les signaux des protons H_e , H_f et H_g caractéristiques des unités de répétition de la chaîne polymère ainsi que deux signaux situés respectivement aux alentours de 6,6-6,8 ppm et de 7,6-7,8 ppm attribuables aux deux protons H_a et H_b du groupement nitro-catéchol situé en extrémité de chaîne.

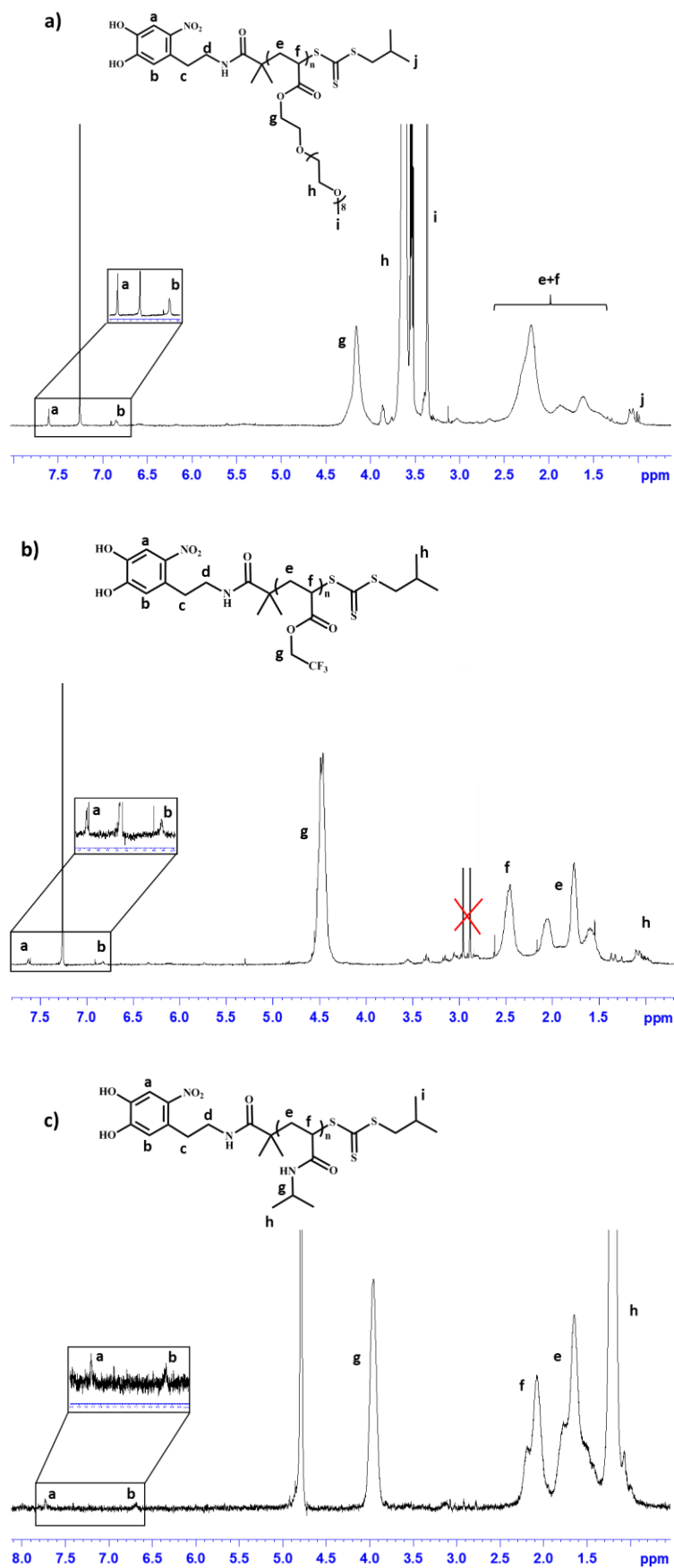


Figure III.80 : Spectres RMN ^1H des polymères CTA6-POEGA (a), CTA6-PTFEA (b) dans CDCl_3 et CTA6-PNIPAM (c) dans D_2O

Par intégration des protons H_a et H_b relatifs aux extrémités de chaîne et de ceux appartenant au squelette polymère (H_g), nous avons accès à la masse molaire Mn_{RMN}. Les valeurs obtenues ainsi que les résultats des analyses par SEC sont répertoriés dans le Tableau III.6.

Tableau III.6 : Paramètres de polymérisation, caractérisations RMN ¹H et analyses SEC des polymères élaborés à partir de l'agent de transfert **CTA6**

Polymère	[M] ₀ /[CTA] ₀ /[A] ₀	τ (%) ^a	Mn _{RMN} (g.mol ⁻¹) ^a	Mn _{SEC} (g.mol ⁻¹) ^b	Đ ^b
CTA6-POEGA	30/1/0,2	95,4	13400	6800	1,19
CTA6-PTFEA	100/1/0,2	82,1	12900	1800	1,67
CTA6-PNIPAM	100/1/0,2	91,6	10950	7000	1,23

a) Déterminés par RMN ¹H, b) Déterminés par SEC THF (POEGA et PNIPAM) et SEC toluène (PTFEA)
 τ = taux de conversion en polymère

En ce qui concerne les polymères CTA6-POEGA et CTA6-PNIPAM, les masses molaires obtenues par RMN se retrouvent une nouvelle fois supérieures à celles obtenues par chromatographie d'exclusion stérique mais restent en accord avec les masses molaires attendues et les indices de polymolécularité sont relativement faibles (Đ < 1.25). La masse molaire moyenne en nombre du polymère fluoré CTA6-PTFEA estimée par SEC présente, quant à elle, une différence relativement importante par rapport au Mn_{RMN} et une dispersité plus élevée.

Afin de confirmer la présence de l'unité nitro-catéchol au sein des polymères CTA6-POEGA, CTA6-PTFEA et CTA6-PNIPAM, nous avons dans un premier temps, exploité la signature électrochimique spécifique du motif catéchol à travers des mesures de voltampérométrie cyclique.

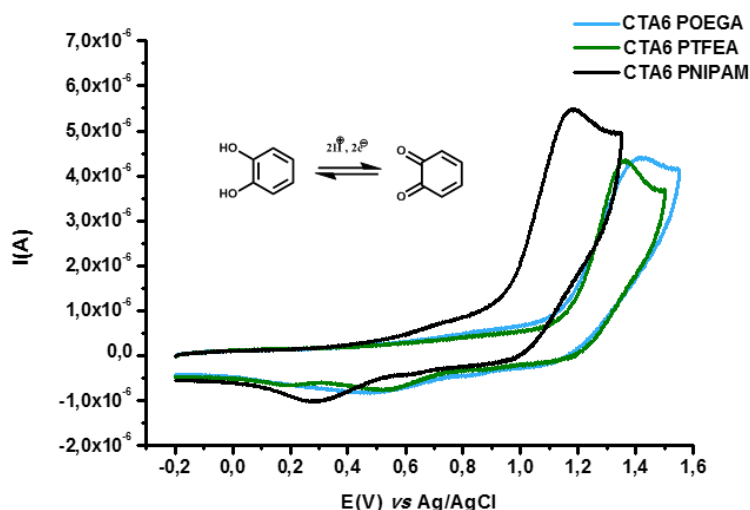


Figure III.81 : Voltampérogrammes cycliques des polymères élaborés à partir du CTA6 à une concentration de 0,1 M ;
Conditions : solution électrolyte (TBAPF₆ 0,1M) dans l'acétonitrile; électrode de carbone ; vitesse de balayage de 50 mV.s⁻¹

Les voltampérogrammes cycliques des trois polymères fonctionnalisés présentent la vague d'oxydation irréversible correspondant à l'oxydation du fragment catéchol en quinone. Nous pouvons toutefois remarquer un décalage de la vague d'oxydation vers les plus faibles potentiels dans le cas du CTA6-PNIPAM. Ce phénomène peut s'expliquer par des interactions entre la partie acrylamide de la chaîne polymère et les unités catéchols comme déjà observé avec d'autres motifs électro-actifs ⁴⁵.

Dans un second temps, nous avons voulu confirmer l'existence du groupement nitro porté par l'unité catéchol au sein de chaque polymère. Pour cela, des mesures UV-visibles ont été réalisées sur les polymères CTA6-POEGA, CTA6-PTFEA et CTA6-PNIPAM et ont permis de mettre en évidence la présence d'une bande d'absorption centrée sur 365 nm caractéristique du groupement -NO₂ (Figure III.82). Par ailleurs, cette étude a également confirmé la présence des extrémités de chaîne des polymères puisque l'on observe d'une part, une bande d'absorption centrée sur 310 nm caractéristique de la fonction trithiocarbone et d'autre part, une bande à 250 nm attribuable au cycle aromatique de la partie catéchol ⁴⁶⁻⁴⁷.

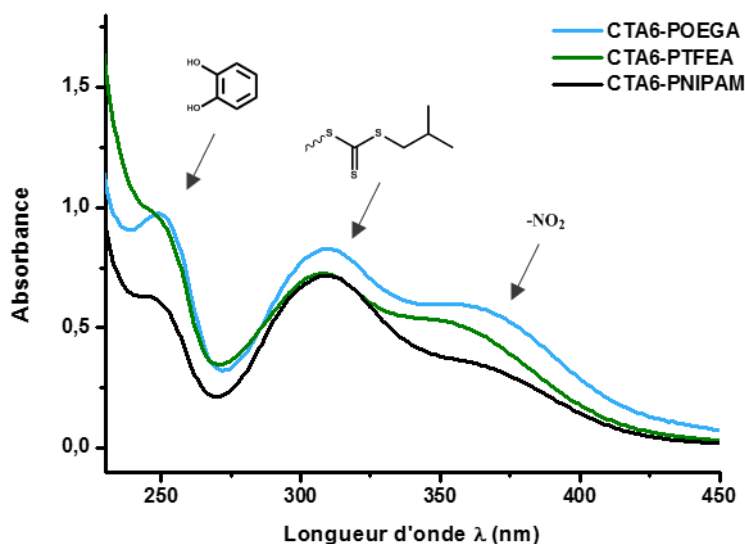


Figure III.82 : Spectres UV-visible des polymères CTA6-POEGA, CTA6-PTFEA et CTA6-PNIPAM ($10^{-4}M$) enregistrés à 20°C dans l'acétonitrile

IV.3. Polymérisation RAFT à l'aide de l'agent de transfert CTA7

Pour démontrer le rôle clé joué par le motif $-NO_2$ lors de l'irradiation sous rayonnement UV, nous nous sommes ensuite intéressés à la polymérisation de l'acrylate de 2,2,2-trifluoroéthyle en présence de l'agent de transfert **CTA7** dépourvu de groupement nitro. Ces polymères seront utilisés afin de réaliser des expériences contrôles lors de l'irradiation des surfaces par un rayonnement ultra-violet. Les conditions opératoires employées pour mener la polymérisation du monomère fluoré sont identiques à celles utilisées en présence du **CTA6** (Tableau III.6).

Après purification, le polymère a fait l'objet de caractérisations RMN 1H et d'analyses par SEC. Nous pouvons clairement observer sur le spectre RMN 1H présenté Figure III.83, la présence des signaux des protons H_e , H_f et H_g caractéristiques de la chaîne polymère situés respectivement à 1,4-2,1 ppm, 2,2-2,6 ppm et 4,2-4,6 ppm ainsi que les signaux des trois protons H_a , H_b et H_c appartenant au fragment catéchol résonnants entre 6,5 et 6,8 ppm. Par ailleurs, par intégration des signaux des protons aromatiques du motif catéchol et de ceux des protons H_g appartenant au groupement méthylène du polymère, une masse molaire moyenne en nombre $M_{n,RMN}$ égale à 9650 g.mol $^{-1}$ a été déterminée (Équation PE.5). Les analyses par SEC ont permis de déterminer une masse molaire moyenne de 2050 g.mol $^{-1}$ et un indice de polymolécularité égal à 1,42.

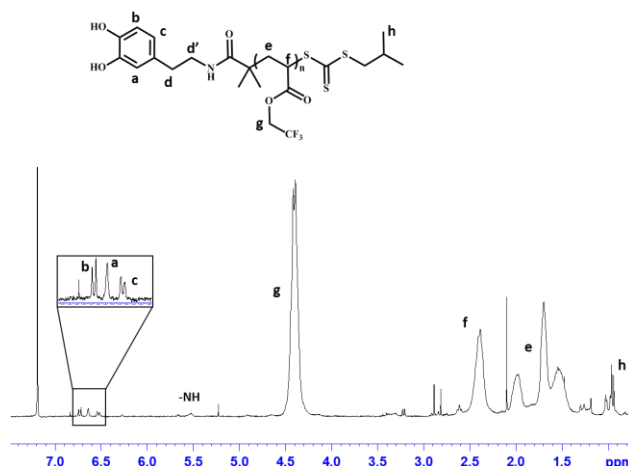


Figure III.83 : Spectre RMN ^1H du polymère CTA7-PTFEA dans CDCl_3

Par ailleurs, la présence de l'unité catéchol en extrémité de chaîne du polymère a été confirmée à l'aide d'une étude de voltampérométrie cyclique (Figure III.84, gauche). En effet, l'enregistrement du CV du polymère fluoré fonctionnalisé révèle l'existence d'une vague d'oxydation irréversible à 1,15 V correspondant à l'oxydation du fragment catéchol en quinone. Nous remarquons par ailleurs que l'oxydation du motif catéchol du CTA7-PTFEA s'effectue à un plus faible potentiel que celle du CTA6-PTFEA, ce qui s'explique par l'absence du groupement nitro attracteur rendant les électrons du motif catéchol du CTA7-PTFEA plus labiles et donc le catéchol plus facilement oxydable.

Enfin, une analyse du polymère CTA7-PTFEA par UV-visible a permis de s'assurer de l'absence de la bande d'absorption à 365 nm caractéristique du groupement $-\text{NO}_2$ (Figure III.84, droite).

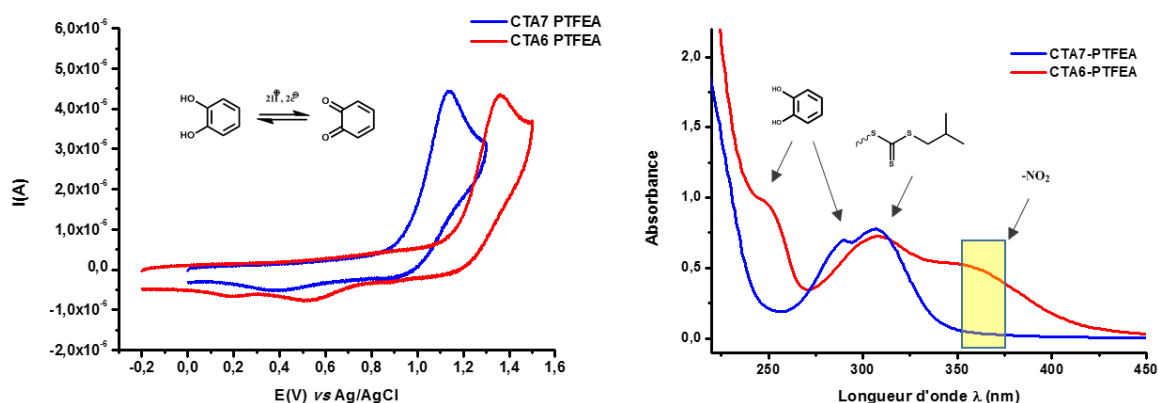


Figure III.84 : (Gauche) Superposition des CV des polymères CTA7-PTFEA et CTA6-PTFEA à une concentration de 0,1M;

Conditions : solution électrolyte (TBAPF_6 0,1M) dans ACN ; électrode de carbone ; vitesse de balayage de 50 mV.s^{-1}

(Droite) Comparaison des spectres UV-visible des polymères CTA7-PTFEA et CTA6-PTFEA (10^{-4}M) enregistrés à 20°C dans l'acétonitrile

Conclusion

Des polymères parfaitement définis de différentes natures et fonctionnalisés en extrémités de chaîne ont pu être élaborés à partir d'agents de transfert de type trithiocarbonate spécifiques, en utilisant la polymérisation radicalaire contrôlée RAFT. Cette stratégie a permis, entre autres, d'introduire des fonctions d'ancrages en extrémités de chaîne autorisant ainsi le greffage de ces polymères sur des plateformes de fonctionnalisation à base de titane.

Des polymères à base d'acrylate d'oligo (éthylène glycol), d'acrylate de 2,2,2-trifluoroéthyle et de *N*-isopropylacryamide intégrant en extrémité de chaîne un motif furane ou maléimide ont ainsi été synthétisés dans l'objectif de les immobiliser sur les plateformes Ti-DF et Ti-DM par l'intermédiaire de la réaction réversible de Diels-Alder.

Par ailleurs, un PNIPAM intégrant d'une part un motif électro-actif de type ferrocène et d'autre part une fonction réactive de type thiol, a été élaboré afin de tester l'aptitude de ce polymère à réagir avec l'entité maléimide greffée sur les plateformes Ti-DM par l'intermédiaire de la réaction de thiol-ène.

Enfin, des polymères à base d'acrylate d'oligo (éthylène glycol), d'acrylate de 2,2,2-trifluoroéthyle et de *N*-isopropylacryamide intégrant en extrémité de chaîne un motif nitro-catéchol ont été synthétisés pour opérer la fonctionnalisation de matériaux selon la stratégie « graft to ». Cette stratégie permet d'une part de moduler les propriétés physico-chimiques de surfaces telle que la mouillabilité et d'autre part de modifier ces propriétés sur demande par utilisation d'un stimulus externe tel que le rayonnement ultra-violet.

Les différentes stratégies de fonctionnalisation des plateformes à base de titane évoquées ci-dessus employant l'arsenal des polymères fonctionnels parfaitement définis synthétisés dans cette partie, sont présentées dans le chapitre suivant.

Références bibliographiques

1. Szwarc, M., "Living" Polymers. *Nature* **1956**, 178 (4543), 1168-1169.
2. Higashimura, T.; Kishiro, O., Possible Formation of Living Polymers of p-Methoxystyrene by Iodine. *Polym J* **1977**, 9 (1), 87-93.
3. Takeuchi, D.; Inoue, A.; Ishimaru, F.; Osakada, K., Living Ring-Opening Polymerization of 2-Alkoxy-1-methylenecyclopropanes Initiated by Pd Complexes. *Macromolecules* **2008**, 41 (17), 6339-6346.
4. Hilf, S.; Kilbinger, A. F. M., Functional end groups for polymers prepared using ring-opening metathesis polymerization. *Nat Chem* **2009**, 1 (7), 537-546.
5. Braunecker, W. A.; Matyjaszewski, K., Controlled/living radical polymerization: Features, developments, and perspectives. *Progress in Polymer Science* **2007**, 32 (1), 93-146.
6. Matyjaszewski, K., Controlled/Living Radical Polymerization, Progress in ATRP, NMP and RAFT. Matyjaszewski, K., Ed. ACS Symposium Series: 2000; Vol. 768.
7. Moad, G.; Rizzardo, E.; Solomon, D. H., Selectivity of the reaction of free radicals with styrene. *Macromolecules* **1982**, 15 (3), 909-914.
8. Wang, J.-S.; Matyjaszewski, K., Controlled/"living" radical polymerization. atom transfer radical polymerization in the presence of transition-metal complexes. *Journal of the American Chemical Society* **1995**, 117 (20), 5614-5615.
9. Kato, M.; Kamigaito, M.; Sawamoto, M.; Higashimura, T., Polymerization of Methyl Methacrylate with the Carbon Tetrachloride/Dichlorotris-(triphenylphosphine)ruthenium(II)/Methylaluminum Bis(2,6-di-tert-butylphenoxide) Initiating System: Possibility of Living Radical Polymerization. *Macromolecules* **1995**, 28 (5), 1721-1723.
10. Chiefari, J.; Chong, Y. K.; Ercole, F.; Krstina, J.; Jeffery, J.; Le, T. P. T.; Mayadunne, R. T. A.; Meijs, G. F.; Moad, C. L.; Moad, G.; Rizzardo, E.; Thang, S. H., Living Free-Radical Polymerization by Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer: The RAFT Process. *Macromolecules* **1998**, 31 (16), 5559-5562.
11. Sever, M. J.; Wilker, J. J., Visible absorption spectra of metal-catecholate and metal-tironate complexes. *Dalton Transactions* **2004**, (7), 1061-1072.
12. Perrier, S.; Takolpuckdee, P., Macromolecular design via reversible addition-fragmentation chain transfer (RAFT)/xanthates (MADIX) polymerization. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2005**, 43 (22), 5347-5393.
13. Moad, G.; Rizzardo, E.; Thang, S. H., Living Radical Polymerization by the RAFT Process. *Australian Journal of Chemistry* **2005**, 58 (6), 379-410.
14. Chong, Y. K.; Krstina, J.; Le, T. P. T.; Moad, G.; Postma, A.; Rizzardo, E.; Thang, S. H., Thiocarbonylthio Compounds [SC(Ph)S-R] in Free Radical Polymerization with Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer (RAFT Polymerization). Role of the Free-Radical Leaving Group (R). *Macromolecules* **2003**, 36 (7), 2256-2272.
15. Chiefari, J.; Mayadunne, R. T. A.; Moad, C. L.; Moad, G.; Rizzardo, E.; Postma, A.; Thang, S. H., Thiocarbonylthio Compounds (SC(Z)S-R) in Free Radical Polymerization with Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer (RAFT Polymerization). Effect of the Activating Group Z. *Macromolecules* **2003**, 36 (7), 2273-2283.
16. Lowe, A. B.; McCormick, C. L., Reversible addition-fragmentation chain transfer (RAFT) radical polymerization and the synthesis of water-soluble (co)polymers under homogeneous conditions in organic and aqueous media. *Progress in Polymer Science* **2007**, 32 (3), 283-351.
17. Moad, G.; Rizzardo, E.; Thang, S. H., Radical addition-fragmentation chemistry in polymer synthesis. *Polymer* **2008**, 49 (5), 1079-1131.
18. Zobrist, C.; Sobocinski, J.; Lyskawa, J.; Fournier, D.; Miri, V.; Traisnel, M.; Jimenez, M.; Woisel, P., Functionalization of Titanium Surfaces with Polymer Brushes Prepared from a Biomimetic RAFT Agent. *Macromolecules* **2011**, 44 (15), 5883-5892.

19. Lima, V.; Jiang, X.; Brokken-Zijp, J.; Schoenmakers, P. J.; Klumperman, B.; Van Der Linde, R., Synthesis and characterization of telechelic polymethacrylates via RAFT polymerization. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2005**, 43 (5), 959-973.
20. Willcock, H.; O'Reilly, R. K., End group removal and modification of RAFT polymers. *Polymer Chemistry* **2010**, 1 (2), 149-157.
21. Buyukserin, F.; Camli, S. T.; Yavuz, M. S.; Budak, G. G., Novel antifouling oligo(ethylene glycol) methacrylate particles via surfactant-free emulsion polymerization. *Journal of Colloid and Interface Science* **2011**, 355 (1), 76-80.
22. Lutz, J.-F., Thermo-Switchable Materials Prepared Using the OEGMA-Platform. *Advanced Materials* **2011**, 23 (19), 2237-2243.
23. Lutz, J.-F., Polymerization of oligo(ethylene glycol) (meth)acrylates: Toward new generations of smart biocompatible materials. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2008**, 46 (11), 3459-3470.
24. Ceretta, F.; Zaggia, A.; Conte, L.; Ameduri, B., Conventional radical polymerization and iodine-transfer polymerization of 4'-nonafluorobutyl styrene: Surface and thermal characterizations of the resulting poly(fluorostyrene)s. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2013**, 51 (15), 3202-3212.
25. Zhou, J.; Zhang, L.; Ma, J., Fluorinated polyacrylate emulsifier-free emulsion mediated by poly(acrylic acid)-b-poly(hexafluorobutyl acrylate) trithiocarbonate via ab initio RAFT emulsion polymerization. *Chemical Engineering Journal* **2013**, 223 (0), 8-17.
26. Wang, J.; Zeng, X.-R.; Li, H.-Q., Preparation and characterization of soap-free fluorine-containing acrylate latex. *J Coat Technol Res* **2010**, 7 (4), 469-476.
27. Du, L.; Kelly, J. Y.; Roberts, G. W.; DeSimone, J. M., Fluoropolymer synthesis in supercritical carbon dioxide. *The Journal of Supercritical Fluids* **2009**, 47 (3), 447-457.
28. Le, D. V.; Kendrick, M. M.; O'Rear, E. A., Admicellar Polymerization and Characterization of Thin Poly(2,2,2-trifluoroethyl acrylate) Film on Aluminum Alloys for In-Crevice Corrosion Control. *Langmuir* **2004**, 20 (18), 7802-7810.
29. Ishida, N.; Biggs, S., Effect of Grafting Density on Phase Transition Behavior for Poly(N-isopropylacrylamide) Brushes in Aqueous Solutions Studied by AFM and QCM-D. *Macromolecules* **2010**, 43 (17), 7269-7276.
30. Chhabra, A.; Kanapuram, R. R.; Kim, T. J.; Geng, J.; da Silva, A. K.; Bielawski, C. W.; Hidrovo, C. H., Humidity Effects on the Wetting Characteristics of Poly(N-isopropylacrylamide) during a Lower Critical Solution Transition. *Langmuir* **2013**, 29 (25), 8116-8124.
31. Zhao, T.; Chen, H.; Zheng, J.; Yu, Q.; Wu, Z.; Yuan, L., Inhibition of protein adsorption and cell adhesion on PNIPAAm-grafted polyurethane surface: Effect of graft molecular weight. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2011**, 85 (1), 26-31.
32. Akiyama, Y.; Kikuchi, A.; Yamato, M.; Okano, T., Ultrathin Poly(N-isopropylacrylamide) Grafted Layer on Polystyrene Surfaces for Cell Adhesion/Detachment Control. *Langmuir* **2004**, 20 (13), 5506-5511.
33. Yu, Q.; Cho, J.; Shivapooja, P.; Ista, L. K.; López, G. P., Nanopatterned Smart Polymer Surfaces for Controlled Attachment, Killing, and Release of Bacteria. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2013**, 5 (19), 9295-9304.
34. Heredia, K. L.; Grover, G. N.; Tao, L.; Maynard, H. D., Synthesis of Heterotelechelic Polymers for Conjugation of Two Different Proteins. *Macromolecules* **2009**, 42 (7), 2360-2367.
35. Neubert, B. J.; Snider, B. B., Synthesis of (±)-Phloeodictine A1. *Organic Letters* **2003**, 5 (5), 765-768.
36. Sánchez, A.; Pedroso, E.; Grandas, A., Maleimide-Dimethylfuran exo Adducts: Effective Maleimide Protection in the Synthesis of Oligonucleotide Conjugates. *Organic Letters* **2011**, 13 (16), 4364-4367.
37. Heath, W. H.; Palmieri, F.; Adams, J. R.; Long, B. K.; Chute, J.; Holcombe, T. W.; Zieren, S.; Truitt, M. J.; White, J. L.; Willson, C. G., Degradable Cross-Linkers and Strippable Imaging Materials for Step-and-Flash Imprint Lithography. *Macromolecules* **2008**, 41 (3), 719-726.

38. Merino, E. G.; Atlas, S.; Raihane, M.; Belfkira, A.; Lahcini, M.; Hult, A.; Dionísio, M.; Correia, N. T., Molecular dynamics of poly(ATRIF) homopolymer and poly(AN-co-ATRIF) copolymer investigated by dielectric relaxation spectroscopy. *European Polymer Journal* **2011**, 47 (7), 1429-1446.
39. www.sigmaAldrich.com/catalog (Cas n° 109-99-9)
40. Bays, E.; Tao, L.; Chang, C.-W.; Maynard, H. D., Synthesis of Semitelechelic Maleimide Poly(PEGA) for Protein Conjugation By RAFT Polymerization. *Biomacromolecules* **2009**, 10 (7), 1777-1781.
41. Patwa, A. N.; Gupta, S.; Gonnade, R. G.; Kumar, V. A.; Bhadbhade, M. M.; Ganesh, K. N., Ferrocene-Linked Thymine/Uracil Conjugates: Base Pairing Directed Self-Assembly and Supramolecular Packing. *The Journal of Organic Chemistry* **2008**, 73 (4), 1508-1515.
42. Qiu, X.-P.; Winnik, F. M., Synthesis of α,ω -Dimercapto Poly(N-isopropylacrylamides) by RAFT Polymerization with a Hydrophilic Difunctional Chain Transfer Agent. *Macromolecules* **2007**, 40 (4), 872-878.
43. Burns, J. A.; Butler, J. C.; Moran, J.; Whitesides, G. M., Selective reduction of disulfides by tris(2-carboxyethyl)phosphine. *The Journal of Organic Chemistry* **1991**, 56 (8), 2648-2650.
44. Li, H.; Wei, Q.; Wang, G.; Yang, M.; Qu, F.; Qian, Z., Sensitive electrochemical immunosensor for cancer biomarker with signal enhancement based on nitrodopamine-functionalized iron oxide nanoparticles. *Biosensors and Bioelectronics* **2011**, 26 (6), 3044-3049.
45. Bigot, J.; Charleux, B.; Cooke, G.; Delattre, F. o.; Fournier, D.; Lyskawa, J.; Stoffelbach, F. o.; Woisel, P., Synthesis and Properties of Tetrathiafulvalene End-Functionalized Polymers Prepared via RAFT Polymerization. *Macromolecules* **2009**, 43 (1), 82-90.
46. Park, J. Y.; Kim, J. S.; Nam, Y. S., Mussel-inspired modification of dextran for protein-resistant coatings of titanium oxide. *Carbohydrate Polymers* **2013**, 97 (2), 753-757.
47. Charlot, A.; Sciannamea, V.; Lenoir, S.; Faure, E.; Jerome, R.; Jerome, C.; Van De Weerd, C.; Martial, J.; Archambeau, C.; Willet, N.; Duwez, A.-S.; Fustin, C.-A.; Detrembleur, C., All-in-one strategy for the fabrication of antimicrobial biomimetic films on stainless steel. *Journal of Materials Chemistry* **2009**, 19 (24), 4117-4125.

CHAPITRE 4 : Immobilisation de polymères fonctionnels pour l'élaboration de matériaux stimulables

Table des Matières

Introduction	129
 I. Immobilisation de polymères fonctionnalisés en extrémité de chaîne sur les plateformes Ti-DF et Ti-DM pour l'élaboration de surfaces thermo-stimulables	129
I.1. Immobilisation des polymères et caractérisations des plateformes Ti-DF et Ti-DM post-fonctionnalisées.....	130
I.1.1. Immobilisation des polymères élaborés à partir des CTA4' et CTA3 sur les plateformes Ti-DF et Ti-DM.....	130
I.1.2. Caractérisations des plateformes post-fonctionnalisées.....	131
I.1.3. Etude des propriétés physico-chimiques de surface	135
I.2. Etude du recyclage des plateformes Ti-DF et Ti-DM fonctionnalisées.....	136
I.2.1. Détachement des polymères fluorés immobilisés sur les plateformes Ti-DF et Ti-DM par rDA.....	136
I.2.2. Modification des propriétés physico-chimiques de surface : permutation de la balance hydrophile/hydrophobe	139
 II. Exploitation des plateformes à base de Dopamine-Maléimide pour l'immobilisation d'un polymère fonctionnel <i>via</i> la réaction de thiol-ène.....	142
II.1. Immobilisation de polymères sur une plateforme Ti-DM par réaction de thiol-ène	142
II.1.1. Preuve du concept : fonctionnalisation de la plateforme Ti-DM par une sonde électrochimique.....	143
II.1.2. Immobilisation du polymère CTA5'-PNIPAM et caractérisation des plateformes Ti-DM post-fonctionnalisées par XPS et CV	148
II.1.3. Etude de la morphologie des revêtements par Microscopie à Force Atomique (AFM).....	150
 III. Immobilisation de polymères fonctionnalisés par un groupement nitro-catéchol pour l'élaboration de surfaces photosensibles	152
III.1. Les dérivés du nitrobenzène pour l'élaboration de surfaces photosensibles	152
III.1.1. Les dérivés o-nitrobenzène	152
III.1.2. Les nitro-catéchols	153

III.2. Immobilisation des polymères préparés à partir du CTA6 sur le titane et caractérisations des surfaces fonctionnalisées	154
III.2.1. Identification du fragment catéchol par électrochimie	154
III.2.2. Analyses des surfaces par IR/ATR et par XPS	156
III.2.3. Etude de l'influence du greffage sur les propriétés physico-chimiques de surface	158
III.3. Stimulation des plateformes par irradiation UV	159
III.3.1. Etude de l'influence de l'irradiation en solution	160
III.3.2. Preuve du concept : étude de l'effet de l'irradiation sur la mouillabilité d'une surface d'ITO fonctionnalisée par un polymère fluoré intégrant en extrémité de chaîne un motif nitro-catéchol	161
Conclusion	165
Références bibliographiques	166

Introduction

L'objectif de ce chapitre consiste à évaluer le potentiel des polymères fonctionnalisés élaborés dans le chapitre précédent pour la fonctionnalisation de substrats à base de titane. Il s'agira plus particulièrement de façonner des matériaux stimulables dont les propriétés physico-chimiques de surface (balance hydrophile/hydrophobe) peuvent être contrôlées par utilisation de la température ou du rayonnement ultra-violet. Ainsi, dans un premier temps, nous développerons le concept utilisé précédemment pour l'immobilisation des polymères parfaitement définis en vue de concevoir des plateformes de titane thermo-stimulables. Nous exploiterons ensuite la réactivité du groupement maléimide dans l'objectif d'immobiliser sur la plateforme Ti-DM un polymère thermosensible fonctionnalisé en extrémité de chaîne par une fonction thiol. Enfin, dans une dernière partie, la stratégie « graft to » sera employée afin de fonctionnaliser des substrats, à base de titane ou d'ITO, par des polymères incorporant l'ancre nitro-catéchol en extrémité de chaîne. L'influence du rayonnement ultra-violet sur les propriétés physico-chimiques de surface du matériau sera étudiée. Nous présenterons également tout au long de ce chapitre, les différentes études physico-chimiques effectuées pour caractériser les surfaces fonctionnalisées (ATR, XPS, électrochimie), pour examiner la morphologie des films greffés (AFM) et pour évaluer la balance hydrophile/hydrophobe des substrats (angle de contact).

I. Immobilisation de polymères fonctionnalisés en extrémité de chaîne sur les plateformes Ti-DF et Ti-DM pour l'élaboration de surfaces thermo-stimulables

La première stratégie exposée dans ce chapitre vise à exploiter la versatilité des ancres à base de dopamine et la thermo-réversibilité de la réaction de Diels-Alder. L'objectif consiste à développer le concept utilisé dans le chapitre 2 afin d'immobiliser sur les plateformes Ti-DF et Ti-DM, des polymères parfaitement définis fonctionnalisés en extrémité de chaîne par un motif furane ou maléimide. Il s'agira plus particulièrement d'élaborer des plateformes de titane thermo-stimulables aux propriétés physico-chimiques modulables par le choix de la nature du polymère (Figure IV.85).

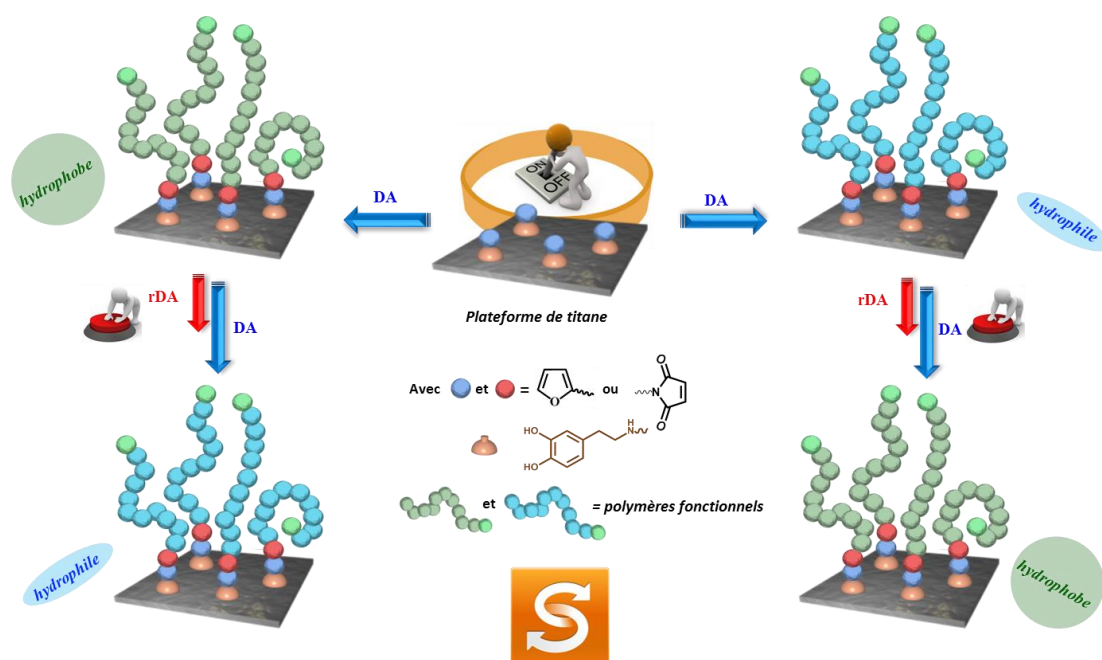


Figure IV.85 : Illustration de la stratégie permettant l'élaboration de plateformes de titane thermo-stimulables par immobilisation de polymères fonctionnels

I.1. Immobilisation des polymères et caractérisations des plateformes Ti-DF et Ti-DM post-fonctionnalisées

I.1.1. Immobilisation des polymères élaborés à partir des CTA4' et CTA3 sur les plateformes Ti-DF et Ti-DM

Dans un premier temps, les plateformes Ti-DF et Ti-DM, décrites dans le chapitre 2, ont été soumises à une réaction de Diels-Alder en présence des polymères élaborés à partir des agents de transfert **CTA4'** et **CTA3** respectivement et dont les caractéristiques sont rappelées dans le Tableau IV.7.

Tableau IV.7 : Récapitulatif des caractéristiques des polymères engagés dans la réaction de DA sur les plateformes Ti-DF et Ti-DM

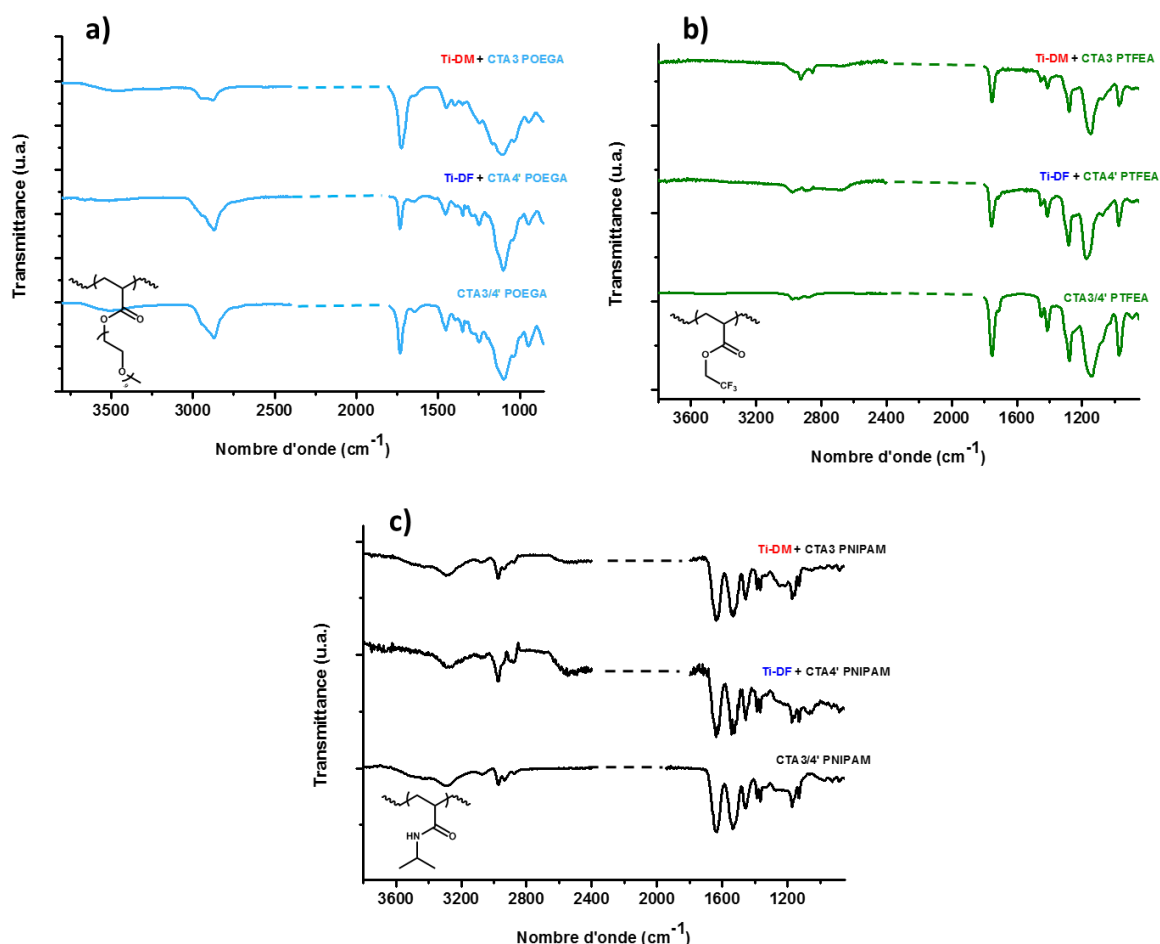
Extrémité de chaîne	Dénomination polymère	Mn _{RMN} (g.mol ⁻¹) ^a	Mn _{SEC} (g.mol ⁻¹) ^b	Đ ^b
Furane	CTA3-POEGA	15050	6650	1,22
	CTA3-PTFEA	11250	3600	1,18
	CTA3-PNIPAM	12900	7500	1,18
Maléimide	CTA4'-POEGA	16700	7160	1,22
	CTA4'-PTFEA	11200	2450	1,22
	CTA4'-PNIPAM	18200	12060	1,37

a) Déterminées par RMN ¹H, b) Déterminés par SEC THF (POEGA et PNIPAM) et SEC toluène (PTFEA)

Comme précédemment, la réaction de cycloaddition est réalisée par imprégnation des plateformes de titane fonctionnalisées dans une solution concentrée de chaque polymère, pendant une semaine à 60°C. Après post-fonctionnalisation des plateformes, les échantillons sont abondamment rincés puis sont séchés sous flux d'azote avant d'être caractérisés.

1.1.2. Caractérisations des plateformes post-fonctionnalisées

Afin de confirmer l'immobilisation des polymères fonctionnalisés sur les plateformes de titane *via* la réaction de cycloaddition [4+2] de Diels-Alder, les surfaces ont tout d'abord été caractérisées par infrarouge par Réflexion Totale Atténuée (ATR). Les spectres IR/ATR des surfaces fonctionnalisées ainsi que ceux des polymères ayant servi au greffage sont répertoriés dans la Figure IV.86.



Les spectres IR/ATR des plateformes de titane fonctionnalisées par le POEGA (Figure IV.86, a) montrent clairement la présence de bandes d'absorption caractéristiques situées à 1730 cm^{-1} et 1100 cm^{-1} correspondant aux vibrations d'élongations des liaisons C=O et C-O respectivement que l'on retrouve dans le spectre IR du squelette polymère. Nous pouvons également remarquer des bandes de vibration situées à 2870 cm^{-1} caractéristiques des liaisons C-H présentes sur le squelette et la chaîne latérale du polymère.

Concernant les plateformes modifiées à l'aide du poly acrylate fluoré (Figure IV.86, b), nous pouvons noter, de la même manière, des bandes de vibrations à 1750 cm^{-1} et 1140 cm^{-1} caractéristiques du groupement carbonyle ($\nu_{\text{C=O}}$ et $\nu_{\text{C-O}}$). De plus, une bande d'absorption située à $\nu = 1280\text{ cm}^{-1}$ correspondant à l'élongation des liaisons C-F du polymère fluoré est également clairement identifiable ¹⁻².

Enfin, les spectres ATR (Figure IV.86 c) des surfaces fonctionnalisées par le PNIPAM, attestent la présence du polymère dans la mesure où des bandes de vibrations caractéristiques des liaisons des fonctions amides du PNIPAM sont observées ($\nu_{\text{N-H}} = 3300\text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{C=O}} = 1640\text{ cm}^{-1}$ et $\delta_{\text{N-H}} = 1530\text{ cm}^{-1}$).

L'ensemble des plateformes fonctionnalisées ont également fait l'objet de caractérisations XPS (Figure IV.87). Les compositions atomiques de surface associées sont résumées dans le Tableau IV.8.

Tableau IV.8 : Quantifications atomiques obtenues sur les plateformes de titane fonctionnalisées par les ancres catéchols et post-fonctionnalisées par les polymères modifiés en extrémité de chaîne (valeurs exprimées en %)

	Ti 2p	O 1s	C 1s	N 1s	F 1s	S 2p	Zn 2p3
<i>Ti</i>	24.95	54.03	19.92	0.89			0.20
<i>Ti Dopamine Furane (Ti-DF)</i>	16.51	40.99	39.97	2.02			0.49
<i>Ti-DF+ CTA4'-POEGA</i>	5.93	39.63	48.59	3.0		2.82	0.03
<i>Ti-DF+ CTA4'-PTFEA</i>	4.51	25.43	48.65	1.03	20.02	0.24	0.04
<i>Ti-DF+ CTA4'-PNIPAM</i>	6.54	24.66	58.93	8.98		0.78	
<i>Ti Dopamine Maleimide (Ti-DM)</i>	12.10	34.74	49.88	2.89			0.36
<i>Ti-DM+ CTA3-POEGA</i>	8.35	36.45	50.94	2.68		1.52	0.07
<i>Ti-DM+ CTA3-PTFEA</i>	5.58	25.32	50.01	1.59	16.99	0.2	0.06
<i>Ti-DM+ CTA3-PNIPAM</i>	3.51	17.62	68.23	10.13		0.43	

De manière générale, nous observons sur chaque plateforme de titane post-fonctionnalisée, une diminution significative des signaux du titane Ti 2p à 458,6 eV ainsi qu'une augmentation de la composante relative au carbone C 1s située aux alentours de 285 eV, en accord avec l'immobilisation des polymères sur les substrats de titane. De plus, la présence de soufre S 2p est logiquement détectée sur les plateformes après fonctionnalisation et provient des groupements trithiocarbonates présents en extrémité de chaîne des polymères.

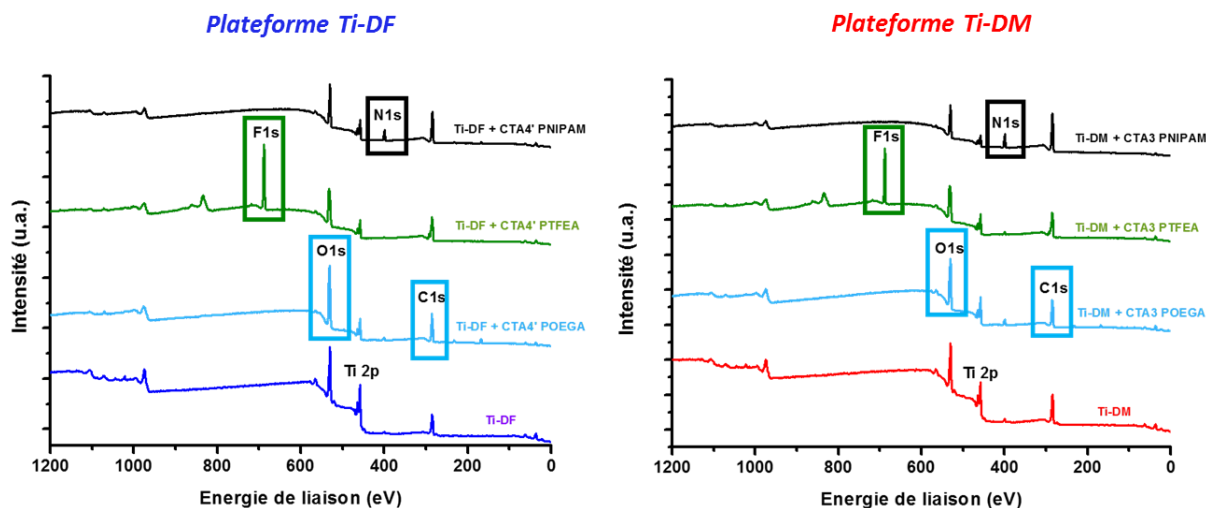


Figure IV.87 : Spectres XPS des plateformes Ti-DF (gauche) et Ti-DM (droite) fonctionnalisées par les polymères préparés à partir des agents de transfert **CTA4'** et **CTA3**

Des changements importants dans la composition chimique de surface sont observés en fonction de la nature du polymère greffé lors de la réaction de DA:

- En effet, en ce qui concerne le POEGA, on observe principalement sur la surface modifiée, la présence d'oxygène O 1s à 530 eV et de carbone C 1s à 285 eV provenant des longues chaînes latérales de poly (éthylène glycol).
- Par ailleurs, un signal important de fluor F 1s situé à 689 eV est observé sur les plateformes après réaction des surfaces avec le polymère fluoré.
- Enfin, on distingue une augmentation importante des signaux relatifs à l'azote N 1s situé à 400 eV et au carbone C 1s présent à 285 eV après immobilisation des chaînes PNIPAM sur les substrats à base de titane.

Les analyses XPS permettent également d'évaluer l'épaisseur des films polymères immobilisés sur ces plateformes en mesurant l'intensité des signaux du niveau de cœur du titane Ti 2p avant (I_0) et après post-fonctionnalisation (I). En effet, en utilisant l'Équation IV.2, où θ représente l'angle d'incidence des rayons X par rapport à la surface (90 degrés dans notre cas) et λ le libre parcours moyen des photoélectrons ($\lambda_{Ti2p} = 32 \text{ \AA}$)³, des films polymères de quelques nanomètres d'épaisseur ont pu être estimés (entre 1 et 2 nm).

$$\frac{I}{I_0} = e^{\left(-\frac{d}{\lambda \sin \theta}\right)}$$

I : Intensité du signal après post-fonctionnalisation des plateformes

I_0 : Intensité du signal des plateformes Ti-DF et Ti-DM

d : épaisseur du film formé

λ : libre parcours moyen des photoélectrons

θ : angle d'incidence des rayons X

Équation IV.2 : Formule employée pour la détermination par XPS de l'épaisseur des films polymères

1.1.3. Etude des propriétés physico-chimiques de surface

Comme nous l'avons vu dans le chapitre 2, l'immobilisation de (macro)molécules sur les plateformes de titane a une influence sur les propriétés physico-chimiques de surface et notamment sur la balance hydrophile/hydrophobe du matériau. Par conséquent, nous avons étudié l'impact du greffage des polymères sur la mouillabilité des plateformes Ti-DF et Ti-DM par des mesures d'angles de contact (eau) (Figure IV.88).

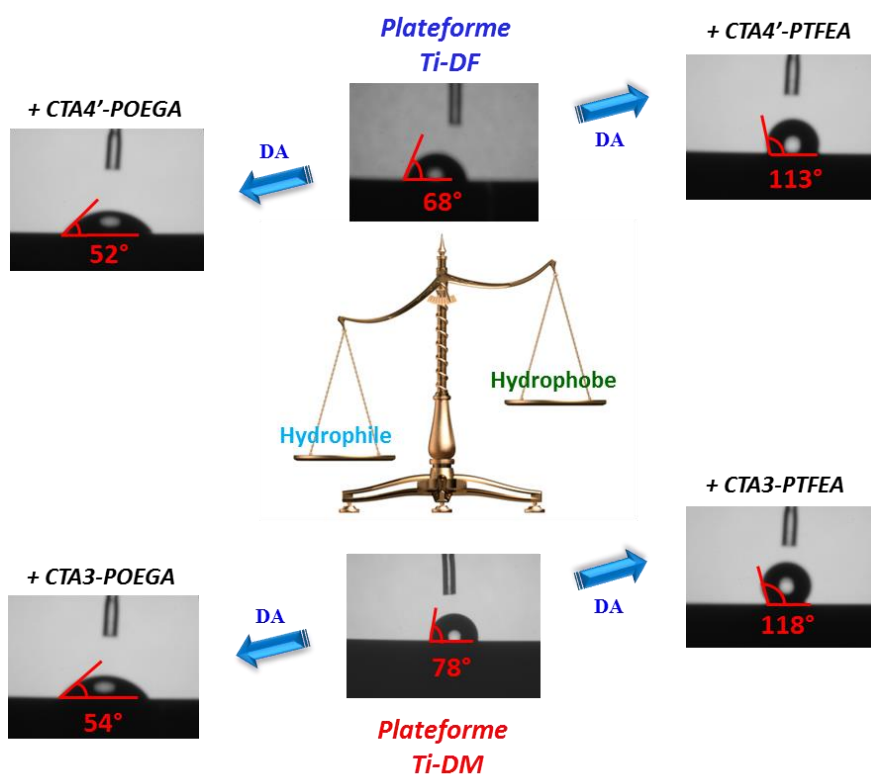


Figure IV.88 : Illustration présentant les mesures d'angles de contact (eau) réalisées sur les plateformes Ti-DF et Ti-DM fonctionnalisées par les polymères CTA4'/CTA3-POEGA et CTA4'/CTA3-PTFEA

Comme attendu, le caractère hydrophobe des deux plateformes de titane augmente de manière importante après l'immobilisation des polymères fluorés. En effet, après la réaction de cycloaddition, les valeurs d'angles de contact passent de 68° à 113° et de 78° à 118° pour les plateformes Ti-DF et Ti-DM respectivement. Ces valeurs sont légèrement plus importantes que celles obtenues dans le cadre de l'immobilisation du Zonyl ($\approx 100^\circ$, voir chapitre 2) et sont en adéquation avec les valeurs obtenues dans la littérature dans le cadre de l'immobilisation de (macro)molécules fluorées sur des substrats en titane ⁴⁻⁵. Les réactions de Diels-Alder réalisées sur les plateformes en présence des polyacrylates d'oligo (éthylène glycol) fonctionnalisés en extrémité de chaîne ont, quant à elles, permis d'obtenir des surfaces à caractère beaucoup plus hydrophile (52° et 54° après fonctionnalisation de Ti-DF et Ti-DM respectivement) ⁶. Enfin, des valeurs d'angles de contact de 70° ont été obtenues après immobilisation des PNIPAM modifiés. Ces valeurs sont en accord avec la littérature ⁷ mais restent trop proches de celles des plateformes Ti-DF et Ti-DM pour être exploitables.

En conclusion, l'immobilisation de polymères parfaitement définis fonctionnalisés en extrémité de chaîne par le motif furane ou maléimide sur les plateformes de titane, par réaction de Diels-Alder, a été réalisée avec succès. En fonction de la nature du polymère engagé dans la fonctionnalisation, une modification notable des propriétés physico-chimiques de surface, ici la balance hydrophile/hydrophobe, est observée.

I.2. Etude du recyclage des plateformes Ti-DF et Ti-DM fonctionnalisées

I.2.1. Détachement des polymères fluorés immobilisés sur les plateformes Ti-DF et Ti-DM par rDA

Selon le principe évoqué dans le chapitre 2, nous avons étudié le potentiel des plateformes fonctionnalisées par les polymères à être recyclées thermiquement par rétro Diels-Alder. Afin de pouvoir suivre facilement l'effet de la rDA sur les substrats modifiés par des analyses XPS et des mesures d'angle de contact, nous avons choisi de réaliser la réaction sur les plateformes fonctionnalisées par les polymères fluorés.

Pour cela, les surfaces hydrophobes ont été immergées dans du toluène à reflux, pendant 4, 7 et 14 jours. Le processus de décrochement des polymères CTA4'/3-PTFEA des plateformes de titane a tout d'abord été suivi par des analyses XPS (Figure IV.89).

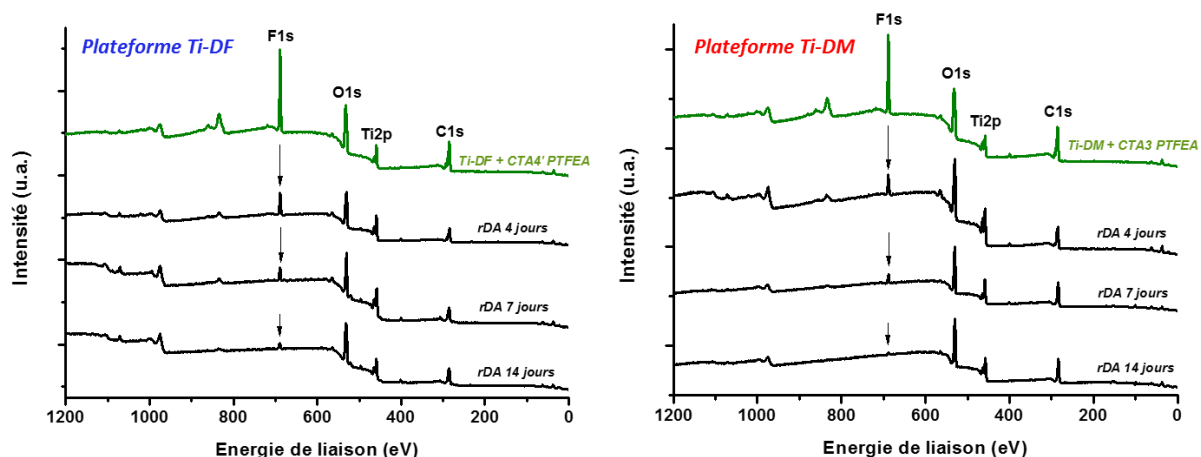


Figure IV.89 : Spectres XPS des plateformes Ti-DF (gauche) et Ti-DM (droite) fonctionnalisées par les polymères CTA4'/3-PTFEA avant (vert) et après rDA réalisées pendant 4, 7 et 14 jours (noir)

Sur les spectres XPS ci-dessus, nous pouvons distinguer très clairement pour les deux plateformes, une diminution significative du signal du fluor F 1s après 4 jours de traitement thermique. Ces observations confortent ainsi le détachement des chaînes polymères du substrat, toutefois la réaction ne semble pas totale dans la mesure où une quantité importante de fluor reste présente sur les surfaces. En effet, par intégration des aires relatives aux pics du fluor avant et après rDA, il s'avère que le rendement de la réaction n'est que de 54 % et 66 % après 4 jours de rDA pour les plateformes Ti-DF et Ti-DM respectivement. Ainsi, il s'avère plus difficile d'effectuer la réaction de rétro Diels-Alder sur les substrats de titane modifiés à l'aide des polymères fonctionnalisés que sur les plateformes étudiées précédemment (voir chapitre 2). Nous pouvons toutefois supposer que l'augmentation du temps de rDA peut potentiellement augmenter le rendement de cette réaction. Afin de vérifier cette hypothèse, ces mêmes plateformes ont subi une réaction de rDA pendant 7 et 14 jours et ont été caractérisées par des analyses XPS.

Tableau IV.9 : Quantifications atomiques obtenues sur les plateformes de titane fonctionnalisées par les polymères PTFEA avant (vert) et après réaction de rétro Diels-Alder (noir) pendant des durées de 4, 7 et 14 jours (valeurs exprimées en %)

	Ti 2p	O 1s	C 1s	N 1s	F 1s	S 2p	Zn 2p3
<i>Ti Dopamine Furane (Ti-DF)</i>	16.51	40.99	39.97	2.02			0.49
<i>Ti-DF+ CTA4'-PTFEA</i>	4.51	25.43	48.65	1.03	20.02	0.24	0.04
<i>Ti-DF+ CTA4'-PTFEA+rDA (4 jours)</i>	9,94	34,80	41,90	1,91	10,35	0,47	0,08
<i>Ti-DF+ CTA4'-PTFEA+rDA (7 jours)</i>	10,88	39,72	39,85	2,52	7,03	0	0
<i>Ti-DF+ CTA4'-PTFEA+rDA (14 jours)</i>	7,62	41,91	44,43	2,83	3,21	0	0
<i>Ti Dopamine Maleimide (Ti-DM)</i>	12.10	34.74	49.88	2.89			0.36
<i>Ti-DM+ CTA3-PTFEA</i>	5.58	25.32	50.01	1.59	16.99	0.2	0.06
<i>Ti-DM+ CTA3-PTFEA+rDA (4 jours)</i>	10,99	33,93	45,41	1,81	6,55	0,27	0,08
<i>Ti-DM+ CTA3-PTFEA+rDA (7 jours)</i>	10,31	31,87	52,14	1,36	4,32	0	0
<i>Ti-DM+ CTA3-PTFEA+rDA (14 jours)</i>	10,17	35,49	52,32	1,03	0,99	0	0

Comme attendu, après 7 jours de rDA, nous remarquons pour les deux plateformes, une diminution plus importante du signal du fluor F 1s sur les spectres XPS (Figure IV.89). Les quantifications atomiques (Tableau IV.9) mettent désormais en évidence la présence de fluor dans des proportions plus faibles (7,0 % vs 10,3 % pour Ti-DF et 4,3 % vs 6,5 % pour Ti-DM) après un traitement thermique plus long. Cette tendance se confirme après deux semaines de rDA puisque le signal du fluor F 1s a quasiment disparu sur les spectres XPS des deux plateformes ; seuls quelques résidus sont encore décelables (1 à 3 %, Tableau IV.9). Les rendements de rDA peuvent ainsi être estimés à 87 % et 97 % pour les plateformes Ti-DF et Ti-DM respectivement.

Etant donné les résultats obtenus, nous avons ainsi, pour la suite de l'étude, fixé à 14 jours la durée du traitement thermique servant à la réaction de rétro Diels-Alder.

1.2.2. Modification des propriétés physico-chimiques de surface : permutation de la balance hydrophile/hydrophobe

Bien que la rDA ne soit pas efficace à 100%, nous avons étudié la possibilité d'engager une seconde réaction de Diels-Alder (DA2) sur les plateformes recyclées en vue de leur octroyer, cette fois-ci, un caractère hydrophile. Pour préparer ces surfaces, les substrats ont été engagés dans une 2^{ème} réaction de Diels-Alder à l'aide des polymères CTA3/4'-POEGA à caractères hydrophiles. L'immobilisation des polymères sur les plateformes Ti-DF et Ti-DM après DA2 a été suivie par des mesures d'angle de contact (Figure IV.90).

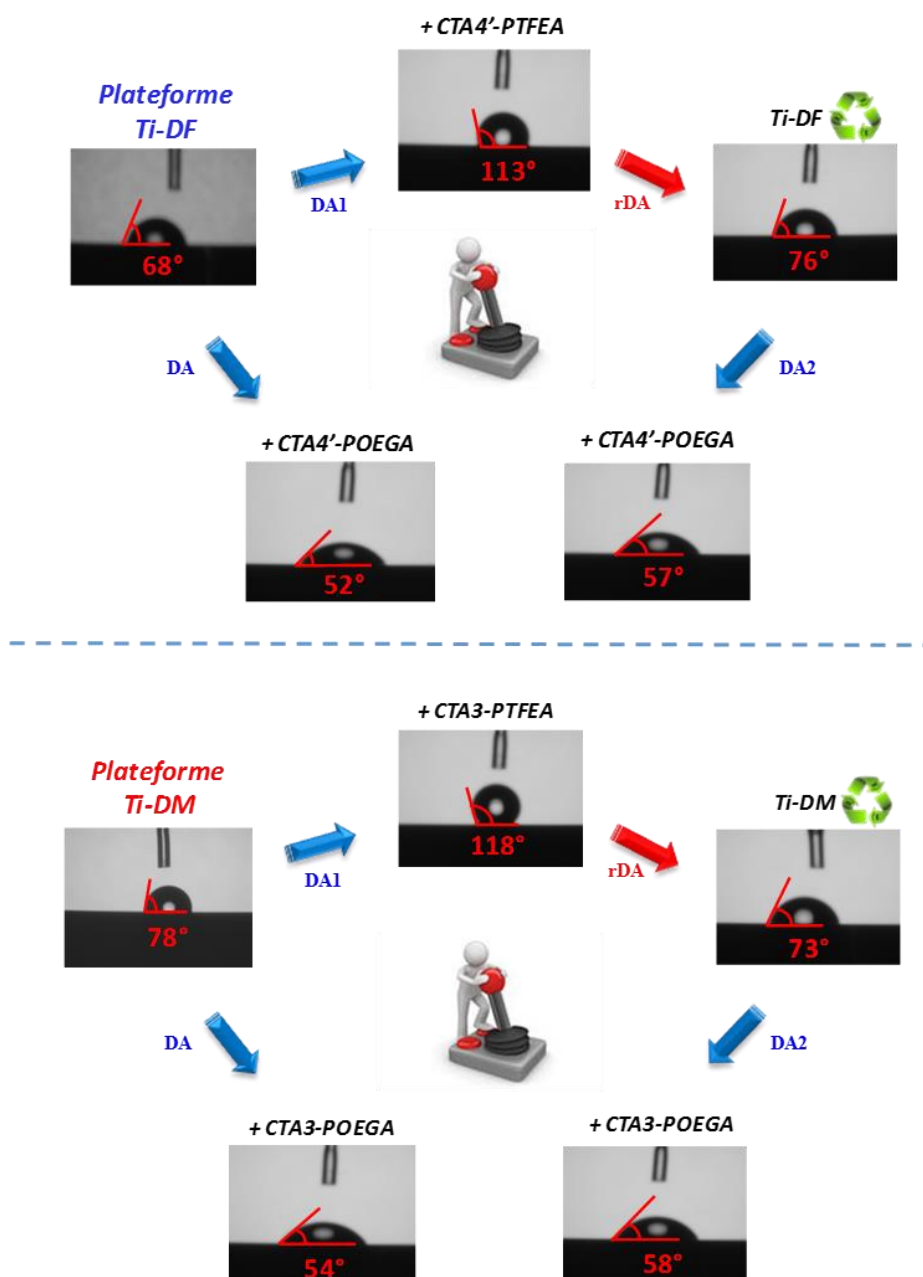


Figure IV.90 : Modulation de la mouillabilité de surface à travers la séquence DA1/rDA/DA2

Les analyses d'angle de contact montrent pour les deux plateformes :

- Une diminution du caractère hydrophobe après réaction de rDA sur les plateformes modifiées suggérant une élimination des polymères des substrats étant donné que les valeurs des angles de contact observées après rDA sont relativement proches de celles obtenues avec les plateformes Ti-DF et Ti-DM ($76^\circ \pm 3$ et $73^\circ \pm 3$ contre $68^\circ \pm 3$ et $78^\circ \pm 4$ respectivement).
- Une augmentation du caractère hydrophile après une seconde cycloaddition (DA2) réalisée avec les polymères CTA4'/3-POEGA ($57^\circ \pm 3$ et $58^\circ \pm 2$ pour Ti-DF et Ti-DM). Les résultats sont en accord avec les valeurs des angles de contact obtenues par DA1 avec ces mêmes polymères hydrophiles.

Afin de confirmer ces observations, des analyses XPS ont été effectuées sur les substrats modifiés à l'aide des chaînes polymères de poly (éthylène glycol) par DA2 (Figure IV.91).

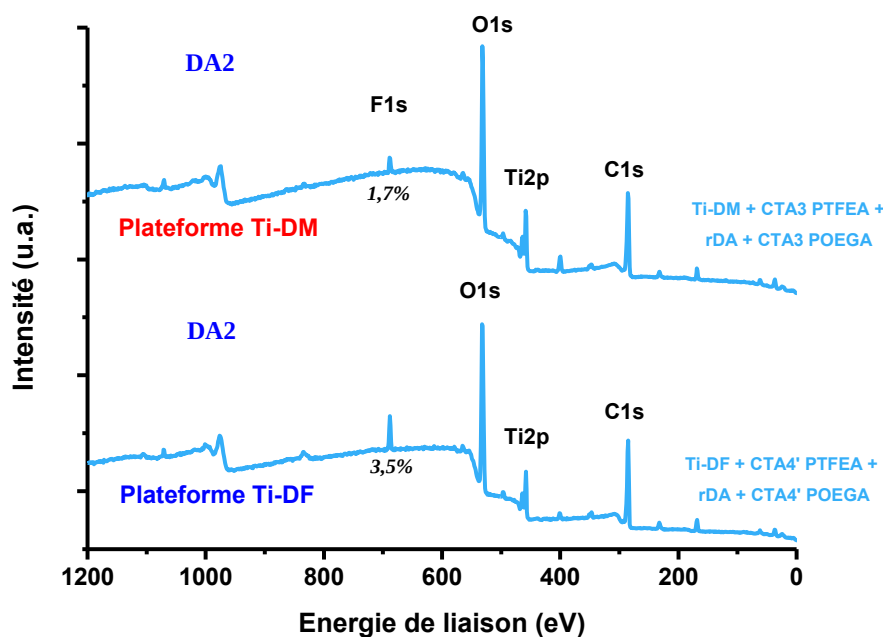


Figure IV.91 : Spectres XPS des plateformes Ti-DF et Ti-DM fonctionnalisées par les polymères CTA4'/3-POEGA après DA2

Malgré la présence de fluor résiduel, qui ne représente que 2-3% des espèces atomiques présentes en surface, nous observons principalement sur les spectres XPS des deux plateformes, la présence de carbone C 1s et d'oxygène O 1s. De plus, les déconvolutions des niveaux de cœur du carbone C 1s révèlent, dans les deux cas, la présence des composantes C-C, C-H et C-O à 284,9 eV et 286,2 eV respectivement, attribuables à la chaîne de POEGA. Il est

à noter que les composantes de cet élément se retrouvent dans des proportions identiques à celles obtenues lors d'une DA1 réalisée en présence des mêmes POEGA (Figure IV.92). Néanmoins, une composante à 293,0 eV attribuable au $-CF_3$ reste identifiable.

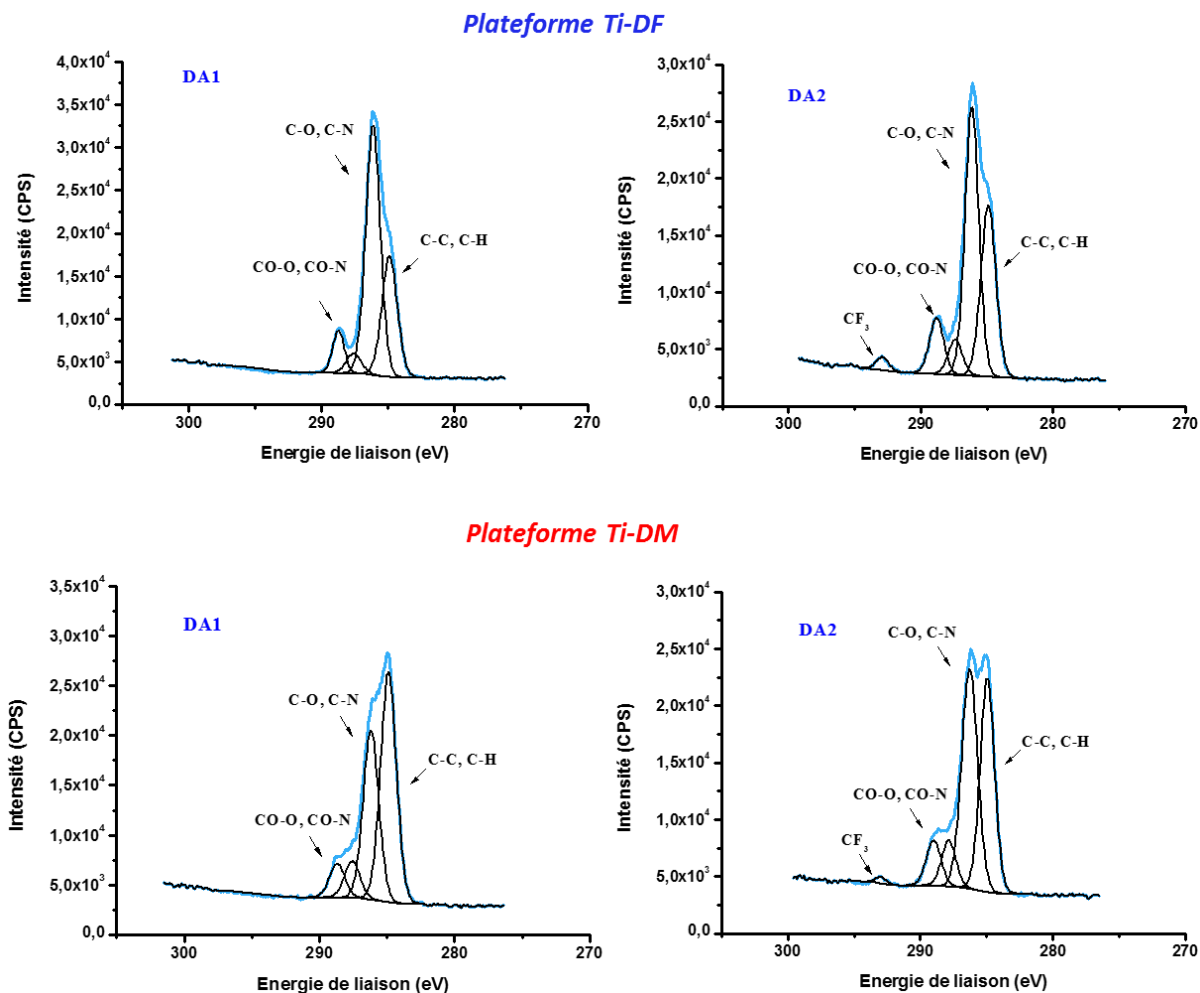


Figure IV.92 : Comparaison des spectres XPS de niveau de cœur du carbone C 1s des plateformes de titane fonctionnalisées à l'aide des polymères CTA3/4'-POEGA par DA1 et après rDA/DA2

En conclusion, comme démontré lors du chapitre 2, il s'avère possible de fonctionnaliser des plateformes de titane par greffage de polymères fonctionnels parfaitement définis en exploitant la réaction de Diels-Alder. De plus, en exploitant la thermo-réversibilité de la réaction, il est possible de moduler sur commande les propriétés de surface du matériau et plus particulièrement la balance hydrophile/hydrophobe, en choisissant judicieusement la nature du polymère.

II. Exploitation des plateformes à base de Dopamine-Maléimide pour l'immobilisation d'un polymère fonctionnel *via* la réaction de thiol-ène

La stratégie employée dans cette partie consiste à exploiter les plateformes de titane Ti-DM décrites dans le chapitre 2, afin d'immobiliser des polymères fonctionnels *via* la réaction de thiol-ène. Il s'agit plus particulièrement de greffer sur cette plateforme un polymère thermo-stimulable incorporant une fonction thiol en extrémité de chaîne. En combinant les propriétés de greffage de l'ancre catéchol avec cette chimie qualifiée de chimie « Click », il devient envisageable d'immobiliser diverses (macro)molécules en conditions douces, notamment dans l'objectif d'élaborer des matériaux stimulables.

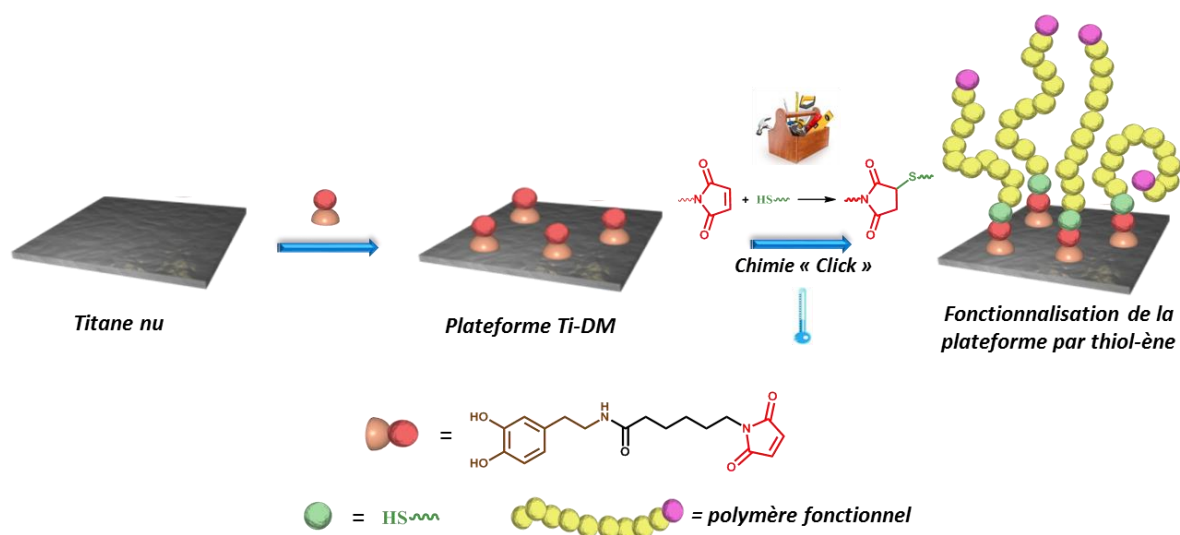


Figure IV.93 : Stratégie utilisée pour immobiliser des polymères fonctionnels sur une surface de titane

II.1. Immobilisation de polymères sur une plateforme Ti-DM par réaction de thiol-ène

Dans un premier temps, nous avons démontré le concept de fonctionnalisation par thiol-ène en immobilisant sur une plateforme Ti-DM, une sonde électrochimique de type ferrocène munie d'une fonction thiol. Nous avons ensuite étendu cette stratégie au greffage du polymère CTA5'-PNIPAM, décrit dans la partie III.3. du chapitre 3, sur cette même plateforme.

II.1.1. Preuve du concept : fonctionnalisation de la plateforme Ti-DM par une sonde électrochimique

Pour valider le concept de fonctionnalisation par réaction de thiol-ène, les plateformes Ti-DM ont été imprégnées dans une solution concentrée de 6-hexanethiol ferrocène (HS-Fc) pendant 3 jours à 60 °C. Après rinçage, les échantillons ont été caractérisés par des analyses XPS afin d'examiner la présence de la sonde électro-active sur la plateforme de titane.

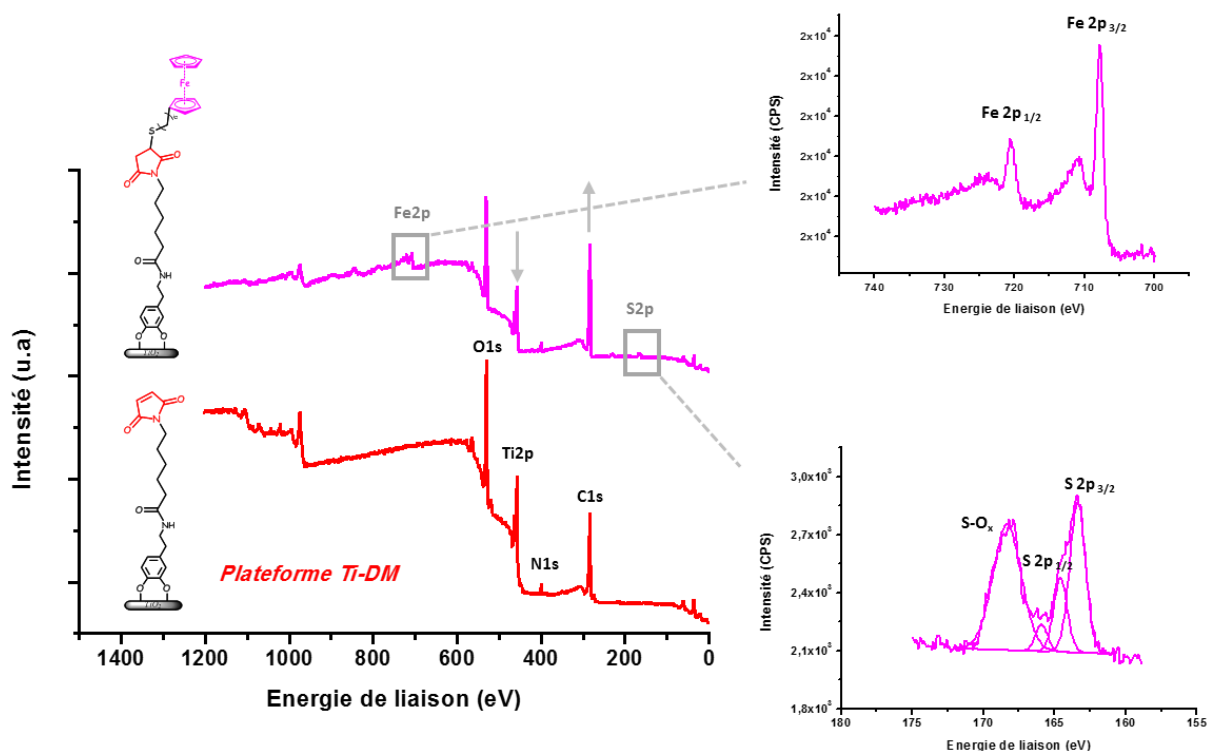


Figure IV.94 : Spectres XPS des plateformes Ti-DM avant (rouge) et après fonctionnalisation par la sonde ferrocène porteuse d'un groupement thiol (violet)

Le spectre XPS de la plateforme Ti-DM fonctionnalisée permet de confirmer l'immobilisation de la sonde ferrocène dans la mesure où nous observons très distinctement, après réaction, une diminution du signal du titane Ti 2p à 458,6 eV, une augmentation importante du signal du carbone C 1s à 284,7 eV ainsi que l'apparition de fer Fe 2p et de soufre S 2p attribuable à la sonde HS-Fc (Figure IV.94). De plus, la déconvolution du niveau de cœur du fer (Fe 2p) montre les deux composantes caractéristiques du fer à 707,8 eV (2p_{3/2}) et 720,6 eV (2p_{1/2}) attribuables au motif ferrocène. Par ailleurs, la déconvolution du niveau de cœur du soufre (S 2p) met en évidence l'existence d'une composante S-C à 163,4 eV comme attendu mais également de manière plus surprenante, la présence d'une composante à 168,3 eV attribuable à des espèces de type S-O⁸.

L'immobilisation de la sonde électro-active a également été confirmée par des mesures de voltampérométrie cyclique. En effet, le CV de la plateforme Ti-DM fonctionnalisée présente une vague d'oxydation à $E_{p_{ox}} = 0,52$ V ainsi qu'une vague de réduction à $E_{p_{red}} = 0,34$ V (vs Ag/AgCl) correspondant respectivement à l'oxydation et à la réduction du motif ferrocène (Figure IV.95, gauche). Le léger décalage observé entre ces deux pics provient très certainement de la formation d'un film organique résistif à la surface de titane. Pour confirmer le greffage du motif ferrocène sur la surface, nous avons réalisé une étude consistant à suivre l'évolution des intensités des pics d'oxydo-réduction en fonction de la vitesse de balayage (Figure IV.95, droite). L'évolution linéaire obtenue pour les vagues d'oxydation et de réduction traduit un régime d'oxydo-réduction confiné à l'électrode et confirme ainsi une immobilisation de la sonde et non une simple adsorption sur la surface.

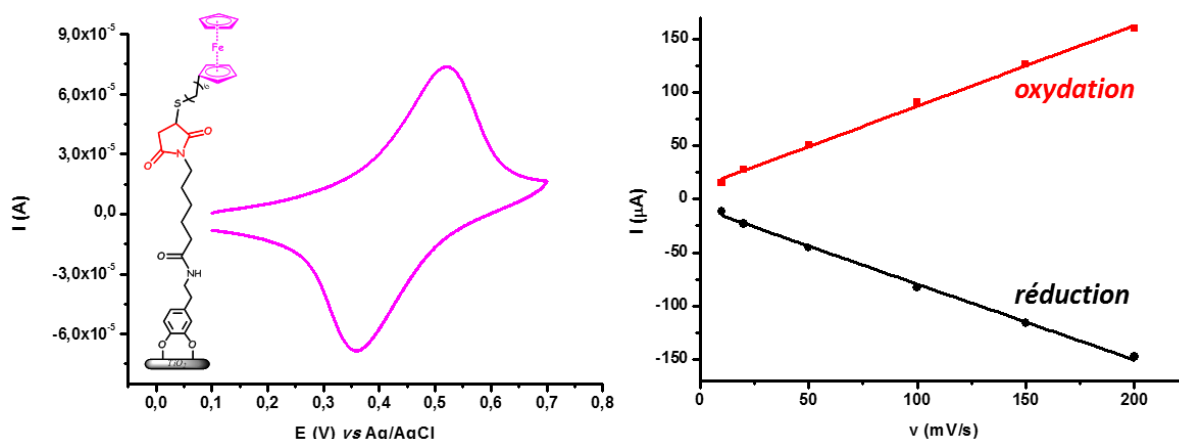


Figure IV.95 : (Gauche) Voltampérogramme cyclique de la plateforme Ti-DM fonctionnalisée par le 6-hexanethiol ferrocène;
Conditions: acétonitrile / TBAPF₆ 0,1M ; vitesse de balayage de 50 mV.s⁻¹
(Droite) Evolution de l'intensité des pics d'oxydo-réduction en fonction de la vitesse de balayage

Par ailleurs, nous avons pu estimer le taux de recouvrement en unité électro-active sur les plateformes Ti-DM par intégration du signal du ferrocène et en utilisant l'Équation II.1. Ce dernier, évalué à $\Gamma = 2,14 \times 10^{15}$ molécules.cm⁻², s'avère 15 fois plus important que celui obtenu dans le chapitre précédent, par réaction de Diels-Alder (Ti-DM + composé **7**). Cette différence peut à priori s'expliquer par une réactivité plus importante du groupement maléimide à l'égard de l'addition de type thiol-ène et moindre pour la réaction de Diels-Alder⁹.

Afin de mieux comprendre l'origine de ce taux de recouvrement important et de tenter d'expliquer la présence de la composante S-O dans le spectre XPS du soufre, nous avons réalisé une expérience témoin consistant à greffer la sonde HS-Fc en absence de l'ancre DM sur la surface. En effet, les groupements thiols sont connus pour s'adsorber sur des oxydes métalliques¹⁰, toutefois à notre connaissance, l'immobilisation de ces groupements sur des surfaces de titane n'a été que très peu étudiée¹¹⁻¹². Ainsi, afin de s'assurer de l'absence d'interactions entre les composés thiolés et le titane, une surface dépourvue d'ancre a été mise en contact avec le 6-hexanethiol ferrocène dans les conditions précitées.

Après fonctionnalisation, les substrats de titane ont été caractérisés par voltampérométrie cyclique afin de sonder le motif ferrocène. La Figure IV.96 de gauche montre le voltampérogramme cyclique enregistré sur la surface. Contre toute attente, un signal électrochimique attribuable au motif ferrocène a été obtenu. L'évolution linéaire de l'intensité des pics d'oxydo-réduction avec la vitesse de balayage (Figure IV.96, droite) démontre l'immobilisation du motif électro-actif sur la surface et non une simple physisorption.

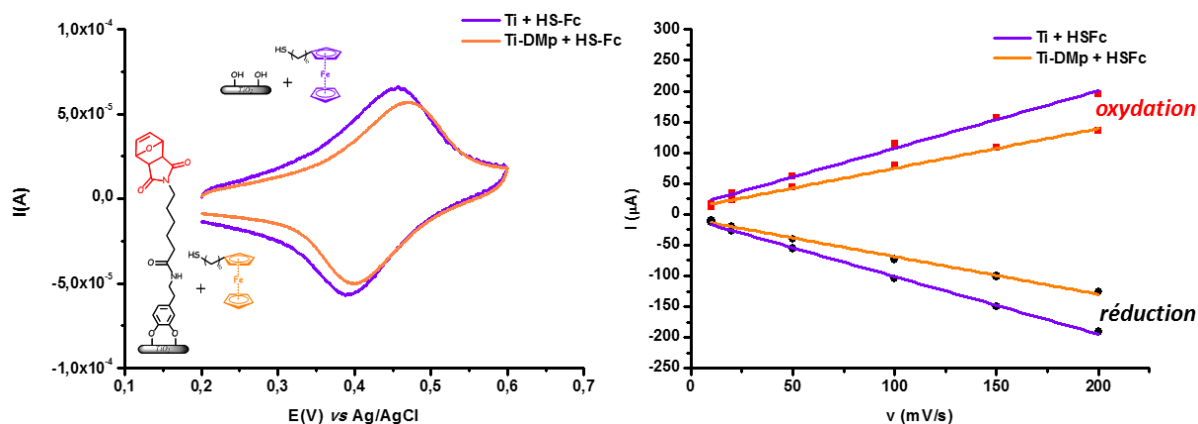


Figure IV.96 : (Gauche) Superposition des voltampérogrammes cycliques obtenus après fonctionnalisation par le 6-hexanethiol ferrocène d'une surface de titane dépourvue d'ancre catéchol et de la plateforme Ti-DMp ;

Conditions : acétonitrile / TBAPF₆ 0,1M ; vitesse de balayage de 50 mV.s⁻¹

(Droite) Evolution de l'intensité des pics d'oxydo-réduction des deux surfaces de titane « témoins » en fonction de la vitesse de balayage

Ces résultats semblent indiquer qu'il existe, dans les conditions d'immobilisation, des interactions fortes entre les oxydes de titane et les fonctions thiols de la sonde ferrocène. En effet, l'intégration du signal électrochimique obtenu (Figure IV.96, gauche, courbe violette)

indique un taux de recouvrement $\Gamma = 8,75 \times 10^{14}$ molécules.cm⁻² soit une valeur 2,5 fois moins importante que précédemment. De plus, un taux de recouvrement environ 2 fois plus faible est observé si le traitement piranha n'est pas opéré sur la surface ce qui indique clairement une interaction des oxydes de titane avec les dérivés soufrés (Figure IV.97). Ainsi, la composante observée précédemment à 168,3 eV en XPS pourrait correspondre à une liaison de type Ti-O-S¹³ et l'intégration des différentes composantes du soufre S 2p permettrait de mettre en évidence une répartition de 51 % pour la fonctionnalisation par thiol-ène et de 49 % pour la réaction avec les hydroxyles de surface (Figure IV.94). Il faut également noter qu'une oxydation partielle du soufre peut survenir en présence des rayons X et amplifierait la présence de la composante à 168,3 eV¹⁴⁻¹⁵.

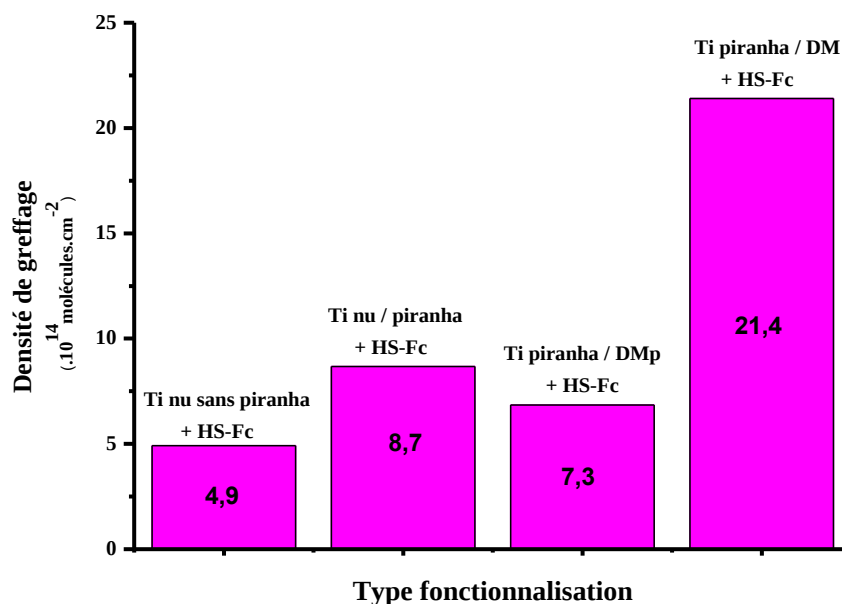


Figure IV.97 : Récapitulatif des taux de recouvrement en unité électro-active obtenus sur les différents types de substrats fonctionnalisés

Toutefois, il est également possible d'envisager dans les conditions opératoires utilisées, une oxydation partielle des fragments catéchols en quinones suivie d'une réaction d'addition de type Michaël de la sonde ferrocène sur l'ancre chimique. Afin de confirmer cette hypothèse et de quantifier la part de cette réaction dans le taux de fonctionnalisation obtenu, nous avons synthétisé une nouvelle ancre chimique à base de dopamine incorporant un groupement maléimide dont la fonction a été protégée (DMp) (Figure IV.98).

La voie de synthèse de l'ancre DMp ainsi que les caractérisations associées sont présentées en partie expérimentale.

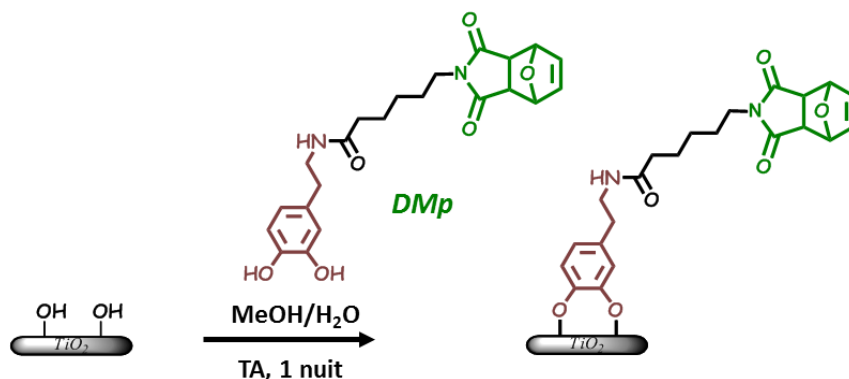


Figure IV.98 : Schématisation de la fonctionnalisation du titane par l'ancre DMp

Après modification de la surface de titane par l'ancre DMp par dip-coating (Figure IV.98), la nouvelle plateforme a été mise en contact avec la sonde électro-active HS-Fc dans les mêmes conditions que précédemment puis de nouvelles caractérisations ont été réalisées par voltampérométrie cyclique afin de sonder le motif ferrocène. L'enregistrement du CV de la plateforme Ti-DMp fonctionnalisée (Figure IV.96, gauche, courbe orange) a permis de mettre en évidence l'existence d'une vague d'oxydo-réduction centrée à 0,47 V (vs Ag/AgCl) traduisant la présence de ferrocène sur la surface. De plus, l'évolution linéaire des courbes $i=f(v)$ confirme l'immobilisation de la sonde électro-active sur le substrat (Figure IV.96, droite courbe orange). Le taux de recouvrement observé avec la plateforme Ti-DMp fonctionnalisée est de $\Gamma = 7,31 \times 10^{14}$ molécules.cm⁻² (Figure IV.97). Cette valeur est très proche de celle observée sur une surface Ti + HS-Fc et semble indiquer qu'il n'existe pas (ou très peu) d'addition nucléophile des fonctions thiols sur les formes quinone des ancrs à base de dopamine et que seuls les oxydes de titane ainsi que l'ancre DM sont à l'origine de l'immobilisation de la sonde Hs-Fc sur la surface.

En conclusion, malgré la présence d'interactions des groupements thiols avec les oxydes du titane, la stratégie de fonctionnalisation des plateformes Ti-DM par la réaction de thiol-ène s'est avérée extrêmement efficace puisque des taux de recouvrement de $\Gamma = 2,14 \times 10^{15}$ molécules.cm⁻² ont été obtenus. Ces taux de recouvrement restent beaucoup plus élevés que ceux calculés avec la stratégie par Diels-Alder. Les groupements maléimide présents sur

l'ancrage chimique DM jouent donc un rôle essentiel dans la fonctionnalisation des surfaces de titane par la réaction de thiol-ène.

II.1.2. Immobilisation du polymère CTA5'-PNIPAM et caractérisation des plateformes Ti-DM post-fonctionnalisées par XPS et CV

Fort de ce succès, nous avons envisagé de greffer sur les plateformes Ti-DM, des polymères parfaitement définis, préparés par polymérisation radicalaire contrôlée et intégrant en extrémité de chaîne une fonction thiol réactive. Pour ce faire, les plateformes Ti-DM ont été mises en contact avec une solution concentrée du polymère CTA5'-PNIPAM préparé dans le chapitre précédent, dans les mêmes conditions opératoires. Après fonctionnalisation de la plateforme et rinçage des échantillons pour éliminer l'excès de polymère non greffé, les surfaces ont été caractérisées par XPS.

L'immobilisation du polymère CTA5'-PNIPAM sur la plateforme Ti-DM est sans équivoque. En effet, le spectre XPS présenté Figure IV.99, permet de distinguer clairement après fonctionnalisation de la plateforme, une augmentation des signaux C 1s à 285,4 eV et N 1s à 400,4 eV imputables à la présence du polymère sur la surface.

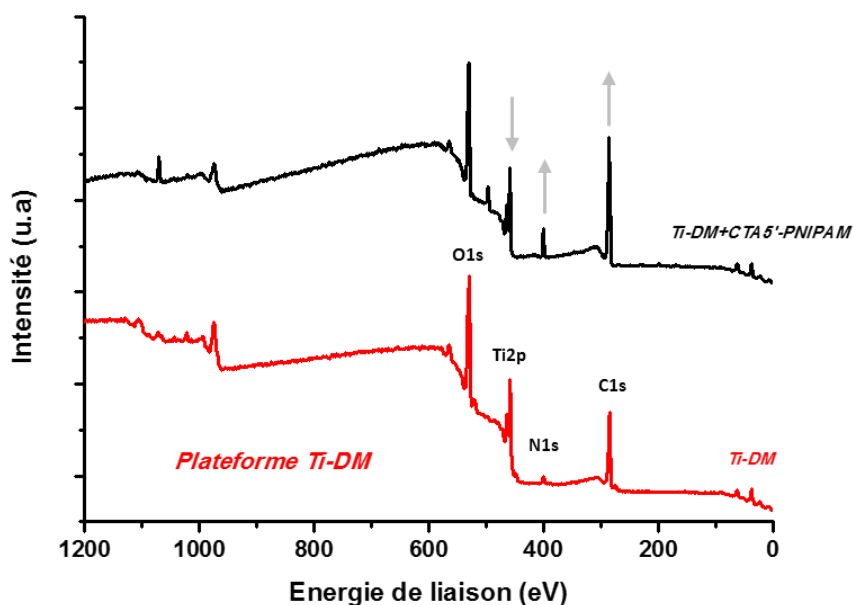


Figure IV.99 : Spectres XPS des plateformes Ti-DM avant (rouge) et après fonctionnalisation par le CTA5'-PNIPAM (noir)

Par ailleurs, afin de s'assurer qu'il n'existe aucune adsorption des groupements trithiocarbonates ou de la chaîne polymère sur la surface fonctionnalisée, une plateforme Ti-DM a également été mise en contact avec le polymère CTA5-PNIPAM ($M_{nSEC} = 9120 \text{ g.mol}^{-1}$) et la surface résultante a été caractérisée par XPS. Les quantifications atomiques répertoriées ci-dessous montrent que les valeurs obtenues sont quasi identiques à celles d'une surface de titane fonctionnalisée par l'ancre DM, confirmant ainsi l'importance de la présence des fonctions thiols dans le processus d'immobilisation des polymères sur la plateforme Ti-DM par la stratégie thiol-ène.

Tableau IV.10 : Comparaison des quantifications atomiques obtenues sur la plateforme Ti-DM avant et après fonctionnalisation par le polymère CTA5-PNIPAM porteur d'un groupement trithiocarbonate (valeurs exprimées en %)

	Ti 2p	O 1s	C 1s	N 1s	S 2p	Zn 2p3	Na 1s	Cl 2p
<i>Ti Dopamine Maleimide (Ti-DM)</i>	12.10	34.74	49.88	2.89		0.36		
<i>Ti-DM+ CTA5'-PNIPAM</i>	7,47	24,77	59,43	6,04	0,25		2,032	
<i>Ti-DM+ CTA5-PNIPAM</i>	14,67	36,08	43,13	2,87	0		1,84	0,74

Toutefois, les analyses XPS ne permettent pas de mettre en évidence la présence de fer sur la surface fonctionnalisée par le CTA5'-PNIPAM. En effet, il est probable que la présence du motif ferrocène situé en extrémité de chaîne du polymère c'est-à-dire à l'extrême surface du matériau, soit masquée par le polymère lors de la pénétration des photoélectrons X. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons réalisé des analyses de voltampérométrie cyclique sur les plateformes Ti-DM fonctionnalisées à l'aide du CTA5'-PNIPAM. Le CV révèle la présence d'une vague d'oxydation réversible située à 0,45 V (vs Ag/AgCl) (Figure IV.100, courbe violette). Cette signature caractéristique correspond à l'oxydation du motif ferrocène en ion ferricinium et témoigne de la présence de la sonde ferrocène sur la surface de titane ¹⁶. Pour valider ce résultat, des analyses électrochimiques ont également été réalisées sur une plateforme Ti-DM modifiée par le PNIPAM incorporant un groupement trithiocarbonate en extrémité de chaîne (CTA5-PNIPAM, Figure IV.100, courbe noire).

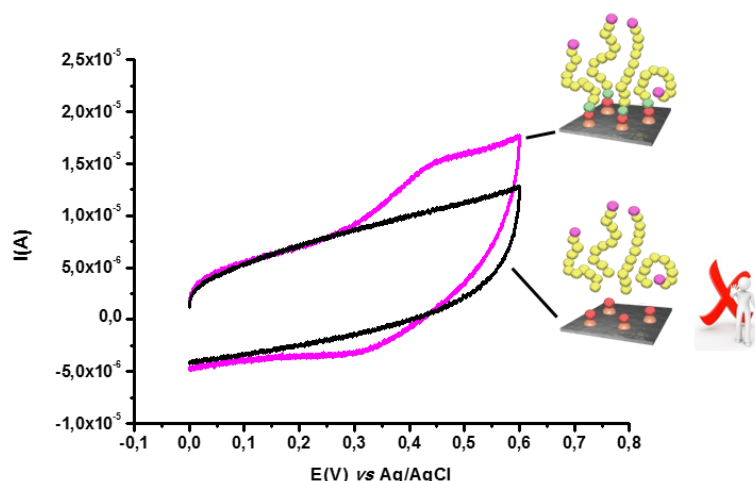


Figure IV.100 : Voltampérogrammes cycliques de la plateforme Ti-DM fonctionnalisée avec les polymères CTA5'-PNIPAM (violet) et CTA5-PNIPAM (noir)
Conditions: acétonitrile / TBAPF₆ 0,1M ; vitesse de balayage de 50 mV.s⁻¹

Dans ce cas, comme attendu, aucun signal attribuable au motif ferrocène n'a été observé, ce qui confirme une nouvelle fois le rôle clé joué par la fonction thiol située en extrémité de chaîne du polymère pour le greffage.

II.1.3. Etude de la morphologie des revêtements par Microscopie à Force Atomique (AFM)

Les différentes étapes de fonctionnalisation des substrats en titane conduisant à l'immobilisation du film polymère CTA5'-PNIPAM ont été suivies par AFM afin de visualiser la morphologie des revêtements à chaque étape (Figure IV.101). L'étude a été conduite en utilisant des wafers de silicium sur lesquels sont déposés de fines couches d'oxyde de titane par dépôt en phase vapeur (Nanolane). Contrairement aux surfaces de titane utilisées dans notre étude qui possèdent une rugosité comprise entre 50 et 100 nm (suite à la finition « miroir » du polissage mécanique), ce type de substrat présente une rugosité très faible. Ainsi, il devient plus aisé d'examiner la morphologie des films greffés sur la surface de l'échantillon par AFM.

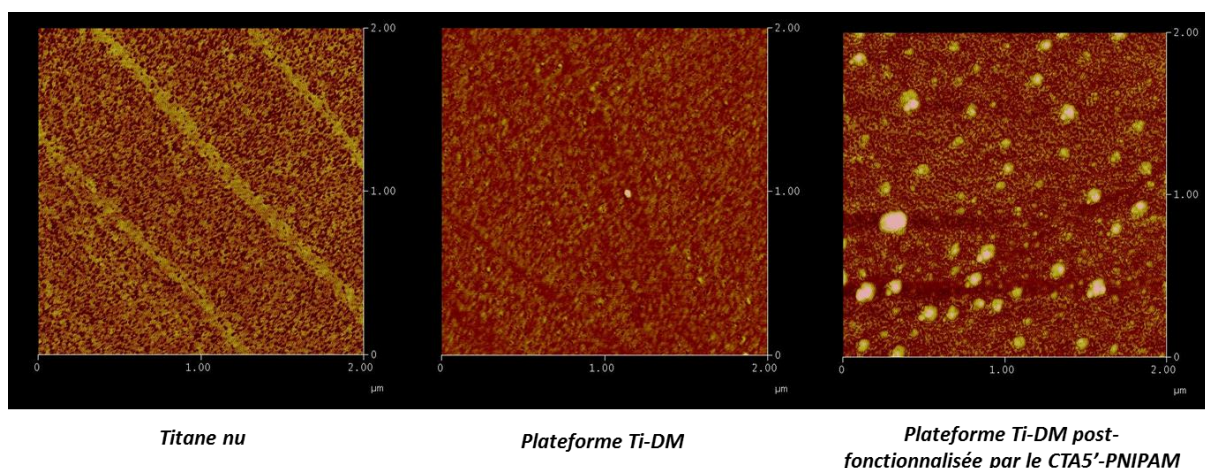


Figure IV.101 : Images AFM des surfaces de titane sans revêtement, fonctionnalisées par l'ancre DM et fonctionnalisées par l'ancre DM puis par le CTA5'-PNIPAM

Tout d'abord, nous observons sur le wafer de titane non modifié la présence de grains de titane et une succession de lignes parallèles probablement formées lors du détachement du film protecteur présent sur le matériau. Ces marques disparaissent ensuite totalement après fonctionnalisation de l'échantillon par l'ancre Dopamine-Maléimide, laissant place à un revêtement de surface parfaitement homogène. Après immobilisation du CTA5'-PNIPAM sur la plateforme Ti-DM, des amas de polymères apparaissant très clairement sur la surface. Ces observations sont en accord avec des études précédentes décrivant l'immobilisation de films denses de PNIPAM sur des wafers de silicium ¹⁷.

En conclusion, nous avons exploité la richesse de la chimie des catéchols et la réactivité du motif maléimide afin de concevoir des plateformes à base de titane fonctionnalisables par réaction de type thiol-ène. Par cette stratégie, un polymère thermo-stimulable fonctionnalisé en extrémité de chaîne par une fonction thiol a pu être immobilisé. Des travaux sont actuellement en cours afin d'étudier l'influence de la température sur les propriétés physico-chimiques du matériau fonctionnalisé.

III. Immobilisation de polymères fonctionnalisés par un groupement nitro-catéchol pour l'élaboration de surfaces photosensibles

L'objectif de cette partie consiste à immobiliser des polymères fonctionnalisés en extrémité de chaîne par un groupement « nitro-catéchol » en vue d'élaborer des matériaux stimulables par rayonnement ultra-violet. Les propriétés d'ancrage des dérivés catéchols seront ici de nouveau exploitées afin de concevoir des surfaces aux propriétés physico-chimiques modulables sous stimulus (lumière UV).

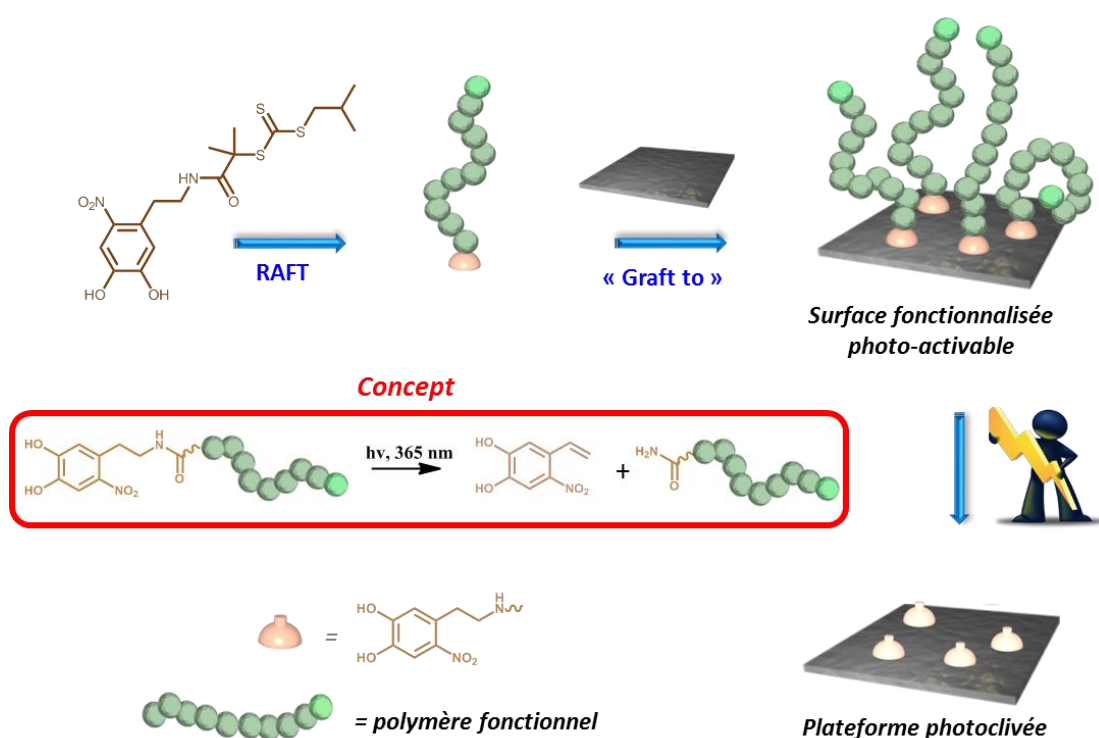


Figure IV.102 : Concept visant à élaborer des surfaces photosensibles par l'intermédiaire de polymères fonctionnalisés par un motif nitro-catéchol

III.1. Les dérivés du nitrobenzène pour l'élaboration de surfaces photosensibles

III.1.1. Les dérivés *o*-nitrobenzène

En raison de leurs cinétiques de réactions très rapides, les molécules dérivées du nitrobenzène sont extrêmement attrayantes et sont devenues les structures les plus utilisées dans le domaine des matériaux photosensibles¹⁸. Ces composés sont généralement employés

à travers une stratégie consistant à insérer le groupement en milieu ou en extrémité de la (macro)molécule afin de lui conférer un caractère photosensible. Ainsi, des surfaces photocontrôlables peuvent être obtenues à l'aide de ces (macro)molécules qui peuvent être décrochées du substrat par effet d'un rayonnement UV (Figure IV.103).

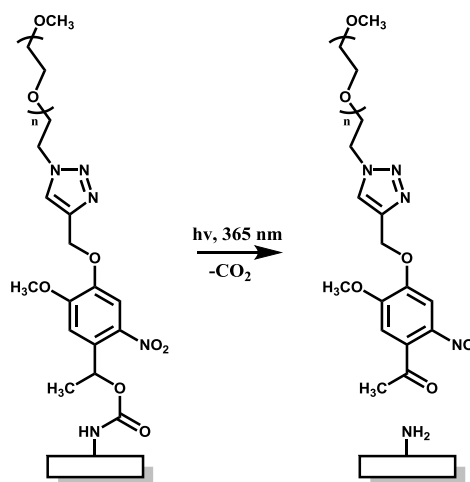


Figure IV.103 : Substrats photosensibles élaborés à base de PEG incorporant une entité *o*-nitrobenzène¹⁹

III.1.2. Les nitro-catéchols

A notre connaissance, peu de travaux relatent l'utilisation de nitro-catéchols en tant que groupements photosensibles pour la fonctionnalisation de surfaces. Nous pouvons néanmoins mentionner les travaux de Del Campo²⁰ qui consistent à exploiter les nitro-catéchols pour élaborer des revêtements photodégradables à base de polymères de nitrodopamine sur des surface en quartz.

Récemment, l'équipe de Gademann a également utilisé les propriétés des nitro-catéchols pour fonctionnaliser des particules de TiO₂ et exploiter le caractère photosensible de l'ancre pour libérer sur demande, sous rayonnement ultra-violet, des molécules modèles à base de coumarine²¹.

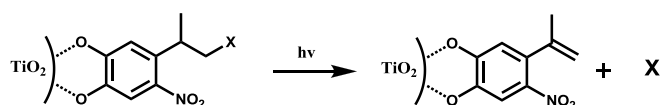


Figure IV.104 : Concept permettant de libérer des molécules greffées à la surface de particules de TiO₂ grâce à la présence de nitro-dopamine (X = polymère, protéine, molécule bioactive...) ²¹

Dans le cadre de notre étude, nous avons exploité les excellentes propriétés d'ancrage des motifs catéchols et le caractère photosensible du groupement nitro afin de moduler, par rayonnement ultra-violet, les propriétés physico-chimiques de surfaces fonctionnalisées par des polymères à base de nitro-dopamine.

III.2. Immobilisation des polymères préparés à partir du CTA6 sur le titane et caractérisations des surfaces fonctionnalisées

La première étape de la stratégie consiste à fonctionnaliser les surfaces de titane par dip-coating en employant les polymères préparés à partir de l'agent de transfert **CTA6** selon une approche « graft-to ». Pour ce faire, les échantillons sont immergés pendant une nuit, à température ambiante dans une solution (MeOH/H₂O 1:1 v/v) contenant les polymères décrits dans la partie IV.2 du chapitre 3 et dont les caractéristiques sont rappelées dans le Tableau IV.11.

Tableau IV.11 : Caractérisations des polymères et conditions utilisées pour le greffage sur le titane

Polymère	Mn _{RMN} (g.mol ⁻¹) ^a	Mn _{SEC} (g.mol ⁻¹) ^b	Đ ^b	Concentration (mol.L ⁻¹)
CTA6-POEGA	13400	6800	1,19	1.10 ⁻³
CTA6-PTFEA	12900	1800	1,67	1.10 ⁻³
CTA6-PNIPAM	10950	7000	1,23	1.10 ⁻³

a) Déterminées par RMN ¹H, b) Déterminés par SEC THF (POEGA et PNIPAM) et SEC toluène (PTFEA)

Après immobilisation des polymères sur les substrats en titane, les échantillons sont abondamment rincés avec le solvant utilisé pour la fonctionnalisation puis sont séchés à l'aide d'un courant d'azote.

III.2.1. Identification du fragment catéchol par électrochimie

Les polymères étudiés dans cette partie ont la particularité d'être fonctionnalisés en extrémité de chaîne par un fragment nitro-catéchol qui, nous l'avons vu précédemment, représente une excellente sonde électrochimique. Cette remarquable propriété permet ainsi

de contrôler, par une étude de voltampérométrie cyclique, la présence des polymères sur les surfaces.

Les CV des supports en titane fonctionnalisés par les polymères CTA6-POEGA, CTA6-PTFEA et CTA6-PNIPAM (Figure IV.105) mettent en évidence la présence d'une vague d'oxydation non réversible à 0,8 V (vs Ag/AgCl) correspondant à la signature électrochimique du motif catéchol (oxydation du catéchol en quinone).

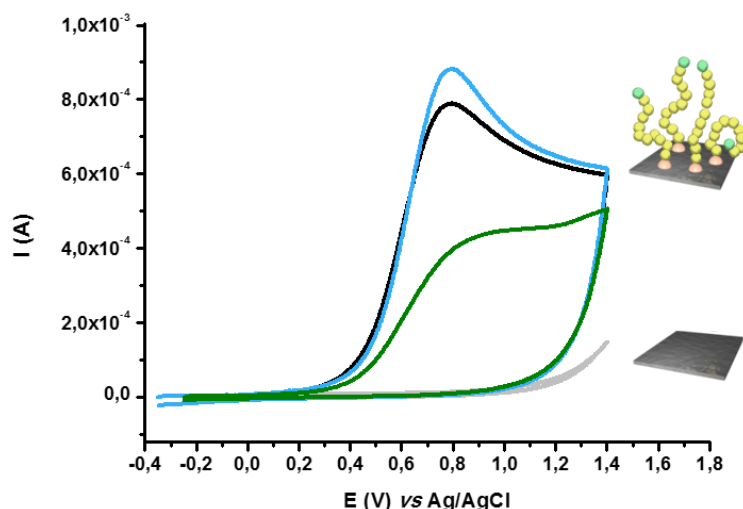


Figure IV.105 : Voltampérogrammes cycliques des surfaces de titane fonctionnalisées par les polymères CTA6-POEGA (bleu), CTA6-PTFEA (vert) et CTA6-PNIPAM (noir) enregistrés dans une solution tampon phosphate à pH=7 et à une vitesse de balayage de 50 mV.s⁻¹

Comme évoqué précédemment, l'exploitation des voltampérogrammes permet d'estimer, par intégration du signal du motif catéchol et par utilisation de l'Équation II.1, la densité de greffage en polymères sur les surfaces de titane (Tableau IV.12).

Tableau IV.12 : Estimation des taux de recouvrement obtenus par greffage des polymères sur les surfaces de titane

Polymère	Q (x 10 ⁻³ C)	Γ (molécules.cm ⁻²)
CTA6-POEGA	3,622	1,28 x 10 ¹⁶
CTA6-PTFEA	1,671	5,90 x 10 ¹⁵
CTA6-PNIPAM	2,849	1,01 x 10 ¹⁶

Les résultats témoignent de la présence de films denses de polymères sur la surface puisque des taux de recouvrement de l'ordre de 10¹⁵-10¹⁶ molécules.cm⁻² sont obtenus. Ces valeurs sont légèrement plus importantes que celles obtenues dans le cadre de la fonctionnalisation

de surfaces de titane à l'aide de polymères porteur d'une unité catéchol dépourvue de groupement -NO_2 ($\approx 8 \times 10^{15}$ molécules. cm^{-2})²². Nous pouvons toutefois remarquer un taux de recouvrement légèrement plus faible dans le cas d'une surface modifiée à l'aide du CTA6-PTFEA. Cette différence est certainement reliée à la nature du polymère pouvant générer des répulsions hydrophobes-hydrophobes à la surface et limitant ainsi la fonctionnalisation des surfaces.

III.2.2. Analyses des surfaces par IR/ATR et par XPS

L'immobilisation des films polymères sur les surfaces a également été confirmée par des analyses de spectroscopie infrarouge par ATR.

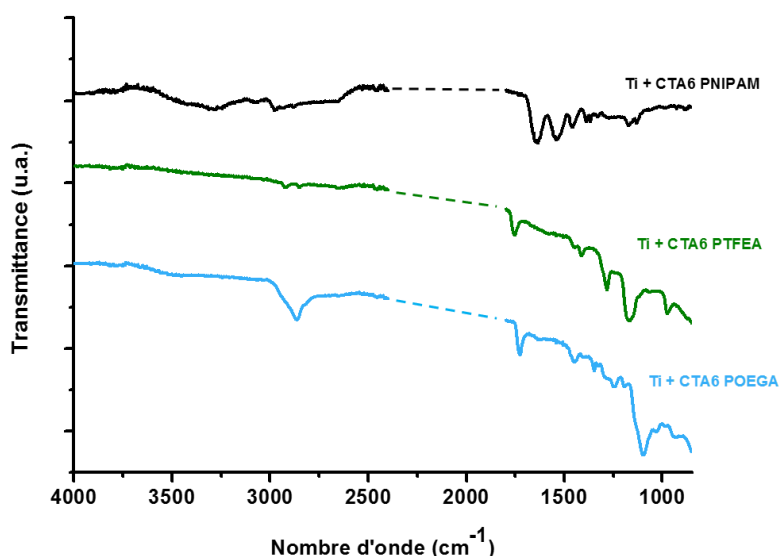


Figure IV.106 : Spectres IR/ATR des surfaces de titane fonctionnalisées à l'aide des polymères CTA6-POEGA, CTA6-PTFEA et CTA6-PNIPAM. La région correspondant au cristal Zn/Se a été supprimée

Les spectres ATR des surfaces de titane fonctionnalisées (Figure IV.106) présentent les bandes de vibration caractéristiques des polymères immobilisés sur le substrat métallique. En effet, des bandes d'élongation des liaisons C=O (1730 et 1750 cm^{-1}) et des liaisons C-O d'ester (1100 et 1170 cm^{-1}) sont identifiables sur les surfaces fonctionnalisées par le POEGA et le PTFEA. Par ailleurs, une bande supplémentaire située à 1285 cm^{-1} attribuable aux groupements CF_3 est observée dans le cas du polymère fluoré¹⁻². Enfin, sur les échantillons modifiés par le CTA6-PNIPAM, nous observons principalement les bandes de vibrations à 3300 cm^{-1} ($\nu_{\text{N-H}}$), 1640 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$) et 1540 cm^{-1} ($\delta_{\text{N-H}}$) relatives aux fonctions amides du polymère.

Les substrats de titane modifiés ont également fait l'objet de caractérisations par spectroscopie de photoélectrons X. Les compositions chimiques surfaciques des trois surfaces fonctionnalisées sont répertoriées dans le Tableau IV.13. De manière générale, les résultats obtenus semblent confirmer l'immobilisation des polymères sur les surfaces de titane dans la mesure où l'on observe principalement, après greffage, une diminution importante du signal du titane Ti 2p à 458,6 eV et une augmentation du taux de carbone C 1s à 285,1 eV (Figure IV.107, a).

Tableau IV.13 : Quantifications atomiques des surfaces de titane fonctionnalisées par les polymères préparés à partir de l'agent de transfert CTA6 (valeurs exprimées en %)

	Ti 2p	O 1s	C 1s	N 1s	F 1s	S 2p
<i>Titane nu</i>	24.95	54.03	19.92	0.89		
<i>Ti + CTA6-POEGA</i>	14.79	36.73	44.77	3.21		0.50
<i>Ti + CTA6-PTFEA</i>	2.42	21.17	49.34	0.80	26.17	0.10
<i>Ti + CTA6-PNIPAM</i>	6.81	23.33	62.20	7.44		0.22

Par ailleurs, les spectres XPS représentés dans la Figure IV.107, b, permettent de mettre en évidence l'apparition d'un signal important de fluor F 1s à 688,8 eV dans le cas du titane fonctionnalisé par le CTA6-PTFEA. Le greffage de ce polymère est confirmé grâce à la déconvolution du spectre de niveau de cœur du carbone C 1s qui témoigne clairement de la présence d'une composante à 293,3 eV attribuable au groupement CF₃.

Dans le cas de la surface modifiée par le CTA6-PNIPAM, nous observons sans ambiguïté une augmentation des signaux du carbone C 1s à 285,1 eV et de l'azote N 1s à 400,1 eV. De plus, la déconvolution du spectre XPS de niveau de cœur de l'azote N 1s montre la présence de composantes à 399,8 eV, 400,7 eV et 406,1 eV attribuables respectivement aux fonctions -NH, amide du PNIPAM et au groupement « nitro » de l'agent de transfert (Figure IV.107, c).

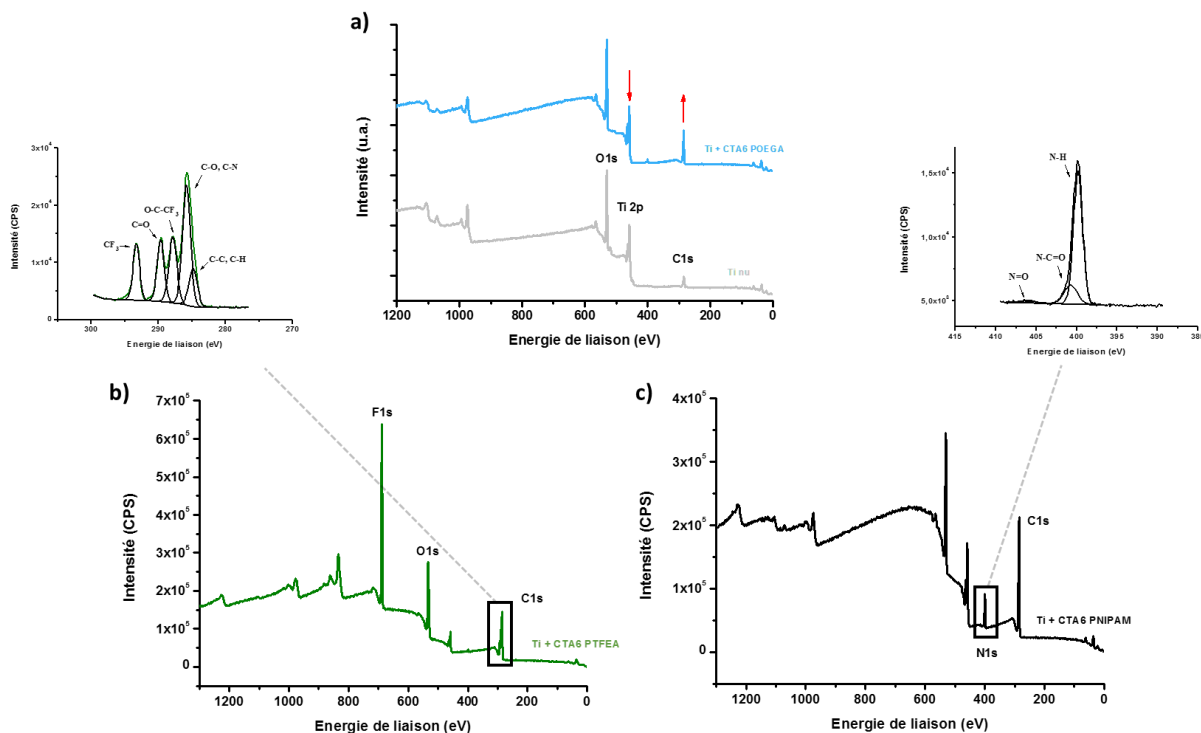


Figure IV.107 : Spectres XPS des surfaces de titane fonctionnalisées par les polymères porteurs d'unités nitro-catéchol

Enfin, en utilisant l'Équation IV.2, des films polymères d'une épaisseur comprise entre 2 et 5 nm peuvent être estimés.

En conclusion, les études menées par IR/ATR et XPS confirment le greffage des polymères sur les substrats à base de titane. De plus, les analyses XPS montrent que le groupement « nitro », indispensable pour une stimulation du matériau, est conservé.

III.2.3. Etude de l'influence du greffage sur les propriétés physico-chimiques de surface

Après avoir montré l'immobilisation des polymères fonctionnalisés sur les surfaces de titane, nous avons étudié l'influence du greffage sur la balance hydrophile/hydrophobe des matériaux. Pour ce faire, des mesures d'angle de contact (eau) ont été réalisées sur l'ensemble des substrats fonctionnalisés (Figure IV.108).

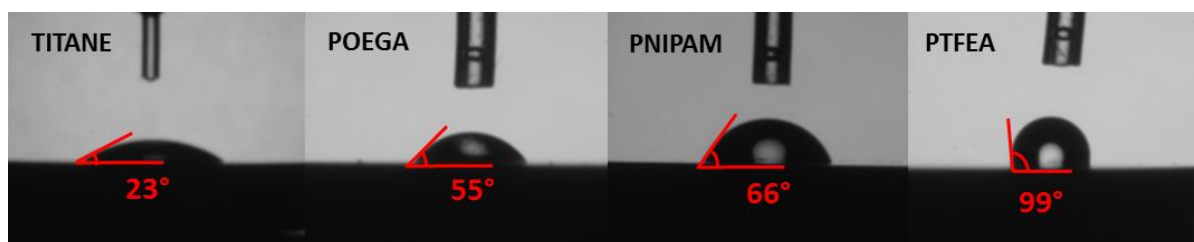


Figure IV.108 : Angles de contact (eau) obtenus sur les surfaces de titane modifiées par la stratégie « graft-to » à l'aide des polymères préparés à partir du **CTA6**

Tout d'abord, la surface de titane vierge ayant subi le traitement piranha présente un caractère hydrophile prononcé ($23^\circ \pm 3$) en raison notamment du nombre important de fonctions hydroxyles créés à la surface suite à l'apprêtage chimique de l'échantillon. Après fonctionnalisation, les valeurs des angles de contact s'approchent des valeurs obtenues lors de l'immobilisation de ces mêmes polymères à travers une réaction de Diels-Alder sur les plateformes Ti-DF et Ti-DM. En effet, en ce qui concerne l'immobilisation des POEGA et PNIPAM, des valeurs d'angles de contact respectives de $55^\circ \pm 3$ et $66^\circ \pm 5$ sont obtenues et sont quasi identiques à celles mesurées par l'approche DA (53° et 70° , respectivement). Nous remarquons toutefois que la valeur de l'angle de contact pour le PTFEA ($99^\circ \pm 3$) est légèrement inférieure à son homologue obtenue par Diels-Alder (113° sur Ti-DF et 118° sur Ti-DM). Cette différence peut s'expliquer par un plus faible taux de recouvrement en polymère dans le cas de l'approche « graft-to » par rapport à l'approche Diels-Alder.

III.3. Stimulation des plateformes par irradiation UV

Après avoir confirmé l'immobilisation des polymères sur les surfaces de titane, le but consiste désormais à éliminer le revêtement polymère en stimulant le matériau par la lumière UV tout en gardant l'ancre catéchol sur la surface de l'échantillon (Figure IV.102). Les composés porteur de groupement « nitro » absorbent aux alentours de 365 nm²³⁻²⁴. Ainsi dans un premier temps, avant d'étudier une possible élimination du film polymère du substrat, nous avons suivi l'effet de l'irradiation UV sur les propriétés électroniques de l'ancre nitro-dopamine en solution.

III.3.1. Etude de l'influence de l'irradiation en solution

Afin de démontrer l'influence de l'irradiation UV, nous avons suivi le spectre d'absorbance de la nitro-dopamine en fonction du temps d'exposition au rayonnement UV d'une lampe monochromatique émettant à 365 nm (Hamamatsu Photonics, LC8 type 01A, 4500 mW.cm⁻², utilisée à 2 cm de l'échantillon) (Figure IV.109). Les expériences ont été réalisées dans un solvant deutéré (D₂O) qui permet d'avoir une meilleure définition de la bande d'absorption caractéristique du groupement -NO₂.

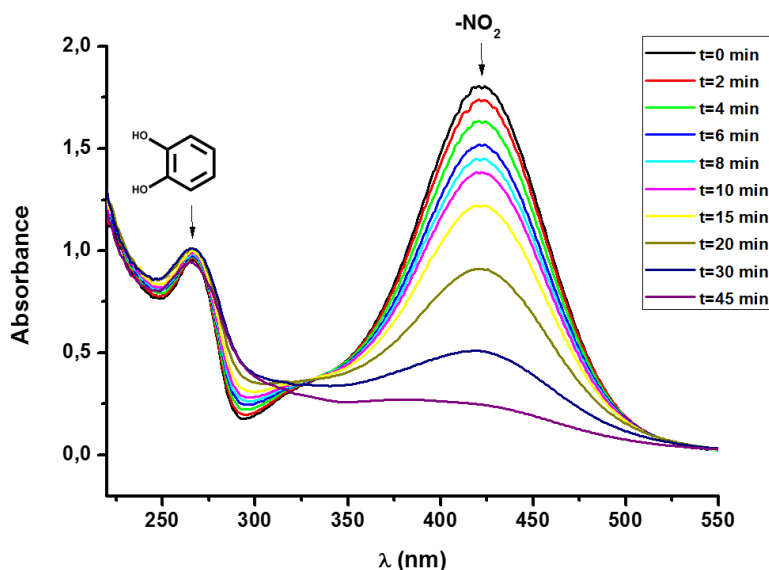


Figure IV.109 : Suivi de l'irradiation par lumière UV d'une solution de nitro-dopamine à une concentration de 0,1 mM dans D₂O

Tout d'abord, nous remarquons que la bande d'absorption du groupement -NO₂ de la nitro-dopamine se trouve décalée vers les plus hautes longueurs d'onde ($\lambda = 421$ nm vs $\lambda = 365$ nm dans H₂O) lorsque l'enregistrement du spectre d'absorbance de la molécule est effectué dans le solvant deutéré. Cet écart peut être attribué à la différence de pH existante entre les solutions préparées dans l'eau (pH = 6,05) et dans l'eau deutérée (pH = 6,80). En effet, les maximums d'absorption des nitro-catéchols sont généralement observés à 350 nm à pH = 5 et à 420 nm à pH = 7,4²⁵. De plus, considérant les valeurs de pKa des nitro-catéchols (pKa₁ ≈ 6,5 et pKa₂ ≈ 10)²⁶⁻²⁷, ces bandes d'absorption à 365 nm et à 421 nm peuvent être assimilées à une forme totalement protonnée et une forme déprotonnée respectivement, de la nitro-dopamine.

Au contact de la lumière UV, la bande d'absorption observée à 421 nm diminue progressivement en fonction du temps d'irradiation pour finalement disparaître après 45 minutes de rayonnement, suggérant à priori la disparition des groupements -NO_2 . Nous pouvons également constater que la bande d'absorption à 265 nm, caractéristique du fragment catéchol²⁸⁻²⁹, n'est pas affectée par la lumière UV et qu'aucune bande d'absorption n'apparaît aux alentours de 400 nm (λ_{max} quinone), garantissant ainsi le maintien de la structure de la molécule irradiée sous sa forme catéchol.

III.3.2. Preuve du concept : étude de l'effet de l'irradiation sur la mouillabilité d'une surface d'ITO fonctionnalisée par un polymère fluoré intégrant en extrémité de chaîne un motif nitro-catéchol

L'étape suivante consiste à étudier l'influence de l'irradiation UV sur les propriétés physico-chimiques des surfaces fonctionnalisées par le polymère hydrophobe CTA6-PTFEA. En effet, ce revêtement permet de suivre facilement l'impact du rayonnement UV sur la balance hydrophile/hydrophobe du matériau par mesures d'angle de contact. Toutefois, ces expériences n'ont pas été réalisées sur les substrats en titane étant donné que ce type de matériau reste sensible au rayonnement ultraviolet. En effet, en présence de lumière UV et d'oxygène, le TiO_2 génère des radicaux hydroxyles $\text{OH}^\bullet$ ainsi que des radicaux anions superoxyde $\text{O}_2^{\bullet-}$ qui conduisent à la décomposition de la matière organique³⁰. Ce traitement est d'ailleurs utilisé pour stériliser des surfaces de TiO_2 ou dans le but d'obtenir des substrats super hydrophiles³⁰⁻³¹. Afin de démontrer le concept, nous avons réalisé la stimulation sur des surfaces neutres d'oxyde d'indium-étain (ITO) à l'aide d'un rayonnement UV à 365 nm (Figure IV.110).

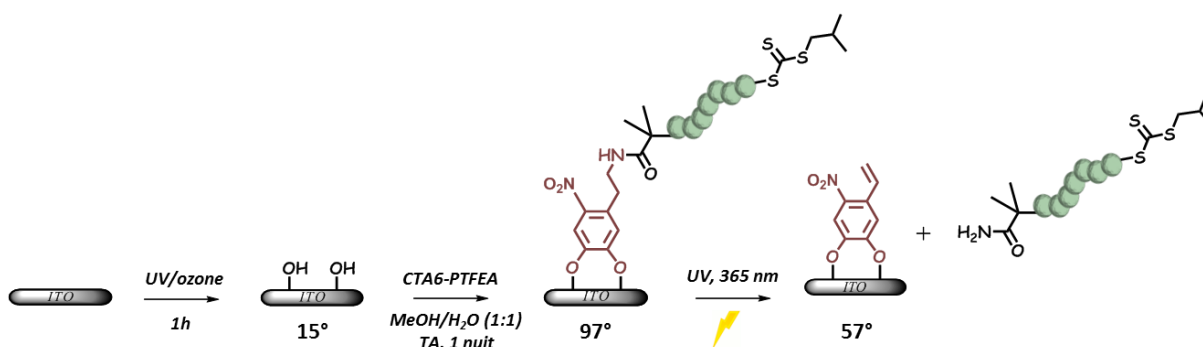


Figure IV.110 : Préparation et stimulation de surfaces d'ITO fonctionnalisées par un polymère incorporant une ancre nitro-catéchol sensible au rayonnement ultra-violet

Dans cette optique, les surfaces d'ITO sont tout d'abord soumises à un traitement à l'ozone (1h, UV/ozone) afin de générer des fonctions hydroxyles de surface. Les échantillons sont ensuite fonctionnalisés par le CTA6-PTFEA dans les mêmes conditions que celles utilisées pour la modification des substrats en titane (Tableau IV.11). Le succès de la fonctionnalisation des surfaces d'ITO par le polymère a été confirmé par une analyse de voltampérométrie cyclique (Figure IV.111) dans la mesure où une vague d'oxydation caractéristique de l'oxydation du motif catéchol en quinone est observable vers 1,1 V. Par ailleurs, des mesures d'angles de contact permettent de mesurer une valeur d'angle de $97^\circ \pm 3$ après fonctionnalisation des échantillons ITO par le CTA6-PTFEA alors que valeur de l'angle de la surface initiale était de $15^\circ \pm 4$.

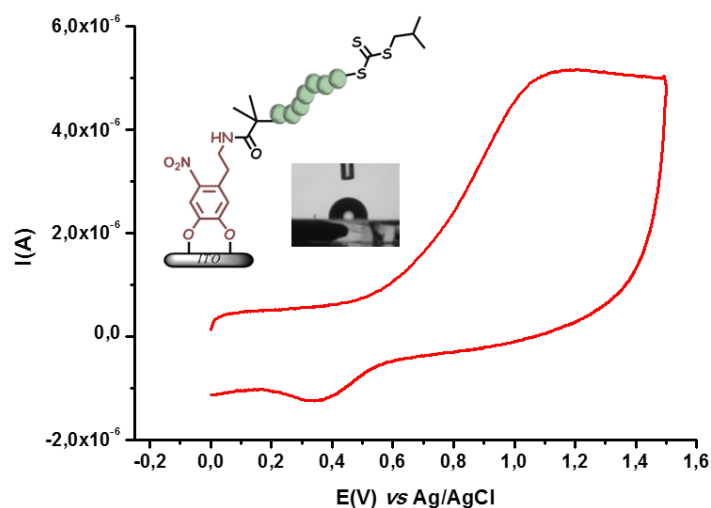


Figure IV.111 : Voltampérogramme cyclique d'une surface d'ITO fonctionnalisée par le polymère CTA6-PTFEA enregistré dans une solution tampon phosphate à pH = 7 et à une vitesse de balayage de 50 mV.s^{-1}

Les surfaces fonctionnalisées ont ensuite été irradiées à l'aide d'un rayonnement UV monochromatique émettant à 365 nm directement focalisé sur le dessus de l'échantillon (distance échantillon-faisceau $\approx 2 \text{ cm}$). Après rinçage abondant des surfaces avec un excès de méthanol pour éliminer la partie polymère potentiellement photo-clivée, des mesures d'angles de contact ont été réalisées afin de suivre l'effet du temps d'irradiation sur la balance hydrophile/hydrophobe du matériau (Figure IV.112).

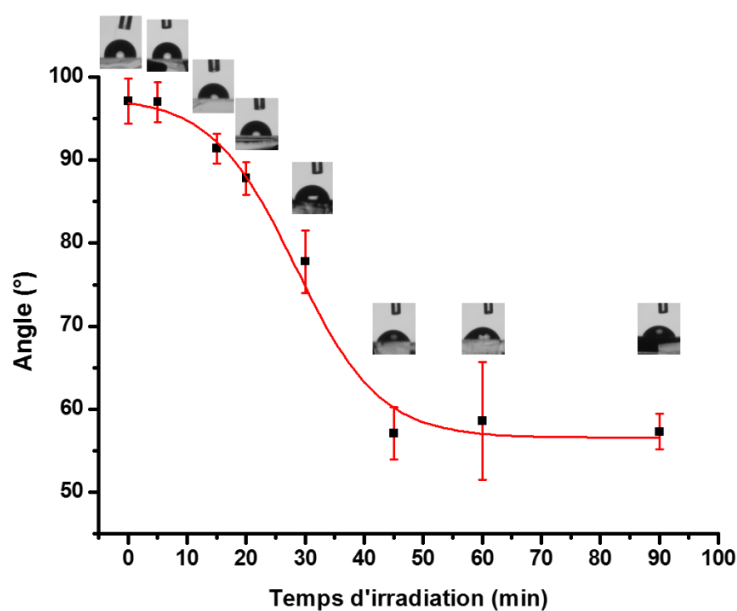


Figure IV.112 : Suivi par angle de contact (eau) de l'impact de l'irradiation UV à 365 nm sur la mouillabilité des surfaces d'ITO fonctionnalisées par le CTA6-PTFEA

Après une durée d'irradiation de 20 minutes, une surface d'ITO recouverte du film polymère fluoré présente un angle de contact de $88^\circ \pm 2$ contre $97^\circ \pm 2$ initialement. Ces résultats laissent penser qu'une partie des chaînes polymères sont éliminées du substrat suite à l'irradiation. Cette tendance se confirme après 45 minutes sous lumière UV puisque l'angle de contact chute de nouveau à une valeur de $57^\circ \pm 3$. Ce dernier demeure constant après 1h30 d'irradiation suggérant que l'intégralité du revêtement polymère a été éliminée du substrat après cette période d'irradiation.

Toutefois, afin de confirmer l'importance du groupement nitro-catéchol dans le processus d'élimination du film polymère de l'échantillon sous rayonnement ultra-violet, une surface d'ITO a été fonctionnalisée par le polymère CTA7-PTFEA possédant en extrémité de chaîne une unité catéchol dépourvue de groupement « nitro ». Après rinçage, l'angle de contact moyen mesuré sur cette nouvelle surface est de $89^\circ \pm 4$. Le substrat d'ITO fonctionnalisé a ensuite été irradié pendant 45 minutes, temps nécessaire pour visualiser un effet significatif sur la mouillabilité des substrats selon les résultats obtenus précédemment. Après irradiation, les valeurs d'angle de contact restent inchangées ($93^\circ \pm 2$ vs $89^\circ \pm 4$), démontrant que le rayonnement UV n'a aucun effet dans ce cas sur la mouillabilité du matériau et que le résultat observé précédemment est imputable à la partie nitro-catéchol du polymère.

En conclusion, nous avons, dans cette partie, exploité les propriétés d'ancrage du motif catéchol afin d'élaborer des matériaux stimulables par rayonnement ultra-violet grâce à l'immobilisation de polymères incorporant un groupement nitro-catéchol en extrémité de chaîne. Pour démontrer le concept, nous avons greffé sur des substrats d'ITO, un polymère fluoré rendant le matériau hautement hydrophobe. De cette manière, nous avons montré par mesures d'angle de contact que l'irradiation UV provoque une diminution de l'hydrophobie du matériau, ce qui suggère une élimination du film polymère de la surface. Ces résultats prometteurs devront faire l'objet d'analyses complémentaires afin de déterminer la nature exacte du film résiduel présent sur la surface et ainsi d'envisager une réutilisation du matériau par l'intermédiaire de la double liaison supposée se former après irradiation.

Conclusion

Différentes stratégies ont été proposées pour immobiliser des polymères parfaitement définis fonctionnalisés en extrémité de chaîne sur des matériaux à base de titane dans le but de concevoir de nouveaux matériaux stimulables.

Les plateformes à base de titane fonctionnalisées par des motifs furane et maléimide élaborées précédemment, ont permis l'immobilisation de (macro)molécules en utilisant la réaction de Diels-Alder. La réversibilité de cette réaction a permis également de recycler ces matériaux et d'entrevoir une modulation des propriétés physico-chimiques de surface par l'intermédiaire de la réalisation d'une seconde réaction de Diels-Alder.

La réactivité du motif maléimide immobilisé sur la surface de titane a ensuite été exploitée dans le cadre de réactions de type thiol-ène. Des études préliminaires ont mis en évidence une réaction extrêmement efficace ($\Gamma = 2,14 \times 10^{15}$ molécules.cm⁻²) malgré la présence inattendue d'interactions entre les groupements thiols et les oxydes du titane. Cette stratégie a ainsi permis l'immobilisation d'un polymère thermo-stimulable parfaitement défini fonctionnalisé en extrémité de chaîne par une fonction thiol.

Enfin, les excellentes propriétés d'ancrage des catéchols combinées au caractère photosensible du groupement nitro ont été exploitées afin d'élaborer des matériaux stimulables par rayonnement ultra-violet. Le greffage de polymères parfaitement définis incorporant en extrémité de chaîne un motif nitro-catéchol sur des surfaces de titane a été démontré. La stimulation du matériau par rayonnement UV a, quant à elle, été réalisée sur des surfaces d'ITO. Les études ont montré la possibilité de moduler les propriétés physico-chimiques de surface, en particulier la mouillabilité, par application d'un stimulus externe de type UV.

Références bibliographiques

1. Merino, E. G.; Atlas, S.; Raihane, M.; Belfkira, A.; Lahcini, M.; Hult, A.; Dionísio, M.; Correia, N. T., Molecular dynamics of poly(ATRIF) homopolymer and poly(AN-co-ATRIF) copolymer investigated by dielectric relaxation spectroscopy. *European Polymer Journal* **2011**, *47* (7), 1429-1446.
2. Le, D. V.; Kendrick, M. M.; O'Rear, E. A., Admicellar Polymerization and Characterization of Thin Poly(2,2,2-trifluoroethyl acrylate) Film on Aluminum Alloys for In-Crevice Corrosion Control. *Langmuir* **2004**, *20* (18), 7802-7810.
3. Li, Y.; Zhao, M.; Wang, J.; Liu, K.; Cai, C., Biofunctionalization of a "Clickable" Organic Layer Photochemically Grafted on Titanium Substrates. *Langmuir* **2011**, *27* (8), 4848-4856.
4. Rodenstein, M.; Zürcher, S.; Tosatti, S. G. P.; Spencer, N. D., Fabricating Chemical Gradients on Oxide Surfaces by Means of Fluorinated, Catechol-Based, Self-Assembled Monolayers†. *Langmuir* **2010**, *26* (21), 16211-16220.
5. Zhang, F.; Xu, F. J.; Kang, E. T.; Neoh, K. G., Modification of Titanium via Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization (ATRP). *Industrial & Engineering Chemistry Research* **2006**, *45* (9), 3067-3073.
6. Fan, X.; Lin, L.; Dalsin, J. L.; Messersmith, P. B., Biomimetic Anchor for Surface-Initiated Polymerization from Metal Substrates. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127* (45), 15843-15847.
7. Zobrist, C.; Sobocinski, J.; Lyskawa, J.; Fournier, D.; Miri, V.; Traisnel, M.; Jimenez, M.; Woisel, P., Functionalization of Titanium Surfaces with Polymer Brushes Prepared from a Biomimetic RAFT Agent. *Macromolecules* **2011**, *44* (15), 5883-5892.
8. Jans, K.; Bonroy, K.; De Palma, R.; Reekmans, G.; Jans, H.; Laureyn, W.; Smet, M.; Borghs, G.; Maes, G., Stability of Mixed PEO-Thiol SAMs for Biosensing Applications. *Langmuir* **2008**, *24* (8), 3949-3954.
9. Gokmen, M. T.; Brassinne, J.; Prasath, R. A.; Du Prez, F. E., Revealing the nature of thio-click reactions on the solid phase. *Chemical Communications* **2011**, *47* (16), 4652-4654.
10. Love, J. C.; Estroff, L. A.; Kriebel, J. K.; Nuzzo, R. G.; Whitesides, G. M., Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology. *Chemical Reviews* **2005**, *105* (4), 1103-1170.
11. Nanci, A.; Wuest, J. D.; Peru, L.; Brunet, P.; Sharma, V.; Zalzal, S.; McKee, M. D., Chemical modification of titanium surfaces for covalent attachment of biological molecules. *Journal of Biomedical Materials Research* **1998**, *40* (2), 324-335.
12. Godoy-Gallardo, M.; Mas-Moruno, C.; Fernández-Calderón, M. C.; Pérez-Giraldo, C.; Manero, J. M.; Albericio, F.; Gil, F. J.; Rodríguez, D., Covalent immobilization of hLf1-11 peptide on a titanium surface reduces bacterial adhesion and biofilm formation. *Acta Biomaterialia* **2014**, *10* (8), 3522-3534.
13. Nanayakkara, C. E.; Pettibone, J.; Grassian, V. H., Sulfur dioxide adsorption and photooxidation on isotopically-labeled titanium dioxide nanoparticle surfaces: roles of surface hydroxyl groups and adsorbed water in the formation and stability of adsorbed sulfite and sulfate. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2012**, *14* (19), 6957-6966.
14. Vahlberg, C.; Linares, M.; Villaume, S.; Norman, P.; Uvdal, K., Noradrenaline and a Thiol Analogue on Gold Surfaces: An Infrared Reflection-Absorption Spectroscopy, X-ray Photoelectron Spectroscopy, and Near-Edge X-ray Absorption Fine Structure Spectroscopy Study. *The Journal of Physical Chemistry C* **2010**, *115* (1), 165-175.
15. Zharnikov, M., High-resolution X-ray photoelectron spectroscopy in studies of self-assembled organic monolayers. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena* **2010**, *178-179* (0), 380-393.
16. Watson, M. A.; Lyskawa, J.; Zobrist, C.; Fournier, D.; Jimenez, M.; Traisnel, M.; Gengembre, L.; Woisel, P., A "Clickable" Titanium Surface Platform. *Langmuir* **2010**, *26* (20), 15920-15924.

17. Ishida, N.; Biggs, S., Effect of Grafting Density on Phase Transition Behavior for Poly(N-isopropylacrylamide) Brushes in Aqueous Solutions Studied by AFM and QCM-D. *Macromolecules* **2010**, *43* (17), 7269-7276.
18. Wang, R.; Yan, F.; Qiu, D.; Jeong, J.-S.; Jin, Q.; Kim, T.-Y.; Chen, L., Traceless Cross-Linker for Photocleavable Bioconjugation. *Bioconjugate Chemistry* **2012**, *23* (4), 705-713.
19. Kaneko, S.; Yamaguchi, K.; Nakanishi, J., Dynamic Substrate Based on Photocleavable Poly(ethylene glycol): Zeta Potential Determines the Capability of Geometrical Cell Confinement. *Langmuir* **2013**, *29* (24), 7300-7308.
20. Shafiq, Z.; Cui, J.; Pastor-Pérez, L.; San Miguel, V.; Gropeanu, R. A.; Serrano, C.; del Campo, A., Bioinspired Underwater Bonding and Debonding on Demand. *Angewandte Chemie International Edition* **2012**, *51* (18), 4332-4335.
21. Wehlauch, R.; Hoecker, J.; Gademann, K., Nitrocatechols as Tractable Surface Release Systems. *ChemPlusChem* **2012**, *77* (12), 1071-1074.
22. Zobrist, C. Elaboration de brosses polymères à la surface du titane en vue d'applications biomédicales. Thèse de Doctorat, Université de Lille 1, Lille, 2011.
23. Ji, Z.; Shen, X.; Yang, J.; Zhu, G.; Chen, K., A novel reduced graphene oxide/Ag/CeO₂ ternary nanocomposite: Green synthesis and catalytic properties. *Applied Catalysis B: Environmental* **2014**, *144* (0), 454-461.
24. Klán, P.; Šolomek, T.; Bochet, C. G.; Blanc, A.; Givens, R.; Rubina, M.; Popik, V.; Kostikov, A.; Wirz, J., Photoremovable Protecting Groups in Chemistry and Biology: Reaction Mechanisms and Efficacy. *Chemical Reviews* **2012**, *113* (1), 119-191.
25. Amstad, E.; Gehring, A. U.; Fischer, H.; Nagaiyanallur, V. V.; Hähner, G.; Textor, M.; Reimhult, E., Influence of Electronegative Substituents on the Binding Affinity of Catechol-Derived Anchors to Fe₃O₄ Nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry C* **2010**, *115* (3), 683-691.
26. Amstad, E.; Gillich, T.; Bilecka, I.; Textor, M.; Reimhult, E., Ultrastable Iron Oxide Nanoparticle Colloidal Suspensions Using Dispersants with Catechol-Derived Anchor Groups. *Nano Letters* **2009**, *9* (12), 4042-4048.
27. Gelb, R. I.; Laufer, D. A.; Schwartz, L. M.; Wairimu, K., Acidic dissociation of aqueous 4-nitrocatechol. *Journal of Chemical & Engineering Data* **1989**, *34* (1), 82-83.
28. Park, J. Y.; Kim, J. S.; Nam, Y. S., Mussel-inspired modification of dextran for protein-resistant coatings of titanium oxide. *Carbohydrate Polymers* **2013**, *97* (2), 753-757.
29. Charlot, A.; Sciannamea, V.; Lenoir, S.; Faure, E.; Jerome, R.; Jerome, C.; Van De Weerd, C.; Martial, J.; Archambeau, C.; Willet, N.; Duwez, A.-S.; Fustin, C.-A.; Detrembleur, C., All-in-one strategy for the fabrication of antimicrobial biomimetic films on stainless steel. *Journal of Materials Chemistry* **2009**, *19* (24), 4117-4125.
30. Fujishima, A.; Rao, T. N.; Tryk, D. A., Titanium dioxide photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* **2000**, *1* (1), 1-21.
31. Paz, Y., Self-assembled monolayers and titanium dioxide: From surface patterning to potential applications. *Beilstein Journal of Nanotechnology* **2011**, *2*, 845-861.

CHAPITRE 5 : Exploitation des propriétés d'ancrage de la polydopamine pour l'élaboration de stents « actifs »

Table des Matières

Introduction	173
 I. Contexte de l'étude	174
I.1. L'athérosclérose	174
I.2. Angioplastie et stenting	175
I.2.1. Généralités	175
I.2.2. Complications post-opératoires	176
I.2.3. Les stents actifs : une solution originale	177
 II. Stratégie de fonctionnalisation de surface pour l'élaboration d'un dispositif permettant la libération prolongée de principes actifs.....	179
II.1. Revêtement du substrat par des polymères bio-inspirés.....	180
II.1.1. Le polymère de cyclodextrine (polyCD)	180
II.1.2. La polydopamine (PDA)	183
II.2. Support métallique à base de CoCr vs NiTiNOL	184
 III. Fonctionnalisation de surfaces en CoCr par greffage d'un polymère « réservoir »... 185	
III.1. Préparation et apprêtage de la surface des échantillons	185
III.2. Fonctionnalisation des surfaces par greffage d'un film adhésif de polydopamine (CoCr-PDA)	186
III.2.1. Optimisation du temps de fonctionnalisation des surfaces par la PDA.....	186
III.2.2. Optimisation du traitement thermique effectué sur les plateformes CoCr-PDA	187
III.3. Fonctionnalisation des plateformes CoCr-PDA par un polymère à base de cyclodextrine (polyCD)	192
III.3.1. Optimisation de la température de polycondensation du polyCD	192
III.3.2. Optimisation du temps de polycondensation du polyCD	193
 IV. Caractérisation des surfaces fonctionnalisées	195
IV.1. Microscopie Electronique à Balayage (MEB)	195
IV.2. Spectroscopie de Photo-électrons X (XPS)	197

IV.3. Evaluations biologiques	198
V. Comportement du revêtement polymère en milieu physiologique.....	199
V.1. Etude de la dégradation du film polymère de polyCD	199
V.2. Etude de la libération d'un médicament : le paclitaxel (PTX)	201
VI. Transposition de la stratégie à un stent métallique en CoCr.....	204
Conclusion	206
Références bibliographiques.....	207

Introduction

Au cours des chapitres précédents, grâce à l'utilisation d'ancres chimiques spécifiques à base de dopamine, différentes stratégies de fonctionnalisation de surfaces à base de titane ont été mises au point et ont permis de mettre en évidence la possibilité de i) greffer des (macro)molécules de manière covalente sur le titane, ii) moduler les propriétés physico-chimiques de ces surfaces, iii) stimuler et/ou recycler ces matériaux par l'intermédiaire d'un stimulus externe. Les travaux développés ci-après ont été réalisés dans un contexte un peu différent puisqu'il s'agira cette fois-ci d'exploiter la polydopamine pour fonctionnaliser des surfaces en CoCr et plus particulièrement des stents en vue de concevoir de nouveaux dispositifs cardio-vasculaires capables de limiter les deux principales complications (resténose et thrombose) rencontrées suite à l'acte chirurgical d'angioplastie réalisé dans le cadre du traitement de l'athérosclérose. Ainsi, comme nous le verrons par la suite, la polydopamine servira à apprêter les surfaces et permettra d'accrocher une matrice polymère à base de cyclodextrine permettant l'adsorption et la libération prolongée de principes actifs.

Cette étude a été réalisée dans une thématique de recherche en chirurgie cardio-vasculaire en collaboration avec le Groupe de Recherche sur les Biomateriaux de l'Université de Lille 2 (INSERM U1008) et avec l'étroite participation d'un chirurgien cardio-vasculaire du CHRU de Lille.

Ainsi, après un bref rappel bibliographique concernant le contexte de cette étude, nous présenterons la stratégie de fonctionnalisation de surface employée pour favoriser l'immobilisation de la plateforme polymère nécessaire au stockage des principes actifs sur le support métallique. Après optimisation du procédé de greffage et caractérisation des surfaces fonctionnalisées, nous analyserons le comportement du revêtement polymère fixé sur le support métallique en milieu physiologique, en réalisant des études de dégradation et de libération de principes actifs. Enfin, la dernière partie de l'étude consistera à transposer le procédé de fonctionnalisation vers un stent vasculaire en CoCr afin d'évaluer, *in vivo*, l'efficacité du dispositif fonctionnalisé dans la problématique de stenting.

I. Contexte de l'étude

I.1. L'athérosclérose

L'athérosclérose est une pathologie artérielle dégénérative pouvant être définie comme une réponse inflammatoire de l'endothélium vasculaire conduisant au développement lent et progressif de plaques d'athéromes principalement constituées de matrices extracellulaires (protéines, glycoprotéines et glycosaminoglycanes), de cellules musculaires lisses et de macrophages remplis de dépôts lipidiques, qui s'infiltrent entre l'endothélium et la couche musculaire de l'artère ¹⁻² (Figure V.113).

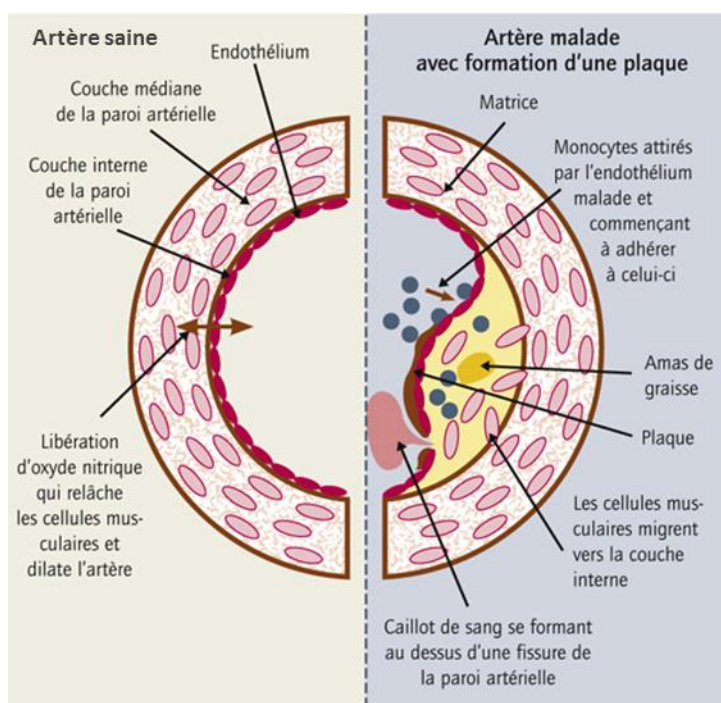


Figure V.113 : Coupe schématique d'une artère saine et d'une artère athéroscléreuse

Bien que le processus de formation des plaques d'athéromes soit extrêmement complexe ²⁻³, un certain nombre de facteurs de risques ont pu être clairement identifiés. Parmi les plus importants nous retrouvons le tabagisme, l'hypercholestérolémie, l'hypertension artérielle, le diabète, la sédentarité ou la surcharge pondérale, l'âge et le sexe du patient. En raison de ces facteurs de risques, l'athérosclérose s'avère un problème majeur de santé publique si bien que les complications cardio-vasculaires qui lui sont associées, représentent la première cause de mortalité dans les pays industrialisés. En effet, la croissance de cette plaque

d'athérosclérose, conduisant à la diminution du diamètre de la lumière artérielle (autrement appelée sténose) (Figure V.114) est préjudiciable lorsqu'elle a lieu au niveau des artères coronaires et peut provoquer, dans les cas les plus graves, le décès du patient.



Figure V.114 : Coupe transversale d'une artère coronarienne présentant une sténose athéroscléreuse sévère

Depuis le milieu des années 1980, nous constatons néanmoins une diminution de la mortalité liée à l'athérosclérose, en raison notamment d'un encadrement thérapeutique amélioré. En effet, la prise en charge du patient est dominée par la nécessité d'établir un diagnostic rapide avec vérification des facteurs de risques. Une stratégie pharmacologique à base d'anti-ischémique, d'anti-coagulant et/ou d'anti-thrombotique peut être proposée et consiste à administrer des médicaments tels que les statines, les anti-agrégants plaquettaires, les héparines, les dérivés nitrés ou encore les inhibiteurs de l'enzyme de conversion ⁴. Ces traitements médicamenteux ont par ailleurs prouvé à de nombreuses reprises leur efficacité en réduisant significativement les risques d'infarctus du myocarde et d'accidents vasculaires cérébraux ⁵⁻⁸. Toutefois, dans le cas de sténose significative symptomatique, un traitement invasif de revascularisation peut être proposé au patient.

I.2. Angioplastie et stenting

I.2.1. Généralités

Au début des années 60, le geste chirurgical permettant la revascularisation artérielle était de deux types : le pontage, pour les artères de petit calibre et la thrombo-endarterectomie pour les artères de taille plus importante. Chacune de ces deux techniques

chirurgicales invasives, aux complications péri-opératoires parfois malheureuses, ont été progressivement remplacées par des méthodes moins invasives. En effet, inspiré par les travaux de Dotter et Judkins⁹, le cardiologue allemand Andreas Grüntzig mit au point dans les années 70, une technique de dilatation par ballonnet, appelée angioplastie, consistant à rompre par éclatement, la plaque d'athérome responsable du rétrécissement de la lumière artérielle¹⁰. Les résultats se sont avérés peu satisfaisants à longs termes avec un taux élevé de complications peri-opératoires (retour élastique, resténose).

Bien que le concept d'un dispositif tubulaire métallique non élastique permettant de maintenir ouverte les artères réfractaires aux méthodes classiques d'angioplastie ait été introduit par Dotter et Judkins en 1964¹¹, ce n'est que dans le milieu des années 80 que le stent (Figure V.115) a commencé à être implanté chez les humains¹².

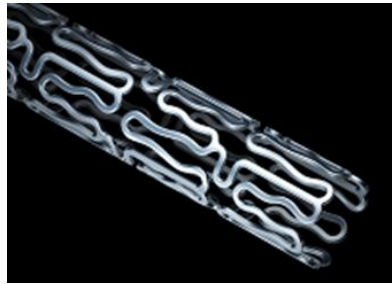


Figure V.115 : Exemple d'un stent en CoCr : le stent Multi-Link Vision de chez Abbott Vascular

Les premières implantations de stents (de type Wallstent) ont été réalisées par les docteurs Sigwart et Puel en 1986. Depuis cette date, ces dispositifs n'ont cessé d'être améliorés et représentent la principale voie dans le cadre du traitement de l'athérosclérose¹³. Plusieurs catégories de stents à base d'alliages métalliques tels que l'acier 316 L, le NiTiNOL ou encore le cobalt-chrome (CoCr) ont ainsi été développées. Malgré leur succès incontesté dans la diminution des risques cardio-vasculaires, deux complications post opératoires sont cependant toujours fréquemment diagnostiquées, à savoir la thrombose précoce et la resténose.

1.2.2. Complications post-opératoires

La thrombose précoce (entre 0 et 30 jours) est un phénomène aux conséquences parfois malheureuses et observé, dans la plupart des cas, 24 heures après l'angioplastie et/ou le stenting. Ce phénomène est essentiellement lié à la procédure chirurgicale en elle-même¹⁴.

En effet, l'effort mécanique subi par la paroi vasculaire lors de l'intervention favorise la perte des cellules endothéliales pouvant conduire progressivement à la formation d'un caillot sanguin. Ce dernier est alors susceptible de bloquer l'irrigation sanguine et ainsi provoquer un dysfonctionnement des divers organes du corps humain.

Le taux de thrombose précoce lié au stenting a considérablement diminué depuis le début des années 90 (de 15-25 % à environ 1 %) notamment en raison de la standardisation du traitement médical par administration d'anti-agrégants plaquettaires ¹⁵.

La resténose intra-stent est un phénomène plus progressif qui intervient plus tardivement que la thrombose. En effet, cette réduction du diamètre interne de la lumière artérielle peut se manifester après six mois suivant l'intervention chirurgicale et touche jusqu'à 40 % des patients ¹⁶⁻¹⁸. Le mécanisme de resténose fait intervenir un remodelage constrictif de l'artère traitée et une réaction de cicatrisation excessive de la paroi artérielle ¹⁹⁻²⁰. L'implantation de stents a permis de régler, de manière mécanique, le problème du phénomène de remodelage constrictif mais n'apporte aucun effet bénéfique sur la prolifération des cellules musculaires lisses et la cicatrisation de l'endothélium ²¹.

1.2.3. Les stents actifs : une solution originale

Dans l'optique de limiter ce phénomène de resténose après implantation du stent, l'administration systémique de molécules thérapeutiques peut être proposée. Deux grandes classes de molécules sont ainsi régulièrement utilisées, à savoir les héparines qui limitent la prolifération des cellules musculaires lisses responsables de la resténose ²² et les statines qui possèdent un caractère anti-inflammatoire et qui peuvent agir simultanément sur les phénomènes de thrombose et de resténose ²³.

Le concept de stents pharmaco « actifs », concept développé récemment, permet la réouverture de la lumière artérielle grâce au support métallique du stent tout en luttant contre la prolifération des cellules musculaires lisses grâce à la délivrance d'un médicament *in situ*. Dans ce contexte, les agents antiprolifératifs et/ou immunosuppresseurs tels que le sirolimus, le paclitaxel, le tacrolimus ou encore l'évérolimus sont les plus régulièrement utilisés. Toutefois, d'autres molécules comme les complexes polysaccharidiques ²⁴, les

facteurs de croissance des cellules vasculaires endothéliales (VEGF)²⁵ ou des peptides²⁶ peuvent être également employées. Le mode d'action de ces molécules consiste à inhiber la prolifération des cellules musculaires lisses et limiter l'inflammation de la paroi artérielle tout en favorisant la réendothélialisation. Actuellement, il existe six stents « actifs » commercialisés chargés en agents antiprolifératifs qui ont obtenu le marquage CE et qui sont susceptibles d'être admissibles au remboursement²⁷. Parmi eux, cinq sont employés dans le cadre de traitement des lésions coronaires (Tableau V.14) et un seul pour le traitement des lésions fémorales superficielles (le stent en NiTiNOL Zilver PTX de Cook Medical, Bloomington, Indiana, USA).

Tableau V.14 : Liste des stents actifs coronaires porteurs du marquage CE et inscrits sur la Liste des Produits et Prestations Remboursables (LPPR)²⁷

Nom commercial	Principe actif	Support métallique	Matrice polymère (réf)	Industriel
Cypher	Sirolimus	Acier 316 L	PEVA/PBMA	Cordis, Johnson & Johnson, Warre, New Jersey, USA
Taxus	Paclitaxel	Acier 316 L	SIBS	Boston Scientifics, Natick, Massachusetts, USA
Endeavor	Zotarolimus	CoCr	Phosphorylcholine	Medtronic, Santa Rosa, Californie, USA
Promus	Everolimus	PtCr	PVDF-HFP/PBMA	Boston Scientifics, Natick, Massachusetts, USA
Xience	Everolimus	CoCr	PVDF-HFP/PBMA	Abbott Vascular, Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, USA

Dans ces dispositifs, les molécules biologiquement actives peuvent être soit directement adsorbées sur le stent métallique (« polymer-free »)²⁸ soit stockées à l'intérieur d'une matrice polymère (DES = Drug Eluting Stent).

Parmi les matrices polymères les plus employées, nous retrouvons des polymères non résorbables à base de polydiméthylsiloxane (PDMS)²⁹, de poly (éthylène-co-vinyl acétate) (PEVA) associé au poly (méthacrylate de *n*-butyle) (PBMA)³⁰ employés pour les stents commercialisés sous le nom de Cypher (Cordis, Jonhson & Johnson, Warren, New Jersey, USA)³¹ ou bien encore des copolymères à blocs styrène isobutylène styrène (SIBS)³² utilisés dans la fabrication des stents de la gamme Taxus (Boston Scientific, Natick, Massachusetts, USA)³³. D'autres matrices résorbables à base de polymères biodégradables comme la phosphorylcholine (cas du stent Endeavor, Medtronic, Santa Rosa, California, USA)³⁴, l'acide poly (lactique) (PLA), l'acide poly (lactique-co-glycolique) (PLGA) ou l'alcool poly (vinylique) (PVA) sont également de plus en plus souvent utilisées dans la conception de stents actifs³⁵⁻

³⁸.

L'ensemble des polymères précités restent tolérés par l'organisme mais ne sont pas entièrement satisfaisants. En effet, malgré des résultats encourageant obtenus avec ces stents « actifs » à l'égard du phénomène de resténose, des taux importants de thrombose tardive sont observés. Ces échecs sont probablement attribuables au retour du stent dans son état métallique après libération de l'espèce antiproliférative, engendrant un effet inflammatoire local qui aboutit à la thrombose tardive ³⁹. Par conséquent, la mise au point d'une nouvelle génération de stents actifs, capables de libérer de manière prolongée des principes actifs tout en limitant le phénomène inflammatoire et favorisant la cicatrisation artérielle, constitue un enjeu majeur dans la lutte contre les maladies cardio-vasculaires.

II. Stratégie de fonctionnalisation de surface pour l'élaboration d'un dispositif permettant la libération prolongée de principes actifs

La stratégie présentée dans cette étude consiste à utiliser une méthode de fonctionnalisation de surface simple, souple et efficace permettant l'élaboration de stents métalliques capables de libérer des médicaments de manière prolongée. Elle consiste plus particulièrement à exploiter les excellentes propriétés adhésives de la polydopamine (PDA) afin de greffer à la surface du stent un polymère « réservoir » à base de cyclodextrine capable de stocker et de libérer au cours du temps une molécule d'intérêt thérapeutique (Figure V.116). Ce polymère, dont la mise en œuvre a été décrite et brevetée par Martel *et al.* ⁴⁰, sera élaboré *in situ* par imprégnation du stent fonctionnalisé par la polydopamine dans une solution contenant les cyclodextrines, un agent réticulant (acide citrique) et un catalyseur de polymérisation (NaH_2PO_2).

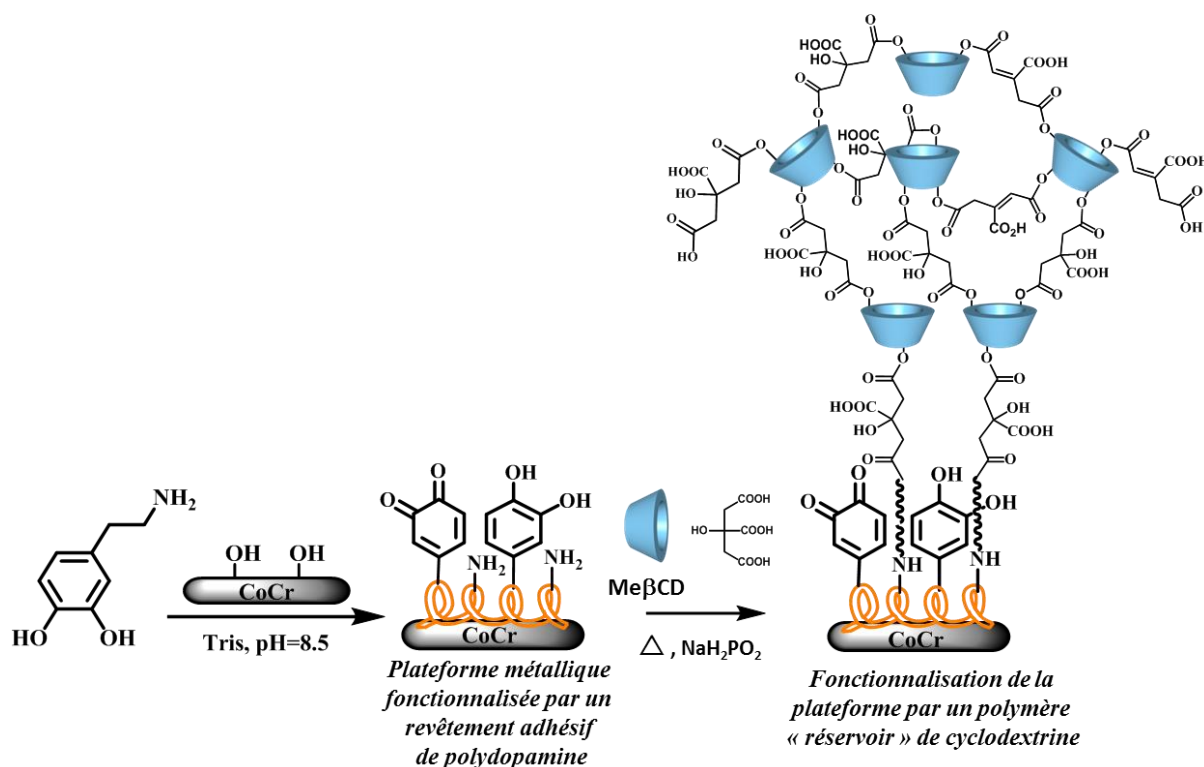


Figure V.116 : Stratégie employée pour la fonctionnalisation de dispositifs endovasculaires à l'aide d'un polymère « réservoir » à base de cyclodextrine aux propriétés complexantes

II.1. Revêtement du substrat par des polymères bio-inspirés

II.1.1. Le polymère de cyclodextrine (polyCD)

Les cyclodextrines (CDs) sont des oligosaccharides cycliques issus de la dégradation enzymatique de l'amidon. Elles sont formées d'une répétition d'unités glucopyranoses ($n = 6$ à 12) reliées entre elles par des liaisons α -1,4. Les principales cyclodextrines, dites natives, sont l' α CD, la β CD et la γ CD qui sont constituées de 6, 7 et 8 unités glucosidiques respectivement (Figure V.117). Ces CDs natives peuvent également être modifiées chimiquement par substitution de leurs fonctions hydroxyles primaires et/ou secondaires pour conduire à la formation de dérivés de cyclodextrines tels que la 2-hydroxypropyl- β CD⁴¹ ou la méthyl- β CD⁴².

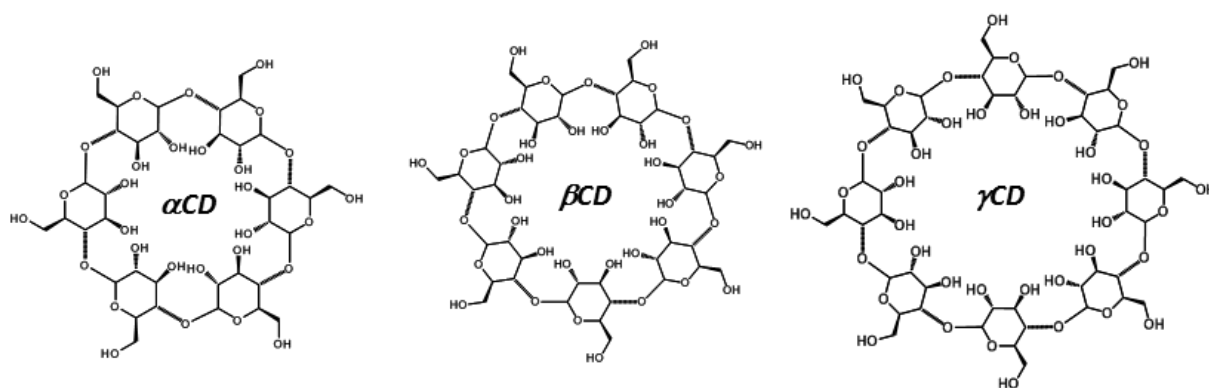


Figure V.117 : Représentation des formules semi-développées des α , β et γ CDs

La structure tridimensionnelle des CDs s'apparente à une molécule cage qui a la particularité de présenter une cavité interne hydrophobe et une enveloppe extérieure hydrophile ⁴³⁻⁴⁴. Cette structure spécifique permet ainsi aux CDs de former des complexes d'inclusion réversibles avec un grand nombre de molécules organiques hydrophobes ^{43, 45} (Figure V.118). Grâce à leur cytocompatibilité, ces oligosaccharides sont ainsi fréquemment utilisés pour leurs propriétés d'encapsulation avec des molécules d'intérêt thérapeutiques ⁴⁶ et constituent un outil idéal dans le cadre d'un système de libération prolongée de principes actifs à usage médical.

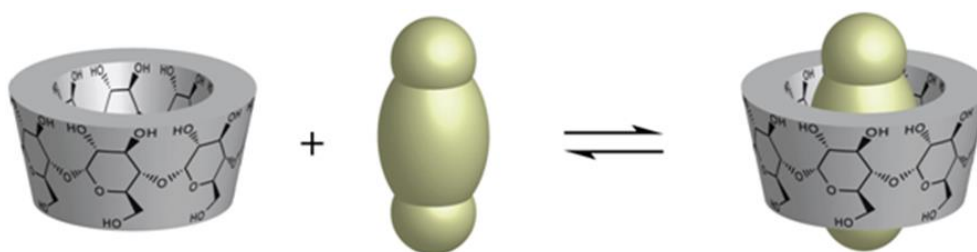


Figure V.118 : Mise en évidence de la structure tridimensionnelle des CDs permettant la formation de complexes d'inclusion réversibles

Récemment, l'équipe du professeur Bernard Martel a développé une approche originale qui consiste à greffer un polymère de cyclodextrine (polyCD) sur divers biomatériaux tels que des prothèses textiles vasculaires en polyéthylène téréphtalate (PET) ⁴⁷, de l'hydroxyapatite poreuse ⁴⁸ ou encore des membranes en polyfluorure de vinylidène (PVDF) utilisées pour la régénération tissulaire ⁴⁹⁻⁵⁰. Ce procédé breveté ⁴⁰ consiste à greffer le polymère de cyclodextrine sur le support à travers des interactions physiques et à exploiter les propriétés d'encapsulation des CDs pour le stockage et/ou la libération de principe(s)

actif(s). Plus particulièrement, l'élaboration du polymère repose sur une réaction de polyesterification entre les fonctions hydroxyles des CDs et des acides polycarboxyliques aboutissant à la formation d'un réseau réticulé de cyclodextrines. Sous l'action de la chaleur et en présence d'un catalyseur (hypophosphite de sodium, NaH_2PO_2), l'acide polycarboxylique va tout d'abord se déshydrater et former un anhydride cyclique qui va réagir avec une fonction hydroxyle de la cyclodextrine. Cette première réaction va ainsi donner lieu à la formation d'un ester d'une part et à la génération d'une fonction acide carboxylique d'autre part, pouvant elle-même réagir de la même manière, avec une fonction hydroxyle d'une nouvelle cyclodextrine *via* la formation d'un nouvel anhydride. Le mécanisme va pouvoir alors être répété de telle sorte à concevoir un réseau tridimensionnel réticulé formé de cyclodextrines et de fonctions acides carboxyliques (provenant des acides polycarboxyliques n'ayant pas réagis) (Figure V.119).

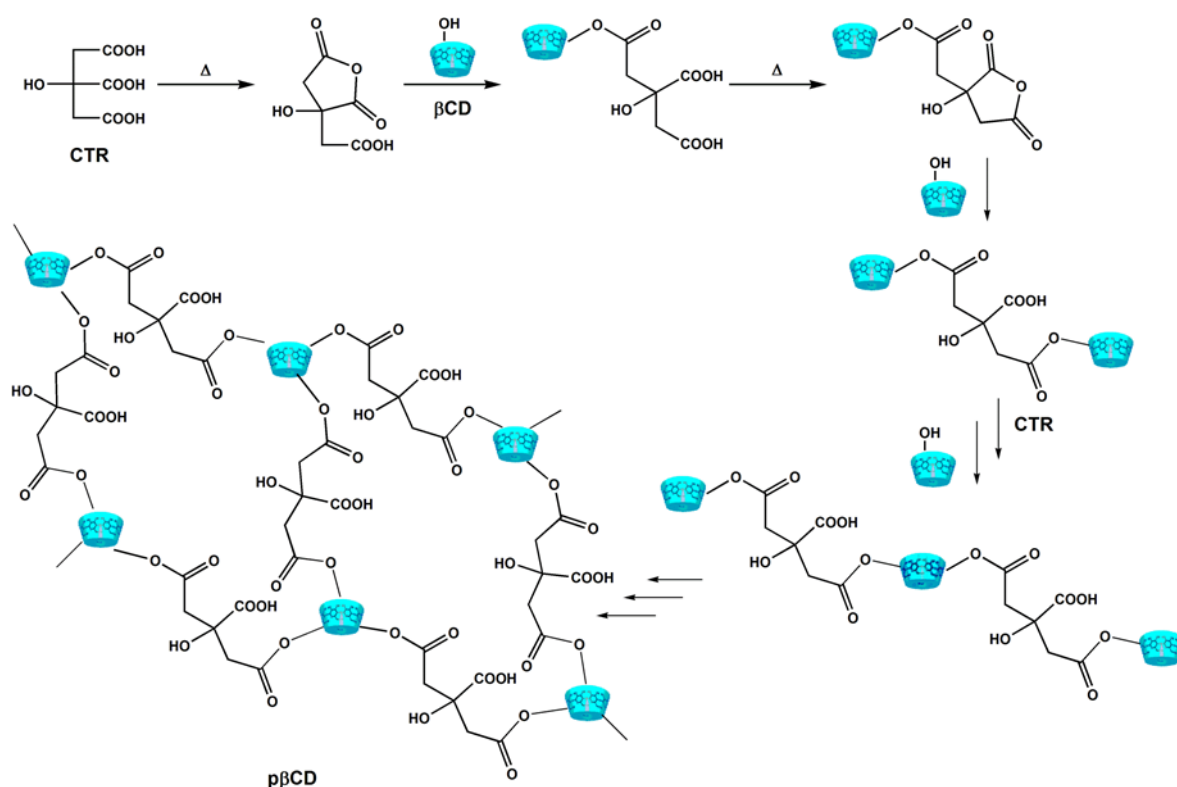


Figure V.119 : Mécanisme de formation du polymère de cyclodextrine suite à une réaction de polyesterification entre la β -cyclodextrine et l'acide citrique

La nature du polycondensat obtenu peut être contrôlée par différents paramètres : la température, le temps de traitement thermique et la concentration en réactifs (ratio entre l'acide polycarboxylique, le catalyseur et la cyclodextrine). Par exemple, les travaux de Taha

et al. ont permis de mettre en évidence un ratio optimal de 10/3/10 (pour l'acide citrique, l'hypophosphite de sodium et la méthyl- β -cyclodextrine respectivement) pour la fonctionnalisation de prothèses de hanche à base de titane recouvert d'hydroxyapatite, par un polymère de cyclodextrine agissant en tant que système à libération de principes actifs ⁵¹. La méthyl- β -cyclodextrine a été sélectionnée dans cette étude en raison d'une meilleure constante de complexation avec les principes actifs par rapport aux autres CDs, permettant ainsi une cinétique de libération prolongée des médicaments ⁵¹. Dans ce cas, le substrat en titane était préalablement modifié par une couche d'hydroxyapatite poreuse favorisant le greffage physique du polymère de cyclodextrine sur la surface métallique.

Le défi majeur de notre étude consiste à transposer cette approche à la fonctionnalisation de surfaces métalliques non poreuses (finition dite « miroir ») afin de greffer de manière robuste le polymère de cyclodextrine.

II.1.2. La polydopamine (PDA)

En 2007, inspiré par la composition des protéines adhésives des moules marinières, l'équipe de Messersmith a développé une approche biomimétique permettant la fonctionnalisation d'une large gamme de biomatériaux tels que l'acier inoxydable 316 L, le titane ou le cobalt-chrome par greffage d'une couche hautement adhésive de polydopamine ⁵²⁻⁵³. Le polymère de PDA, aux propriétés adhésives remarquables ⁵², a fréquemment été utilisé dans le domaine biomédical pour l'immobilisation de diverses biomolécules telles que la sélénocystamine ⁵⁴, l'héparine ⁵⁵ ou des facteurs de croissance endothéliale (VEGF : vascular endothelial growth factor) ⁵⁶⁻⁵⁸, sur des surfaces métalliques. En effet, ce polymère multifonctionnel contient des fonctions amines qui peuvent être engagées dans des réactions de couplage ⁵⁷ et possède une réactivité latente qui lui permet d'être facilement fonctionnalisé par des molécules contenant des fonctions amines ou thiols à travers une réaction d'addition de type Michaël sur les fonctions quinones du polymère de PDA ^{54, 56}.

De plus, il a récemment été montré que la polydopamine greffée sur des stents en acier inoxydable 316 L permet d'améliorer la prolifération des cellules endothéliales alors qu'elle limite la prolifération des cellules musculaires lisses ⁵⁹⁻⁶⁰. Ces résultats prometteurs suggèrent

donc que la PDA pourrait jouer un rôle majeur dans la modification d'implants vasculaires. Les travaux de Bae ⁶¹ *et al.* concernant la fonctionnalisation de stents vasculaires ont également montré une amélioration de la résistance de l'implant à la thrombose par greffage d'une héparine modifiée par des motifs dopamine. De la même manière, l'équipe de Huang a récemment immobilisé de l'héparine sur des stents en acier inoxydable 316 L fonctionnalisés par la polydopamine et ont notamment démontré une excellente compatibilité du revêtement avec les tissus biologiques ⁶². Enfin, le revêtement de PDA montre une bonne compliance lors des phases d'expansion et /ou de rétraction du stent ⁵⁹⁻⁶⁰.

Au vue de ces excellentes propriétés, la polydopamine a été choisie afin de favoriser l'interaction du polymère de cyclodextrine avec l'implant métallique. En effet, nous pouvons émettre l'hypothèse que les fonctions amines de la polydopamine peuvent se lier, de manière covalente ou à travers la formation de liaisons ioniques, aux fonctions acides carboxyliques du polymère de cyclodextrine (Figure V.116).

II.2. Support métallique à base de CoCr vs NiTiNOL

La première partie du travail a consisté à adapter le procédé de fonctionnalisation décrit par Taha *et al.* (par greffage préalable d'une couche de PDA) sur des surfaces de titane identiques à celles utilisées dans les chapitres précédents afin d'étudier la capacité du revêtement polymère à base de cyclodextrine à agir en tant que système de libération prolongée de principes actifs. Très rapidement, le procédé a été transféré sur des stents vasculaires en alliage de titane NiTiNOL (composé de 51 % de titane et 49 % de nickel) à mémoire de forme. Pour cela, l'implant métallique a été fonctionnalisé par la polydopamine puis a été imprégné dans une solution contenant de l'acide citrique, l'hypophosphite de sodium (catalyseur) et la cyclodextrine en proportion 10/3/10. Après traitement thermique servant à réaliser la réaction de polycondensation du polymère de cyclodextrine (voir détails ci-après), le stent NiTiNOL à mémoire de forme résultant de ce procédé de fonctionnalisation s'est avéré totalement dénaturé, indéformable et cassant. Cette méthode de fonctionnalisation n'est donc pas transposable vers ce type d'alliage. Nous avons donc décidé de travailler directement sur des matériaux en cobalt-chrome (CoCr).

En effet, en raison de leurs excellentes résistances à la corrosion, les alliages à base de cobalt-chrome sont également très utilisés dans le domaine médical, que ce soit dans la conception d'implants dentaires, orthopédiques ou cardio-vasculaires ⁶³. Généralement ces alliages sont constitués de cobalt et de chrome en proportion majoritaire puis d'autres éléments comme le nickel, le molybdène, le tungstène voire le silicium ou le manganèse pour moduler leurs propriétés mécaniques, la résistance à la corrosion, à la fatigue et également la biocompatibilité de l'alliage métallique. Dans le domaine cardio-vasculaire, depuis les années 2000, l'utilisation des stents en CoCr a significativement augmenté ⁶⁴. En effet, grâce à un module d'élasticité (230-250 GPa) supérieur à celui de l'acier 316 L (190-210 GPa) et leur compatibilité avec l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), les dispositifs en CoCr sont devenus le matériau de choix pour la conception de stents expansibles sur ballonnets.

Pour des raisons principalement économiques, l'ensemble des études préliminaires décrites au cours de ce chapitre seront réalisées sur des pastilles circulaires en cobalt-chrome et non directement sur les stents métalliques (1 unité ≈ 1000 €).

III. Fonctionnalisation de surfaces en CoCr par greffage d'un polymère « réservoir »

III.1. Préparation et apprêtage de la surface des échantillons

De même que pour les études précédentes, la forme, les dimensions et l'état de surface des échantillons à base de CoCr doivent d'être parfaitement identiques afin d'obtenir des résultats comparables. Des pastilles circulaires ($\varnothing = 14,5$ mm, $h = 3$ mm) d'alliage de cobalt-chrome (composition : Co 66,00%, Cr 27,34%, Mo 5,19%, Mn 0,56%, Si 0,39%) subissent ainsi un polissage mécanique afin d'obtenir un état de surface miroir. Les échantillons sont ensuite rincés à l'eau distillée, à l'acétone et à l'éthanol afin de se débarrasser des résidus issus du polissage.

Contrairement aux matériaux à base de titane, les alliages de cobalt et de chrome sont plus difficilement oxydables en raison notamment de leurs excellentes propriétés physiques (résistance à la corrosion). Il est néanmoins possible d'oxyder ces surfaces afin de disposer de

fonctions hydroxyles nécessaires au greffage des polymères sur le substrat. Pour ce faire, les échantillons sont immergés dans une solution oxydante « piranha » constituée d'un mélange riche en acide sulfurique ($\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ 7:3 v/v) pendant une durée de 60 h⁶⁵. Après oxydation, les pastilles sont abondamment rincées sous ultrasons à l'eau distillée, à l'acétone et à l'éthanol (4 x 30 min chacun).

III.2. Fonctionnalisation des surfaces par greffage d'un film adhésif de polydopamine (CoCr-PDA)

Le revêtement de polydopamine servant à favoriser l'interaction du polymère réservoir avec les substrats en CoCr est généré par immersion des échantillons précédemment oxydés dans une solution tamponnée de dopamine (2 mg.mL⁻¹ Tris à une concentration de 10 mM) dont le pH est ajusté à 8,5 par l'intermédiaire d'une solution de soude à 0,1 M. La fonctionnalisation des substrats par la PDA s'opère par simple dip-coating à température ambiante, sous agitation et en présence d'oxygène. Après modification des surfaces, les échantillons sont abondamment rincés à l'eau distillée et à l'éthanol puis sont séchés sous courant d'azote.

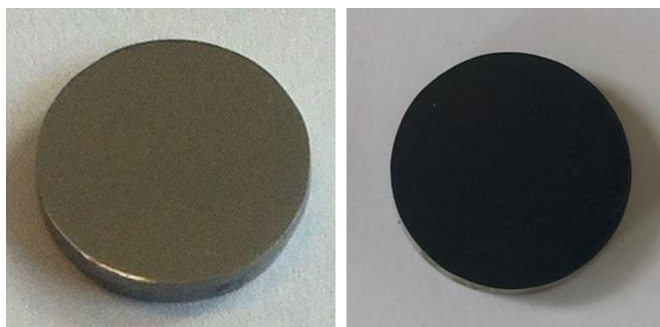


Figure V.120 : Photographies de pastilles de CoCr avant (gauche) et après fonctionnalisation par la polydopamine (droite)

III.2.1. Optimisation du temps de fonctionnalisation des surfaces par la PDA

Le film de polydopamine résultant du greffage contient des fonctions amines nécessaires au greffage ultérieur du polymère de cyclodextrine⁵⁷. Ces fonctions peuvent être quantifiées par spectrophotométrie UV-visible en utilisant une méthode colorimétrique⁶⁶⁻⁶⁷.

L'influence du temps d'imprégnation (1 h et 16 h) sur la quantité de fonctions amines présentes sur la surface des échantillons a été mise en évidence par un dosage à 485 nm à l'Acide Orange II (AO), colorant chargé négativement capable d'interagir avec les fonctions amines de la PDA (Figure V.121).

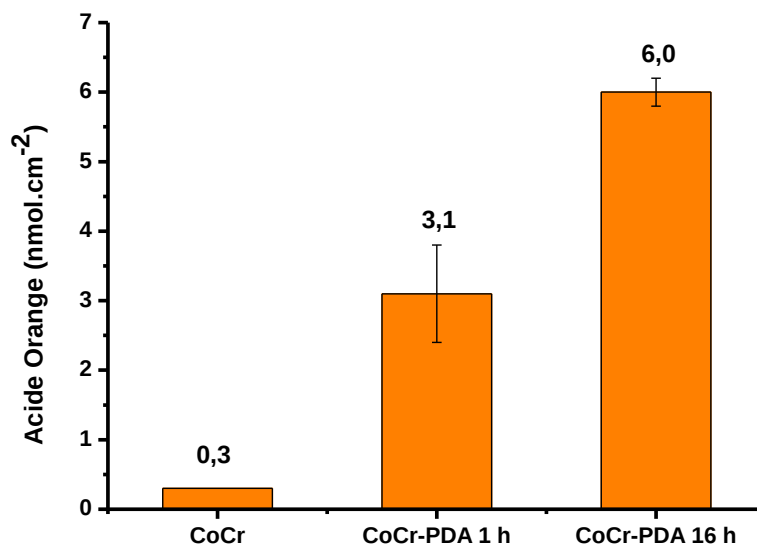


Figure V.121 : Mise en évidence, par dosage colorimétrique à l'AO, de l'influence du temps d'immersion des surfaces de CoCr dans une solution de polydopamine sur la quantité de fonctions amines formées

Comme attendu, la quantité de fonctions amines augmente en fonction du temps d'imprégnation, ce qui est en accord avec la formation d'un film de polydopamine de plus en plus dense à la surface des échantillons ⁶⁸. En effet, après 1 h d'imprégnation dans la solution de dopamine, la quantité de fonctions amines est de 3,1 nmol.cm⁻² puis atteint 6 nmol.cm⁻² après 16 h d'immersion, indiquant un taux de recouvrement élevé en polydopamine. Nous pouvons noter que ces valeurs sont 2 à 3 fois plus importantes que celles obtenues lors de la fonctionnalisation de surfaces de titane ou d'acier inoxydable et peuvent être attribuées à la présence d'un film polymère plus épais dans le cas des surfaces de CoCr ⁵⁷.

Ainsi, le temps optimal de fonctionnalisation des surfaces de CoCr par la polydopamine a donc été fixé à 16 h.

III.2.2. Optimisation du traitement thermique effectué sur les plateformes CoCr-PDA

Récemment, il a été démontré qu'un traitement thermique du film de polydopamine permettrait d'améliorer la cytocompatibilité du revêtement polymère ⁵⁹. Ces résultats ont été

attribués à la formation d'un film de PDA riche en groupements quinones améliorant les propriétés biologiques des matériaux. Ainsi, inspirés par les travaux de Luo *et al.*, les plateformes CoCr-PDA ont subi un traitement thermique à 150°C pendant 1 heure dans l'optique d'élaborer des dispositifs aux propriétés biologiques optimales. Toutefois, un tel procédé thermique semble engendrer une réorganisation structurale de la PDA par l'intermédiaire de cyclisations intramoléculaires conduisant à la formation de dérivés indoles ⁶⁹ (voir chapitre 1) et réduire la quantité de fonctions amines disponibles en surfaces nécessaires pour le greffage du polyCD. Afin de s'assurer de la présence de fonctions amines après recuit des films de PDA, un dosage colorimétrique à l'Acide Orange II a été effectué sur les plateformes CoCr-PDA ayant subi le traitement thermique (Figure V.122).

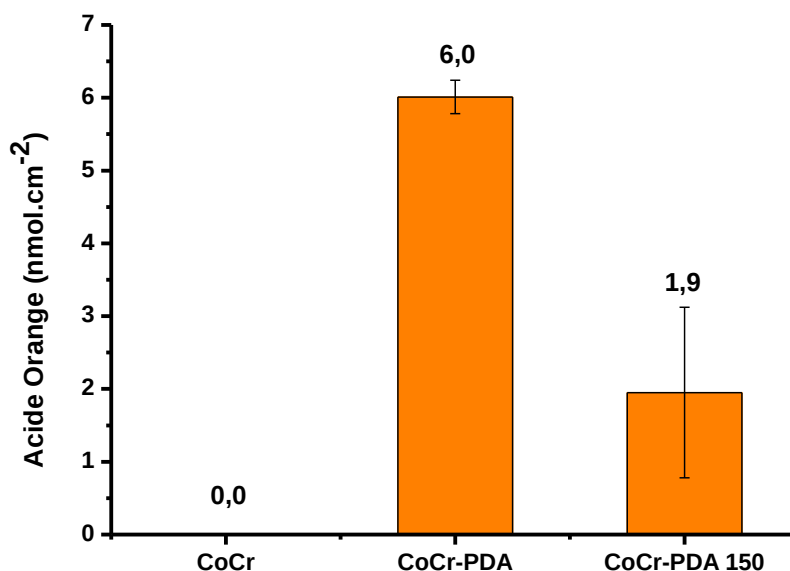


Figure V.122 : Mise en évidence, par dosage colorimétrique à l'AO, de l'influence du traitement thermique sur la quantité de fonctions amines disponibles sur les plateformes CoCr-PDA

La Figure V.122 montre que la quantité de fonctions amines est divisée par 3 après traitement thermique (diminution de 6 à 1,9 nmol.cm⁻²) confirmant d'une part une réorganisation de la PDA sur la surface du substrat et d'autre part, la présence de fonctions amines restant disponibles pour les interactions avec le polyCD.

Dans la suite de l'étude, le polyCD a été immobilisé sur les supports afin d'évaluer l'effet de la température de recuit du film de PDA sur la fixation du polymère réservoir. Nous avons ainsi étudié l'influence de quatre températures de recuit (150, 160, 170 et 180°C) sur la quantité de polyCD immobilisé sur les plateformes CoCr-PDA.

Dans un premier temps, les paramètres de fonctionnalisation des plateformes CoCr-PDA par le polymère de cyclodextrine ont été fixés à partir de résultats optimisés par Taha et al. (ratio Me β CD/NaH₂PO₂/CTR : 10/3/10 ; séchage à 90°C pendant 30 min puis réaction de polycondensation à 150°C pendant 30 min)⁷⁰ puis feront ensuite l'objet d'une optimisation (partie III.3.).

L'impact de la température de recuit sur la quantité de polyCD greffée en surface a été évalué par des dosages colorimétriques au Toluidine Blue O (TBO) (Figure V.123). En effet, le TBO est un colorant cationique qui permet de doser efficacement les fonctions acides carboxyliques résultantes de la réaction de polycondensation (Figure V.119) et donc indirectement la quantité de polyCD immobilisé sur la surface de CoCr. Il est à noter que la molécule de TBO est également capable de former des complexes d'inclusions avec les cavités hydrophobes des cyclodextrines⁷¹.

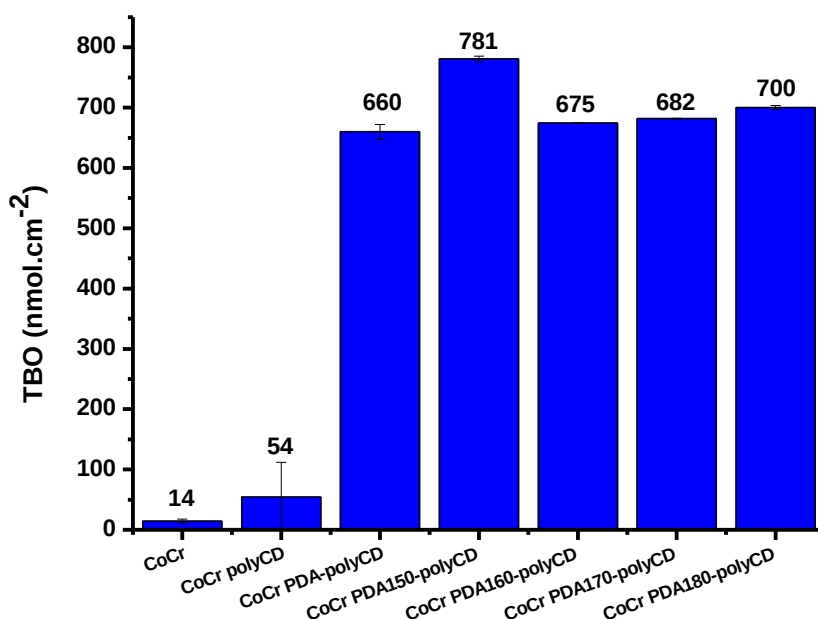


Figure V.123 : Mise en évidence, par dosage colorimétrique au TBO, de l'influence de la température de recuit des films de PDA sur la quantité de polyCD immobilisé sur les plateformes CoCr-PDA

Nous remarquons tout d'abord que la quantité de TBO adsorbée sur les surfaces de CoCr augmente considérablement lorsque le subjectile est apprêté par un film de PDA (54 à 660 nmol.cm⁻²) ce qui souligne le rôle joué par le film adhésif de polydopamine dans l'accroche du polymère de cyclodextrine sur les surfaces. Une faible quantité de polyCD a toutefois été détectée dans le cas du CoCr non modifiée (54 nmol.cm⁻²) mais le revêtement s'est avéré non

homogène visuellement, suggérant une adsorption physique du polymère sur l'échantillon. Concernant les plateformes CoCr-PDA, nous constatons que la quantité de polyCD greffée sur les substrats n'augmente que très légèrement après recuit avec un maximum à 150°C, suggérant que le traitement thermique n'a pas d'influence notable sur l'efficacité du greffage du polyCD.

Néanmoins, les échantillons pour lesquels un recuit du film de PDA a été appliqué ont affiché un revêtement de polyCD beaucoup plus stable en milieu physiologique que ceux n'ayant subi aucun traitement thermique. En effet après 6 jours d'immersion dans le PBS, aucune dégradation du film de polyCD n'est observé visuellement dans le cas des échantillons ayant subi un recuit alors qu'un éclatement du film polymère est constaté pour les échantillons n'ayant pas été traités thermiquement (Figure V.124). Ces résultats pourraient être attribués à la réorganisation du film de PDA pendant le traitement thermique donnant lieu à un réseau polymère plus réticulé et assurant ainsi une meilleure fixation du polyCD sur le substrat.



Figure V.124 : Photographies des pastilles fonctionnalisées avec la PDA et le polyCD après 6 jours dans le PBS : (gauche) le film PDA a été recuit à 150°C pendant 1h et (droite) le film PDA n'a subi aucun traitement thermique

Afin de confirmer ces observations, des cinétiques de libération d'une molécule modèle adsorbée sur les surfaces fonctionnalisées ont été réalisées. Dans ce cadre, le TBO est une molécule de choix puisqu'elle permet d'évaluer la cinétique de libération des films de polyCD par simple dosage UV. Les résultats des mesures, qui ont été effectuées dans le PBS sur l'ensemble des échantillons étudiés précédemment, sont répertoriés dans la Figure V.125.

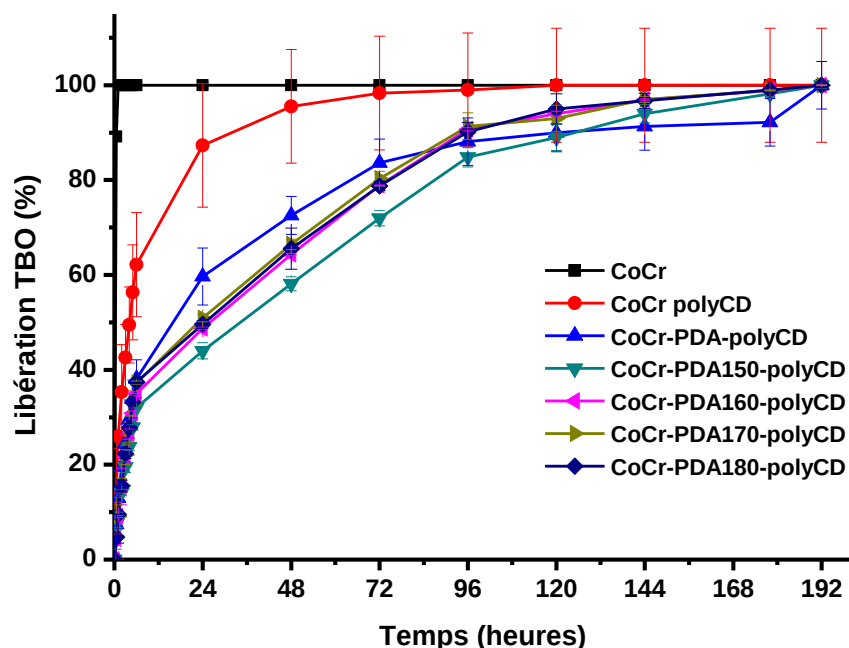


Figure V.125 : Influence du revêtement de PDA et de la température de recuit des films sur la cinétique de libération du TBO adsorbé sur les surfaces de CoCr fonctionnalisées

Tout d'abord, nous pouvons clairement observer que les échantillons fonctionnalisés sans couche de PDA possèdent une cinétique de libération rapide du TBO (presque 90 % à 24 h). Comme évoqué précédemment, ce phénomène est dû à une dégradation rapide du polyCD simplement physisorbé sur la surface métallique. Le traitement des surfaces par le film de polydopamine permet d'augmenter considérablement ce temps de libération, en particulier après traitement thermique à 150°C, puisque 90 % du TBO adsorbé n'est libéré qu'après une centaine d'heures d'immersion dans le PBS. Malgré des profils de libération très proches pour les plateformes CoCr-PDA ayant subi ou non le traitement thermique, nous avons opté pour le recuit du film de PDA afin d'assurer un greffage optimal du polyCD et sa stabilité en milieu physiologique. Au vu des observations et résultats précédents (profils d'adsorption et de libération), nous avons ainsi considéré que le recuit de la PDA à 150°C était le meilleur compromis entre la quantité de TBO adsorbé et la durée de libération de principe actif.

En conclusion de cette étude d'optimisation, la fonctionnalisation des surfaces de CoCr par la polydopamine s'effectuera pour toute la suite de l'étude par immersion des échantillons dans une solution tamponnée de dopamine à 2mg.mL^{-1} (pH = 8,5) pendant 16 h puis sera suivie d'un traitement thermique à 150°C pendant 1 h.

III.3. Fonctionnalisation des plateformes CoCr-PDA par un polymère à base de cyclodextrine (polyCD)

Après avoir démontré que le revêtement adhésif de polydopamine était essentiel pour greffer le polymère de cyclodextrine sur les surfaces métalliques, la suite de cette étude a consisté à optimiser les conditions de polycondensation du polymère de cyclodextrine telles que la température et le temps de polymérisation.

III.3.1. Optimisation de la température de polycondensation du polyCD

Nous avons dans un premier temps étudié l'influence de la température (140, 150 et 160°C) de polycondensation du polyCD sur la quantité de TBO greffée à la surface du CoCr et sur les cinétiques de libération de la molécule de TBO (Figure V.126).

Pour ce faire, les plateformes CoCr-PDA sont tout d'abord immergées pendant 10 minutes à 37°C et sous agitation, dans une solution contenant un mélange de Me β CD/NaH $_2$ PO $_2$ /CTR avec un ratio 10/3/10 (g/100 mL d'eau ultrapure) (phase d'imprégnation). Les échantillons sont ensuite séchés à 90°C pendant 30 minutes (phase de séchage) dans une étuve ventilée avant d'être soumis au traitement thermique servant à réaliser la réaction de polycondensation du polyCD. Pour cette étude, nous avons fixé arbitrairement le temps de réaction à 30 minutes⁷⁰. Ce dernier paramètre fera l'objet d'une étude plus approfondie par la suite. Après fonctionnalisation, les surfaces sont rincées abondamment à l'eau distillée afin d'éliminer l'excès de polyCD non immobilisé sur le support (agitation magnétique, 80 rpm, H $_2$ O, 3 x 5 minutes).

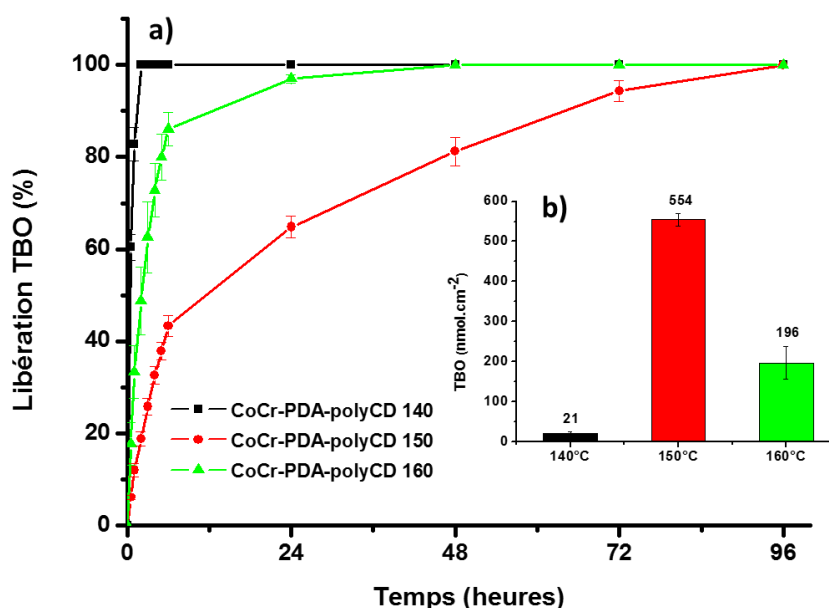


Figure V.126 : Influence de la température de polycondensation du polyCD sur la cinétique de libération du TBO (a) et sur la quantité de TBO adsorbée sur le substrat (b) (temps de polycondensation fixé à 30 minutes)

Les résultats permettent de mettre en évidence un greffage optimal du polymère de cyclodextrine lorsque la température de polycondensation est de 150°C (Figure V.126, b) ainsi qu'une cinétique de libération prolongée (Figure V.126, a). En effet, la quantité de TBO adsorbée à cette température est beaucoup plus importante (554 nmol.cm⁻²) et la durée de libération du TBO étendue à 4 jours. Ces différences de comportement peuvent s'expliquer par la variation du degré de réticulation du polymère en fonction de la température. En effet, à 140°C, la température n'est pas suffisante pour permettre la réticulation du polyCD. Au contraire, à 160°C, le degré de réticulation est sans doute trop élevé ce qui rend les cavités des cyclodextrines moins disponibles et par ailleurs, on peut considérer qu'un nombre important de fonctions acides carboxyliques est consommé pour former le réseau polymère ⁷². Ainsi, la température de 150°C constitue le bon compromis entre quantité de polyCD greffé et cinétique de libération.

III.3.2. Optimisation du temps de polycondensation du polyCD

Suite à l'étude précédente, nous avons fixé la température de polycondensation du polyCD à 150°C et étudié l'influence du temps du traitement thermique sur la quantité de

polyCD greffé et sur les cinétiques de libération associées. Pour cela, quatre temps de polycondensation ont été évalués (20, 30, 45 et 60 minutes) (Figure V.127).

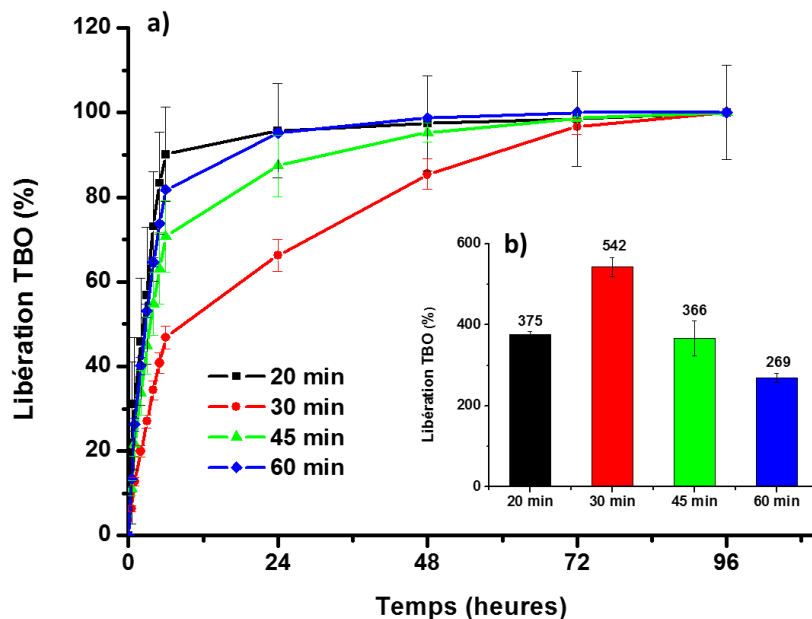


Figure V.127 : Influence du temps de polycondensation du polyCD sur la cinétique de libération du TBO (a) et sur la quantité de TBO adsorbée sur le substrat (b) (température de polycondensation fixée à 150°C)

Il ressort de l'analyse des données répertoriées dans la Figure V.127 que la durée optimale de polycondensation est de 30 minutes avec une quantité maximale de TBO adsorbée par le polyCD de 542 nmol.cm⁻² (Figure V.127, b). Les profils de libération confirment cette tendance dans la mesure où le traitement thermique de 30 minutes permet une élution du TBO qui s'étend sur plus de 100 heures alors qu'une durée de libération plus courte est observée pour les autres temps (Figure V.127, a). Ces résultats sont en accord avec ceux observés précédemment et peuvent être également reliés au degré de réticulation du polymère. En effet, dès que la durée du traitement thermique est insuffisante (20 min, faible réticulation) ou au contraire excessive (60 min, forte réticulation), l'adsorption de TBO est plus faible et les cinétiques de libération plus courtes.

Il est à noter que pour l'ensemble des courbes décrivant les cinétiques de libération de la molécule de TBO, deux phases bien distinctes sont observées : une première phase de libération rapide (« burst ») suivie d'une seconde beaucoup plus lente.

- La première phase de désorption des molécules de TBO est probablement due à une compétition entre les ions présents dans le milieu PBS et le TBO avec les fonctions acides carboxyliques présentes au sein du réseau polymère.
- La seconde phase de libération, plus lente, est attribuée à la libération des molécules de TBO immobilisées dans le réseau polymère par l'intermédiaire de complexes d'inclusion avec les cavités hydrophobes des cyclodextrines ⁷¹.

Suite à cette étude d'optimisation, une température de polycondensation de 150°C pendant une période de 30 minutes s'est avérée un bon compromis pour greffer des quantités substantielles de polyCD sur les plateformes CoCr-PDA tout en gardant un profil de libération prolongé.

En conclusion, nous avons fonctionnalisé des surfaces de CoCr à l'aide d'un polymère réservoir à base de cyclodextrine en exploitant les excellentes propriétés d'ancrage de la polydopamine. Les études d'optimisation du greffage de ces polymères ont permis de mettre en évidence de hautes densités de greffage en polyCD et des profils de libération prolongés.

IV. Caractérisation des surfaces fonctionnalisées

Après avoir optimisé le greffage des films de polyCD sur la surface des échantillons de CoCr, les substrats fonctionnalisés ont fait l'objet de caractérisations physico-chimiques de surface.

IV.1. Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

Nous avons tout d'abord analysé, par microscopie électronique à balayage, la morphologie des couches de PDA et de PDA-polyCD formées sur la surface métallique. Les images MEB confirment le greffage de la polydopamine sur les substrats dans la mesure où une couche homogène et très dense de polymère est observée (Figure V.128, gauche). Quelques particules sont cependant visibles sur le film et peuvent être attribuées à la formation de particules de polydopamine lors du processus de réticulation du polymère ⁷³. Par ailleurs, ces particules peuvent être éliminées par rinçage aux ultrasons. Une rayure

réalisée sur la plateforme CoCr-PDA à l'aide d'une pointe en téflon a permis de mettre en évidence une couche dense et épaisse de PDA à la surface de l'échantillon puisqu'un film d'une épaisseur d'environ 70 nm a pu être estimé. Une analyse du revêtement de polydopamine a également été réalisée par ellipsométrie et a permis de mesurer un film polymère d'une épaisseur de $86 \pm 0,5$ nm, confirmant ainsi les résultats obtenus par microscopie électronique. Nous pouvons noter que l'épaisseur de la couche de PDA obtenue dans notre cas sur CoCr est légèrement plus importante que les valeurs obtenues dans le cadre de la fonctionnalisation de surfaces à base de silicium⁵². Cette différence peut s'expliquer par le procédé d'oxydation du CoCr et par le recuit imposé au film de PDA qui sont deux facteurs tendant à favoriser les interactions entre les catéchols de la polydopamine et la surface de l'échantillon.

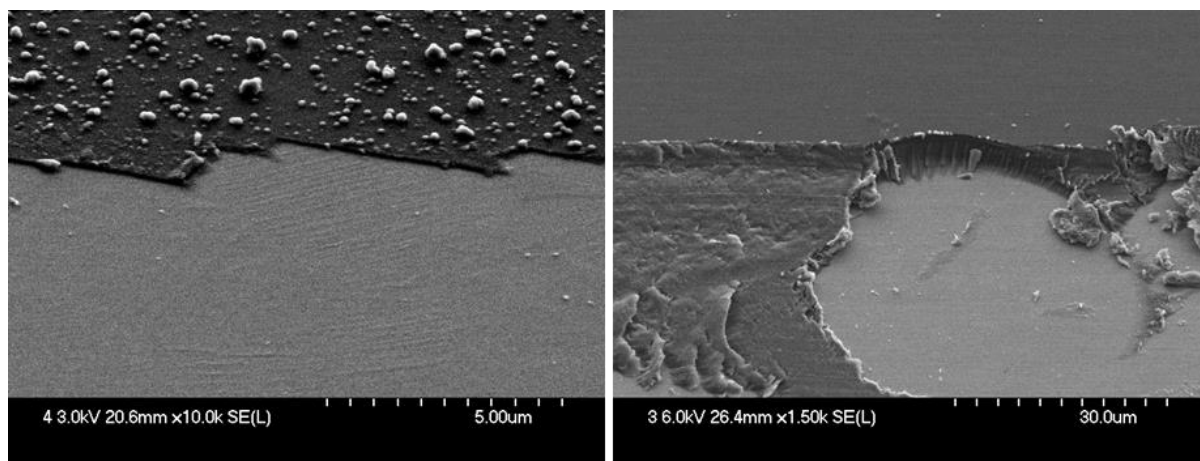


Figure V.128 : Clichés MEB d'une surface de CoCr-PDA (gauche) et de CoCr-PDA-polyCD (droite)

Concernant les surfaces CoCr-PDA-polyCD fonctionnalisées par le polymère de cyclodextrine, les images MEB montrent une couche dense et extrêmement homogène de polymère sur la surface (Figure V.128, droite). De la même manière que précédemment, à partir de ces images MEB, un film d'une épaisseur de $5,7 \mu\text{m}$ a pu être estimé. Nous n'avons cependant pas réussi dans ce cas, à confirmer cette valeur par ellipsométrie en raison du phénomène de diffusion de la lumière observé sur ce type de revêtement.

IV.2. Spectroscopie de Photo-électrons X (XPS)

La caractérisation des substrats fonctionnalisés CoCr-PDA et CoCr-PDA-polyCD a également été réalisée par des analyses XPS (Figure V.129).

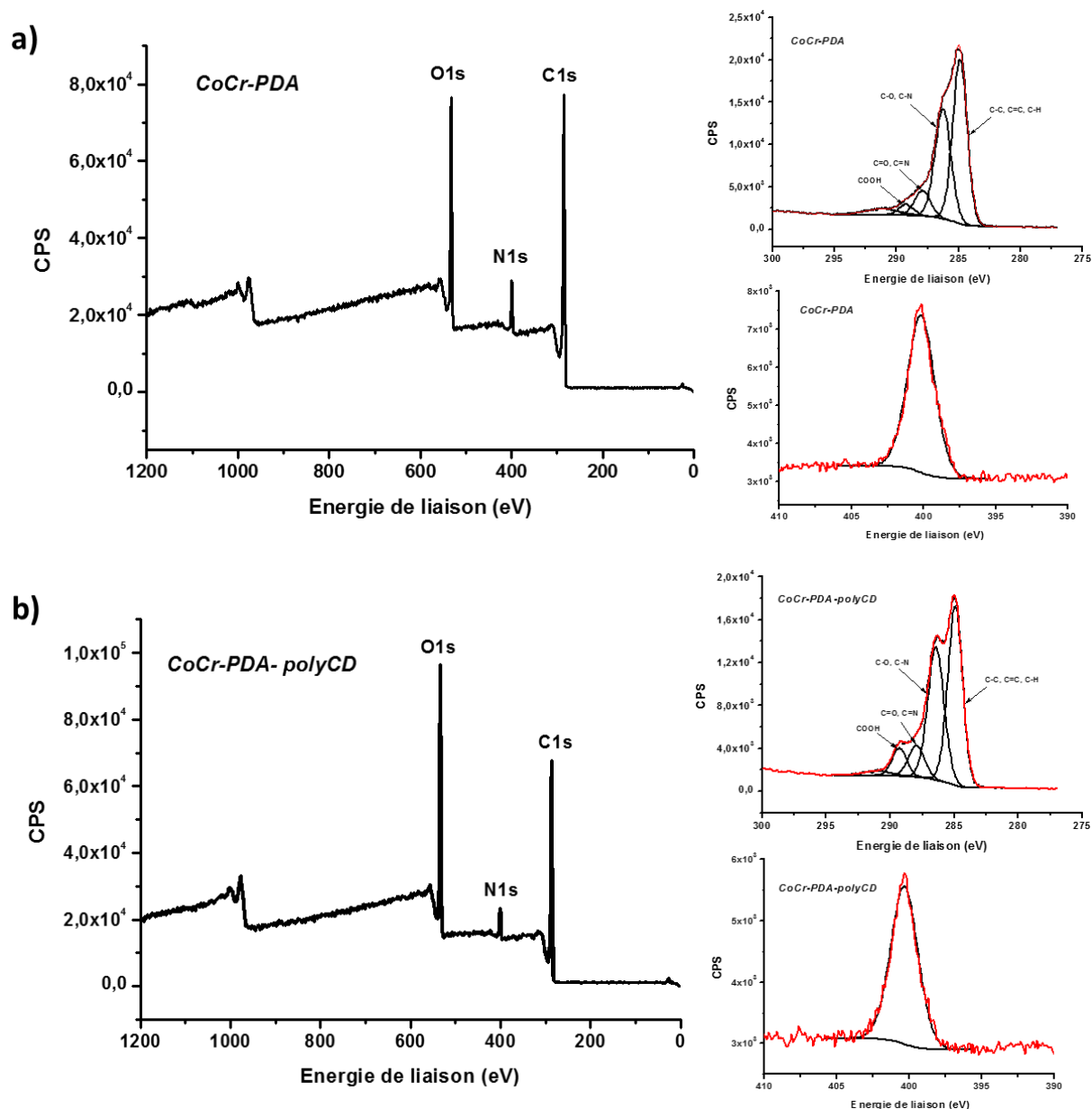


Figure V.129 : (Gauche) Spectres XPS des surfaces CoCr-PDA (a) et CoCr-PDA-polyCD (b) (Droite) Spectre XPS des niveaux de cœur du carbone C 1s et de l'azote N 1s des surfaces CoCr-PDA (a) et CoCr-PDA-polyCD (b)

Les spectres XPS des deux surfaces fonctionnalisées ont permis de mettre en évidence la présence de carbone C 1s à 285,0 eV, d'oxygène O 1s à 533,1 eV et d'azote N 1s à 400,2 eV, imputable aux films polymères greffés sur les échantillons (Figure V.129, gauche). Par ailleurs,

dans les deux cas, aucune trace de cobalt ni de chrome n'est décelable, ce qui démontre une nouvelle fois la présence de films denses de polymères sur la surface (épaisseur > 10 nm). De plus, le spectre de niveau de cœur de l'azote N 1s de la plateforme CoCr-PDA affiche une composante unique à 400,2 eV attribuable à la présence de dérivés aminés au sein du film de polydopamine ⁶⁰. Malgré les déconvolutions des spectres des niveaux de cœur du carbone C 1s et de l'azote N 1s de chacune des deux surfaces fonctionnalisées (Figure V.129, droite), nous n'avons malheureusement pas été en mesure de confirmer la formation de liaisons amides entre les films de PDA et de polyCD puisqu'aucun changement significatif n'est observé avant et après greffage du polymère de cyclodextrine.

IV.3. Evaluations biologiques

Afin de garantir l'innocuité du revêtement polymère vis-à-vis des cellules endothéliales, la cytocompatibilité des surfaces CoCr-PDA et CoCr-PDA-polyCD a été étudiée. Pour ce faire, des tests de vitalité et de prolifération de cellules endothéliales microvasculaires pulmonaires humaines (HPMEC pour Human Pulmonary Microvascular Endothelial Cell) ⁷⁴ ont été menés à chaque étape du procédé de fonctionnalisation (Figure V.130).

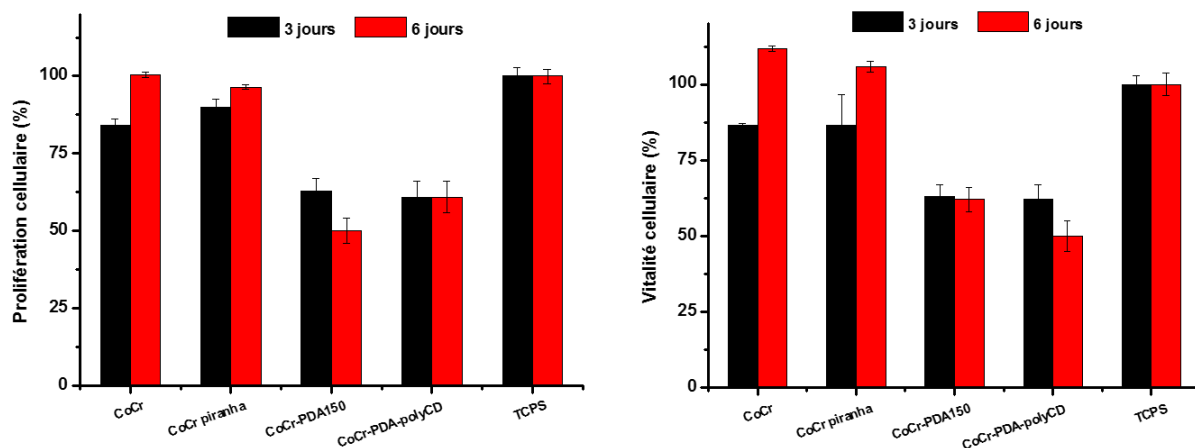


Figure V.130 : Prolifération (gauche) et vitalité (droite) des cellules HMPEC au contact des surfaces CoCr, CoCr oxydé, CoCr-PDA et CoCr-PDA-polyCD après 3 et 6 jours d'incubation

La Figure V.130 montre une très bonne cytocompatibilité des surfaces de CoCr et de CoCr oxydées au traitement piranha puisque des taux de prolifération et de vitalité supérieurs à 80 et 90 % sont observés après 3 et 6 jours respectivement. Ces résultats suggèrent que les étapes intensives de rinçage suivant l'oxydation du CoCr permettent de nettoyer efficacement

les échantillons et de préserver la cytocompatibilité des substrats métalliques. Après fonctionnalisation du CoCr par la PDA, les taux de prolifération et de vitalité cellulaire chutent respectivement à 50 % et à 62 % après 6 jours dans le milieu de culture. Ces diminutions peuvent s'expliquer par la présence de groupements catéchols libres ou de trimères qui n'auraient pas été greffés sur la surface du matériau ⁷⁵ et dont la cytotoxicité est reconnue ⁷⁶. En ce qui concerne les surfaces CoCr-PDA-polyCD, les taux de prolifération et de vitalité cellulaire diminuent également après 6 jours d'incubation (valeurs qui atteignent 61 % et 50 % respectivement) et sont attribués aux dégradations progressives des polymères de PDA et de polyCD qui vont générer des fonctions acides carboxyliques et des groupements catéchols résiduels dans le milieu de culture.

Les évaluations biologiques réalisées sur les échantillons CoCr-PDA-polyCD montrent que le polymère de cyclodextrine n'affecte pas de manière significative les cellules endothéliales. De plus, les conditions *in vivo* sont beaucoup moins drastiques étant donné que le flux sanguin renouvelle rapidement le milieu contrairement à ces évaluations biologiques où le milieu de culture est conservé durant 6 jours. Nous pouvons donc ainsi supposer que potentiellement, de telles surfaces fonctionnalisées n'affecteront pas les tissus humains ⁷⁷. Dans le cadre de la conception d'un nouveau dispositif médical, ces affirmations devront être vérifiées *in vivo*.

Enfin, une étude du caractère hémolytique des échantillons a également été menée et a montré que les substrats n'entraînent pas de phénomène d'hémolyse lorsqu'ils sont placés au contact de sang humain (l'index calculé HI était de 0, ce qui correspond au témoin négatif PBS).

V. Comportement du revêtement polymère en milieu physiologique

V.1. Etude de la dégradation du film polymère de polyCD

Récemment, il a été démontré que les revêtements polymères à base de cyclodextrine, greffés sur des dispositifs vasculaires en polyester, étaient biodégradables ⁷⁷. Plus précisément, il a été observé que le polymère de cyclodextrine était entièrement hydrolysé

en deux mois au contact de plasma humain alors que le processus de dégradation s'opérait en 6 mois en conditions *in vivo*.

Au cours de notre étude, le processus de dégradation du polyCD greffé a été évalué en conditions *in vitro* c'est-à-dire en présence d'un milieu de culture cellulaire (MEM de Eagle, Eurobio, supplémenté par 10 % v/v de sérum de veau foetal SVF, Eurobio). Pour ce faire, des titrations colorimétriques au TBO ont été réalisées à différents temps d'immersion des surfaces fonctionnalisées dans le milieu de culture cellulaire et les résultats ont été reportés sur la Figure V.131.

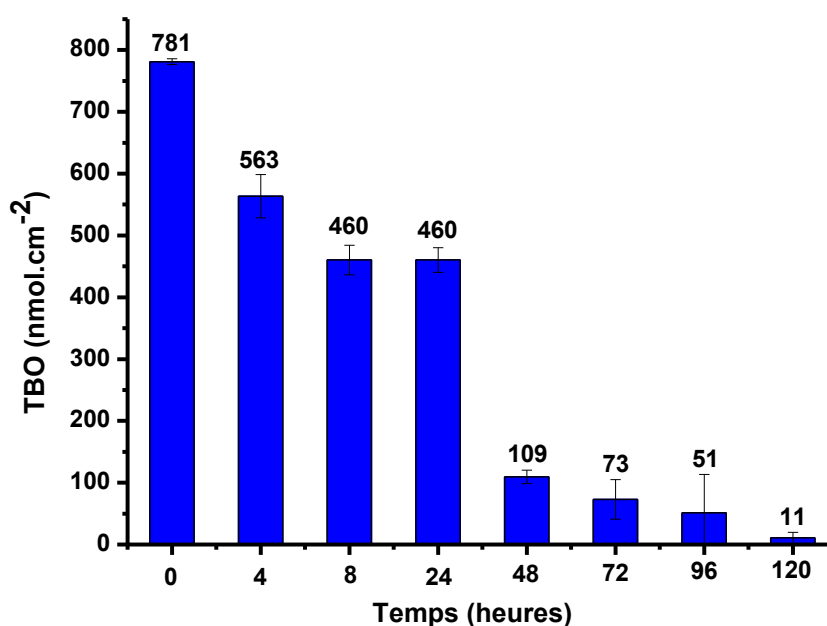


Figure V.131 : Etude de la dégradation, par titration au TBO, du polyCD greffé sur les plateformes CoCr-PDA. Expériences réalisées dans un milieu de culture cellulaire à 37°C et sous agitation

On observe que la quantité de polymère de cyclodextrine greffée sur les échantillons diminue en fonction du temps. Le revêtement polymère est notamment totalement dégradé après 120 h de séjour dans le milieu de culture. Cette cinétique de dégradation est beaucoup plus rapide que celle observée dans le cadre de prothèses vasculaires à base de PET, et peut être attribuée principalement au décrochement du revêtement plutôt qu'à l'hydrolyse du polymère ⁴⁷. En effet, le milieu de culture dans lequel les expériences ont été réalisées est extrêmement riche en espèces chargées et peut induire des interactions fortes avec le polymère et ainsi influencer ce phénomène. Par ailleurs, cette hypothèse pourrait expliquer la cytotoxicité partielle observée sur les surfaces CoCr-PDA-polyCD (Figure V.130).

V.2. Etude de la libération d'un médicament : le paclitaxel (PTX)

Le paclitaxel (Figure V.132) est un agent anticancéreux très hydrophobe et fait partie des molécules les plus utilisées pour la conception de stents actifs ciblant la problématique de resténose ⁷⁸.

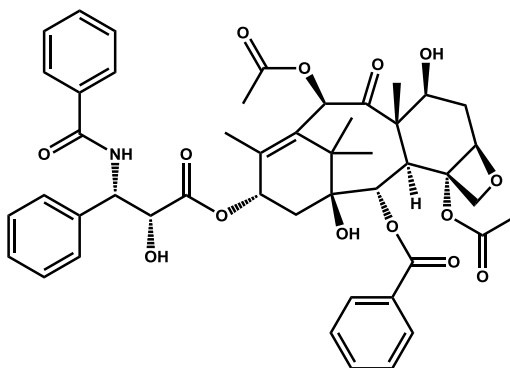


Figure V.132 : Structure de Paclitaxel (PTX)

Les cyclodextrines, qui possèdent des cavités de nature hydrophobe, sont souvent utilisées dans le but d'améliorer l'hydro-solubilité, la stabilité ainsi que la bio-disponibilité de médicaments hydrophobes ⁷⁹. Nous avons ainsi étudié la capacité de la Me β CD et du polyCD à rendre le PTX plus soluble dans l'eau. Pour cela, nous avons tracé les diagrammes de solubilité du PTX dans des solutions aqueuses de Me β CD et de polyCD (Figure V.133).

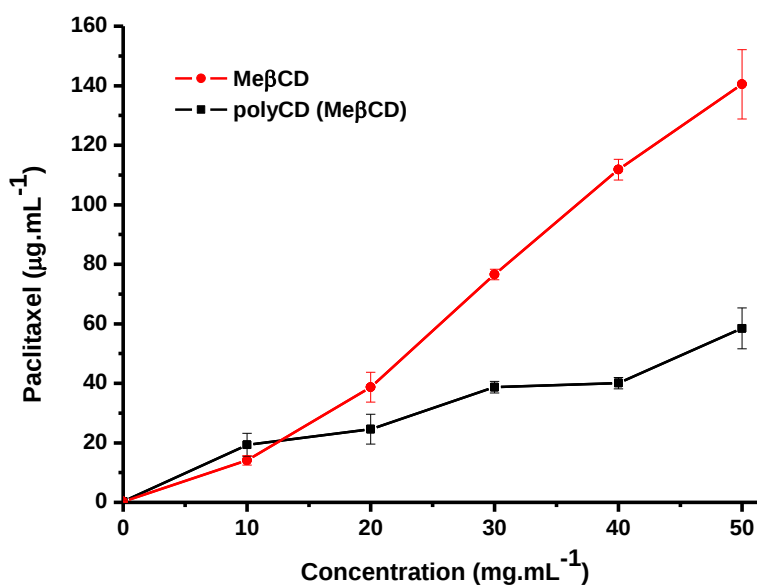


Figure V.133 : Diagrammes de solubilité du paclitaxel en présence de solutions aqueuses de Me β CD et de polyCD

Comme attendu, la faible solubilité du PTX dans l'eau ($0,7 \text{ mg.L}^{-1}$) augmente de manière significative en présence de Me β CD et de polyCD. En effet, la solubilité du PTX est multipliée par 200 (140 mg.L^{-1}) et 86 (60 mg.L^{-1}) dans des solutions aqueuses de Me β CD et de polyCD (50 g.L^{-1}), respectivement. A concentrations équivalentes, la Me β CD solubilise deux fois plus de PTX que le polymère (polyCD), composé de 50 % en poids de Me β CD et de 50 % en poids de CTR⁸⁰. Ce résultat est logique puisque ce dernier contient deux fois moins de cavités cyclodextrines disponibles pour la complexation avec le PTX (en supposant que celui-ci n'interagisse pas avec les fonctions acides carboxyliques présentes au sein du réseau polymère).

En conclusion, les diagrammes de solubilité du PTX confirment la capacité des Me β CD et du polyCD à complexer le PTX en milieu aqueux. Ainsi, nous pouvons émettre l'hypothèse que le polyCD jouera un rôle de réservoir une fois greffé sur le CoCr grâce à la complexation du PTX dans les cavités des cyclodextrines du polymère.

Suite à ces résultats, nous avons étudié la capacité du dispositif CoCr-PDA-polyCD à adsorber et à libérer de façon prolongée le paclitaxel. Pour ce faire, les échantillons fonctionnalisés ont été immergés dans une solution de PTX dans l'éthanol pendant 12 h puis rincés abondamment à l'eau distillée afin d'éliminer l'excès de PTX non adsorbé sur les substrats.

En faisant varier les concentrations des solutions d'imprégnation entre 1 g.L^{-1} et 10 g.L^{-1} , nous avons remarqué que le polymère de cyclodextrine immobilisé sur les plateformes de CoCr-PDA était capable d'adsorber le médicament dans une gamme de concentration comprise entre $0,6$ et $9 \text{ }\mu\text{g.mm}^{-2}$. Ces observations sont intéressantes dans la mesure où elles montrent que la quantité de PTX adsorbée sur un stent pourra être modulée en ajustant la concentration de la solution d'imprégnation de PTX.

Pour la suite de l'étude, les surfaces CoCr-PDA-polyCD ont été chargées de $9 \text{ }\mu\text{g.mm}^{-2}$ de PTX puis ont été placées dans du plasma humain. Un échantillon témoin de CoCr non modifié a également été chargé avec la même quantité de PTX afin de mettre en évidence le rôle joué par le revêtement polymère. En effet, il est important de souligner que le PTX est une molécule hydrophobe capable de s'adsorber sur des surfaces métalliques telles que le CoCr par simple dip-coating ou par la technique de « spray ». Cette propriété intrinsèque est d'ailleurs

exploitée dans la conception de stents actifs qualifiés de « polymer-free » mais la quantité de médicament adsorbé ainsi que leur période de libération reste très limitées ⁸¹.

L'impact du revêtement polymère sur la cinétique de libération du médicament a été évalué par HPLC en dosant la quantité de PTX libérée à partir des surfaces CoCr non modifiées et sur les surfaces fonctionnalisées CoCr-PDA-polyCD après immersion dans du plasma humain (Figure V.134).

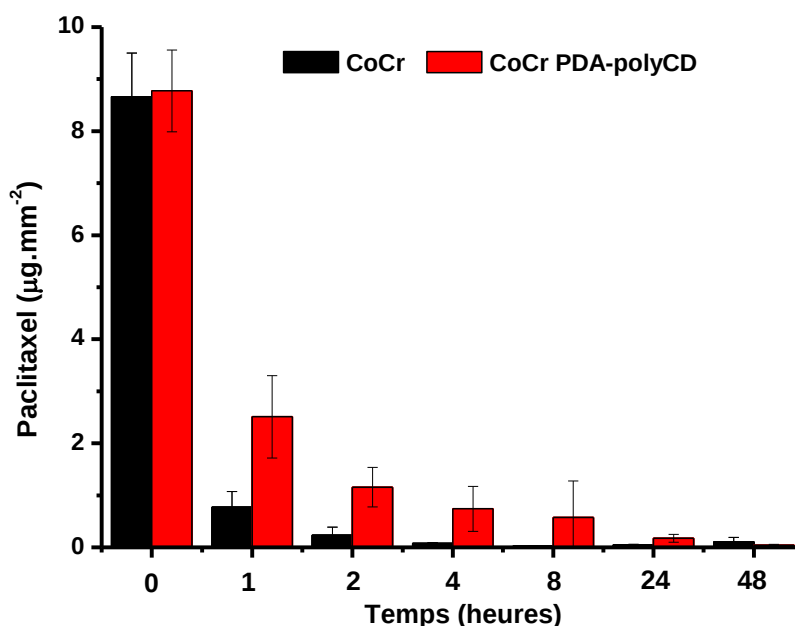


Figure V.134 : Evaluation de la quantité de PTX restante sur les surfaces de CoCr et de CoCr-PDA-polyCD ($\varnothing = 14,5$ mm) après différents temps de libération dans le plasma humain à 37°C sous agitation

Les résultats montrent une libération rapide du PTX adsorbé sur les surfaces CoCr non modifiées dès la 1^{ère} heure puisque 7,85 µg.mm⁻² soit 91 % du principe actif est libéré. Cette valeur est limitée à 6,14 µg.mm⁻² soit 71 % dans le cas des surfaces modifiées par le polymère à base de polyCD. Toutefois, bien qu'une partie du principe actif présent sur les surfaces CoCr-PDA-polyCD soit libéré rapidement (effet « burst »), le polymère limite la libération du PTX dans le temps. En effet, le PTX n'est plus présent sur le substrat CoCr non fonctionnalisé après 4 heures d'immersion dans le plasma humain alors qu'une quantité non négligeable de PTX est toujours décelable sur les surfaces fonctionnalisées au-delà de 24 h. Ces résultats soulignent une nouvelle fois le rôle clé joué par le polymère de cyclodextrine greffé sur les substrats métalliques dans la cinétique de libération du médicament.

Nous pouvons toutefois remarquer que cette cinétique reste relativement rapide. Cette tendance peut s'expliquer d'une part par une constante de complexation relativement faible entre la Me β CD et le PTX ($K_a \approx 400 \text{ M}^{-1}$)⁸² et d'autre part, par une substitution du PTX encapsulé dans les cavités des Me β CD par des composés présents dans le plasma humain tels que le cholestérol^{72, 83}.

En conclusion, le revêtement à base de polymère de cyclodextrine greffé sur les surfaces CoCr permet de prolonger la libération du PTX dans le temps par comparaison avec les surfaces non fonctionnalisées. Le défi majeur consiste désormais à transférer le procédé de fonctionnalisation de surface à des stents vasculaires afin d'évaluer l'efficacité de ces nouveaux stents actifs dans la problématique de resténose.

VI. Transposition de la stratégie à un stent métallique en CoCr

Compte tenu des résultats obtenus précédemment, nous avons tenté d'étendre la fonctionnalisation aux stents vasculaires en CoCr (Multi-linkVision, AbbottVascular, Inc., Santa Clara, Californie). Le greffage des polymères de polydopamine (PDA) et de cyclodextrine (polyCD) a été réalisé dans les mêmes conditions que précédemment. La morphologie des films obtenus sur le dispositif implantable a été suivie par des analyses de MEB (Figure V.135).

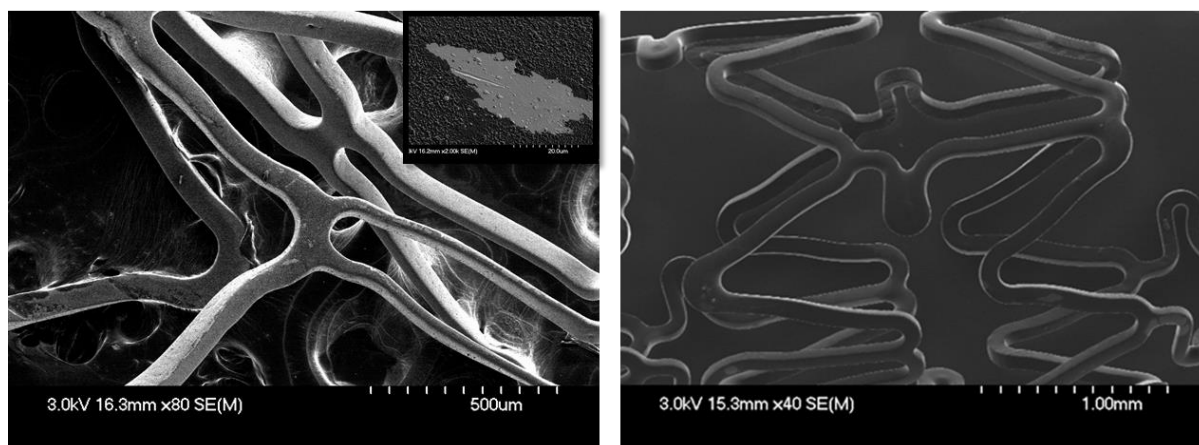


Figure V.135 : Clichés MEB du stent CoCr fonctionnalisé par la PDA (gauche) et par la PDA-polyCD (droite)

Sur la Figure V.135 de gauche, nous pouvons observer la présence d'un film rugueux sur la surface métallique suggérant la formation d'un film fin de polydopamine sur le stent. Après

fonctionnalisation de ce substrat modifié par le polymère de cyclodextrine, une couche dense et homogène de polymère est observée à la surface du dispositif endovasculaire (Figure V.135, droite). Par ailleurs, nous remarquons que cette seconde couche de polymère a entièrement recouvert la surface du stent et qu'aucune trace de craquelure et aucun défaut n'est observable sur les images MEB, ce qui est primordial pour la problématique de stenting.

Les stents fonctionnalisés à travers cette stratégie seront évalués *in vivo* et feront prochainement l'objet d'une implantation chez le rat ⁸⁴. Ces expérimentations seront réalisées au sein du Groupe de Recherche sur les Biomatériaux de l'Université de Lille 2 afin de confirmer l'innocuité du dispositif fonctionnalisé par le polymère de cyclodextrine et également pour valider son effet sur le phénomène de resténose intra-stent une fois chargé par le principe actif.

Conclusion

L'objectif de ce chapitre était de mettre en œuvre une stratégie de fonctionnalisation de surfaces métalliques en CoCr permettant d'immobiliser un polymère « réservoir » à base de cyclodextrine capable de contrôler et de prolonger la cinétique de libération de principes actifs pour des applications cardio-vasculaires. Nous avons ainsi proposé un procédé de modification de surface basé sur la fonctionnalisation préalable des substrats par un polymère de polydopamine hautement adhésif favorisant en outre le greffage du polymère de cyclodextrine. Des études d'optimisation du greffage ont permis de déterminer les conditions optimales permettant d'immobiliser une quantité substantielle de polyCD sur les surfaces métalliques et d'avoir un profil de libération prolongé de molécules actives. En particulier, nous avons démontré que les surfaces CoCr-PDA-polyCD peuvent libérer de manière prolongée du PTX, un agent antiprolifératif largement employé dans la problématique de resténose. De plus, les tests de cytocompatibilité et d'hémocompatibilité réalisés *in vitro* ont démontré l'innocuité potentielle du revêtement polymère mais ces résultats doivent être complétés par des études *in vivo*. Nous avons finalement transposé le procédé de fonctionnalisation développé au cours de cette étude vers un stent vasculaire en CoCr utilisé en pratique clinique. Des expérimentations seront prochainement effectuées *in vivo* chez le rat puis le lapin afin d'évaluer le potentiel de ces dispositifs chargés avec diverses molécules thérapeutiques à lutter contre les problèmes rencontrés suite au stenting.

Références bibliographiques

1. Glorian, M.; Limon, I., L'athérosclérose, une maladie inflammatoire. *Revue Francophone des Laboratoires* **2007**, 2007 (389), 43-48.
2. Bonnet, J., Athérosclérose. *EMC - Cardiologie-Angéiologie* **2005**, 2 (4), 436-458.
3. Stary HC, C. A., Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W Jr, Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW, A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* **1995**, 15 (9), 1512-1531.
4. Baudin, B.; Cohen, A.; Berthelot-Garcias, E.; Meuleman, C.; Dufaitre, G.; Ederhy, S.; Haddour, N.; Boccara, F., Données épidémiologiques des maladies cardiovasculaires et prise en charge des accidents cardiovasculaires. *Revue Francophone des Laboratoires* **2009**, 2009 (409), 27-39.
5. Lafitte, M.; Pradeau, V.; Leroux, L.; Richeboeuf, V.; Tastet, S.; Boulon, C.; Paviot, B.; Bonnet, J.; Couffignal, T., Efficacy over time of a short overall atherosclerosis management programme on the reduction of cardiovascular risk in patients after an acute coronary syndrome. *Archives of Cardiovascular Diseases* **2009**, 102 (1), 51-58.
6. Law, M. R., Wald N. J., Rudnicka A. R., Quantifying effect of statins on low density lipoprotein cholesterol, ischaemic heart disease, and stroke: systematic review and meta-analysis. *BMJ* **2003**, 326 (7404), 1423.
7. MRC/BHF Heart Protection Study of antioxidant vitamin supplementation in 20 536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *The Lancet* **2002**, 360 (9326), 23-33.
8. Monnier, L.; Avignon, A.; Colette, C.; Piperno, M., Prévention primaire nutritionnelle et médicamenteuse de l'athérosclérose. *La Revue de Médecine Interne* **1999**, 20, Supplement 3 (0), 360s-370s.
9. C. T. Dotter, J. R., M. P. Judkins, Transluminal dilatation of atherosclerotic stenosis. *Surgery Gynecology and Obstetrics* **1968**, 127 (4), 794-804.
10. Grüntzig, A. R.; Senning, Å.; Siegenthaler, W. E., Nonoperative Dilatation of Coronary-Artery Stenosis. *New England Journal of Medicine* **1979**, 301 (2), 61-68.
11. Dotter, C. T.; Judkins, M. P., Transluminal Treatment of Arteriosclerotic Obstruction: Description of a New Technic and a Preliminary Report of Its Application. *Circulation* **1964**, 30 (5), 654-670.
12. Sigwart, U.; Puel, J.; Mirkovitch, V.; Joffre, F.; Kappenberger, L., Intravascular Stents to Prevent Occlusion and Re-Stenosis after Transluminal Angioplasty. *New England Journal of Medicine* **1987**, 316 (12), 701-706.
13. Carrié, D.; Elbaz, M.; Andrieu, M.; Cantié, P.; Fourcade, J.; Puel, J., Ten-year clinical and angiographic follow-up of coronary Wallstent. *The American Journal of Cardiology* **2000**, 85 (1), 95-98.
14. Gevaert, S., Nouvelles perspectives dans la thrombose de stent et les antithrombotiques *Journal de Cardiologie* **2010**, (Année n°6), 329-333.
15. Lemesle, G.; Delhay, C., La thrombose de stent, de plus en plus rare ! *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie* **2011**, 60 (6), 338-346.
16. Fischman, D. L.; Leon, M. B.; Baim, D. S.; Schatz, R. A.; Savage, M. P.; Penn, I.; Detre, K.; Veltri, L.; Ricci, D.; Nobuyoshi, M.; Cleman, M.; Heuser, R.; Almond, D.; Teirstein, P. S.; Fish, R. D.; Colombo, A.; Brinker, J.; Moses, J.; Shakhovich, A.; Hirshfeld, J.; Bailey, S.; Ellis, S.; Rake, R.; Goldberg, S., A Randomized Comparison of Coronary-Stent Placement and Balloon Angioplasty in the Treatment of Coronary Artery Disease. *New England Journal of Medicine* **1994**, 331 (8), 496-501.
17. Eltchaninoff, H.; Tron, C.; Sebagh, L.; Cribier, A., Traitement de la resténose intra-stent. *Pathologie Biologie* **2004**, 52 (4), 218-222.
18. Latorzeff, I.; Carrie, D.; Alibelli, M. J.; Bonnet, J.; Duthil, P.; Delannes, M., Curiethérapie de la resténose coronarienne : état de l'art en France en 2003. *Cancer/Radiothérapie* **2003**, 7 (1), 50-61.

19. Lafont, A.; Guzman, L. A.; Whitlow, P. L.; Goormastic, M.; Cornhill, J. F.; Chisolm, G. M., Restenosis After Experimental Angioplasty: Intimal, Medial, and Adventitial Changes Associated With Constrictive Remodeling. *Circulation Research* **1995**, *76* (6), 996-1002.
20. Noël, G.; Feuvret, L.; Bourhis, J.; Pousset, F.; Gerbaulet, A.; Popowski, Y.; Mazon, J. J., Rôle de la curiethérapie endovasculaire dans la prévention de la resténose vasculaire après angioplastie. *Cancer/Radiothérapie* **1998**, *2* (4), 325-337.
21. Virmani R, F. A., Pathology of in-stent restenosis. *Current Opinion in Lipidology* **1999**, *10*, 499-506.
22. Paka, L.; Goldberg, I. J.; Obunike, J. C.; Choi, S. Y.; Saxena, U.; Goldberg, I. D.; Pillarisetti, S., Perlecan Mediates the Antiproliferative Effect of Apolipoprotein E on Smooth Muscle Cells: An underlying mechanism for the modulation of smooth muscle cell growth? *Journal of Biological Chemistry* **1999**, *274* (51), 36403-36408.
23. Katsiki, N.; Tziomalos, K.; Chatzizisis, Y.; Elisaf, M.; Hatzitolios, A. I., Effect of HMG-CoA reductase inhibitors on vascular cell apoptosis: Beneficial or detrimental? *Atherosclerosis* **2010**, *211* (1), 9-14.
24. Deux, J.-F.; Meddahi-Pellé, A.; Bree, F.; Bataille, I.; Michel, J.-B.; Letourneur, D., Comparative Studies on the Mechanisms of Action of Four Polysaccharides on Arterial Restenosis. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* **2009**, *20* (5-6), 689-702.
25. Swanson N, H. K., Javed Q, Malik N, Gershlick AH, Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)-Eluting Stents: In Vivo Effects on Thrombosis, Endothelialization and Intimal Hyperplasia. *The Journal of Invasive Cardiology* **2003**, *15* (12), 688-692.
26. Joner, M.; Cheng, Q.; Schönhofer-Merl, S.; Lopez, M.; Neubauer, S.; Mas-Moruno, C.; Laufer, B.; Kolodgie, F. D.; Kessler, H.; Virmani, R., Polymer-free immobilization of a cyclic RGD peptide on a nitinol stent promotes integrin-dependent endothelial coverage of strut surfaces. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* **2012**, *100B* (3), 637-645.
27. Evaluation des endoprothèses coronaires à libération de principes actifs. Haute Autorité de Santé: Juillet 2009.
28. Dake, M. D.; Van Alstine, W. G.; Zhou, Q.; Ragheb, A. O., Polymer-free Paclitaxel-coated Silver PTX Stents—Evaluation of Pharmacokinetics and Comparative Safety in Porcine Arteries. *Journal of Vascular and Interventional Radiology* **2005**, *22* (5), 603-610.
29. Frisch, E. E., Silicones in Artificial Organs. In *Polymeric Materials and Artificial Organs*, American Chemical Society: 1984; Vol. 256, pp 63-97.
30. Biggs, K. B.; Balss, K. M.; Maryanoff, C. A., Pore Networks and Polymer Rearrangement on a Drug-Eluting Stent as Revealed by Correlated Confocal Raman and Atomic Force Microscopy. *Langmuir* **2012**, *28* (21), 8238-8243.
31. Virmani, R.; Guagliumi, G.; Farb, A.; Musumeci, G.; Grieco, N.; Motta, T.; Mihalcsik, L.; Tsepili, M.; Valsecchi, O.; Kolodgie, F. D., Localized Hypersensitivity and Late Coronary Thrombosis Secondary to a Sirolimus-Eluting Stent: Should We Be Cautious? *Circulation* **2004**, *109* (6), 701-705.
32. Zhu, J.-Z.; Xiong, X.-W.; Du, R.; Jing, Y.-J.; Ying, Y.; Fan, X.-M.; Zhu, T.-Q.; Zhang, R.-Y., Hemocompatibility of drug-eluting coronary stents coated with sulfonated poly (styrene-block-isobutylene-block-styrene). *Biomaterials* **2012**, *33* (33), 8204-8212.
33. Serruys, P. W.; Kutryk, M. J. B.; Ong, A. T. L., Coronary-Artery Stents. *New England Journal of Medicine* **2006**, *354* (5), 483-495.
34. Sketch Jr, M. H.; Ball, M.; Rutherford, B.; Popma, J. J.; Russell, C.; Kereiakes, D. J., Evaluation of the Medtronic (Driver) cobalt-chromium alloy coronary stent system. *The American Journal of Cardiology* **2005**, *95* (1), 8-12.
35. Flege C, V. F., Höges S, Jauer L, Borinski M, Schulte VA, Hoffmann R, Poprawe R, Meiners W, Jobmann M, Wissenbach K, Blindt R, Development and characterization of a coronary polylactic acid stent prototype generated by selective laser melting. *J Mater Sci: Mater Med* **2013**, *24* (1), 241-255.
36. Lao, L. L.; Venkatraman, S. S., Paclitaxel release from single and double-layered poly(DL-lactide-co-glycolide)/poly(L-lactide) film for biodegradable coronary stent application. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **2008**, *87A* (1), 1-7.

37. Jabara, R.; Chronos, N.; Conway, D.; Molema, W.; Robinson, K., Evaluation of a Novel Slow-Release Paclitaxel-Eluting Stent With a Bioabsorbable Polymeric Surface Coating. *JACC: Cardiovascular Interventions* **2008**, 1 (1), 81-87.
38. Westedt, U.; Wittmar, M.; Hellwig, M.; Hanefeld, P.; Greiner, A.; Schaper, A. K.; Kissel, T., Paclitaxel releasing films consisting of poly(vinyl alcohol)-graft-poly(lactide-co-glycolide) and their potential as biodegradable stent coatings. *Journal of Controlled Release* **2006**, 111 (1–2), 235-246.
39. Palmerini, T.; Biondi-Zoccai, G.; Riva, D. D.; Stettler, C.; Sangiorgi, D.; D'Ascenzo, F.; Kimura, T.; Briguori, C.; Sabatè, M.; Kim, H.-S.; De Waha, A.; Kedhi, E.; Smits, P. C.; Kaiser, C.; Sardella, G.; Marullo, A.; Kirtane, A. J.; Leon, M. B.; Stone, G. W., Stent thrombosis with drug-eluting and bare-metal stents: evidence from a comprehensive network meta-analysis. *The Lancet* **2012**, 379 (9824), 1393-1402.
40. Martel, B.; Morcellet, M.; Weltrowski, M., Cyclodextrin polymers and/or cyclodextrin derivatives with complexing properties and ion-exchange properties and method for the production thereof. Patent 6,660,804 B1: 2002.
41. Gould, S.; Scott, R. C., 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD): A toxicology review. *Food and Chemical Toxicology* **2005**, 43 (10), 1451-1459.
42. Uekama K., I. T., *Industrial uses of methylated cyclodextrins derivatives*. Cyclodextrins and their industrial uses ed.; Duchêne D.: Paris, 1987.
43. Laza-Knoerr, A. L.; Gref, R.; Couvreur, P., Cyclodextrins for drug delivery. *Journal of Drug Targeting* **2010**, 18 (9), 645-656.
44. Loftsson, T.; Brewster, M. E., Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **1996**, 85 (10), 1017-1025.
45. Ritter, H.; Tabatabai, M., Cyclodextrin in polymer synthesis: a green way to polymers. *Progress in Polymer Science* **2002**, 27 (9), 1713-1720.
46. Singh, M.; Sharma, R.; Banerjee, U. C., Biotechnological applications of cyclodextrins. *Biotechnology Advances* **2002**, 20 (5–6), 341-359.
47. Blanchemain, N.; Haulon, S.; Martel, B.; Traisnel, M.; Morcellet, M.; Hildebrand, H. F., Vascular PET Prostheses Surface Modification with Cyclodextrin Coating: Development of a New Drug Delivery System. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery* **2005**, 29 (6), 628-632.
48. Leprêtre, S.; Chai, F.; Hornez, J.-C.; Vermet, G.; Neut, C.; Descamps, M.; Hildebrand, H. F.; Martel, B., Prolonged local antibiotics delivery from hydroxyapatite functionalised with cyclodextrin polymers. *Biomaterials* **2009**, 30 (30), 6086-6093.
49. Boschini, F.; Blanchemain, N.; Bria, M.; Delcourt-Debruyne, E.; Morcellet, M.; Hildebrand, H. F.; Martel, B., Improved drug delivery properties of PVDF membranes functionalized with β -cyclodextrin—Application to guided tissue regeneration in periodontology. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **2006**, 79A (1), 78-85.
50. Tabary, N.; Lepretre, S.; Boschini, F.; Blanchemain, N.; Neut, C.; Delcourt-Debruyne, E.; Martel, B.; Morcellet, M.; Hildebrand, H. F., Functionalization of PVDF membranes with carbohydrate derivatives for the controlled delivery of chlorhexidin. *Biomolecular Engineering* **2007**, 24 (5), 472-476.
51. Taha, M.; Chai, F.; Blanchemain, N.; Goube, M.; Martel, B.; Hildebrand, H. F., Validating the poly-cyclodextrins based local drug delivery system on plasma-sprayed hydroxyapatite coated orthopedic implant with toluidine blue O. *Materials Science and Engineering: C* **2013**, 33 (5), 2639-2647.
52. Lee, H.; Lee, B. P.; Messersmith, P. B., A reversible wet/dry adhesive inspired by mussels and geckos. *Nature* **2007**, 448 (7151), 338-341.
53. Waite, J. H.; Tanzer, M. L., Polyphenolic Substance of *Mytilus edulis*: Novel Adhesive Containing L-Dopa and Hydroxyproline. *Science* **1981**, 212 (4498), 1038-1040.
54. Weng, Y.; Song, Q.; Zhou, Y.; Zhang, L.; Wang, J.; Chen, J.; Leng, Y.; Li, S.; Huang, N., Immobilization of selenocystamine on TiO₂ surfaces for in situ catalytic generation of nitric oxide and potential application in intravascular stents. *Biomaterials* **2011**, 32 (5), 1253-1263.
55. Liu, T.; Zeng, Z.; Liu, Y.; Wang, J.; Maitz, M. F.; Wang, Y.; Liu, S.; Chen, J.; Huang, N., Surface Modification with Dopamine and Heparin/Poly-L-Lysine Nanoparticles Provides a Favorable Release

- Behavior for the Healing of Vascular Stent Lesions. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2014**, 6 (11), 8729-8743.
56. Poh, C. K.; Shi, Z.; Lim, T. Y.; Neoh, K. G.; Wang, W., The effect of VEGF functionalization of titanium on endothelial cells in vitro. *Biomaterials* **2010**, 31 (7), 1578-1585.
 57. Kang, J.; Sakuragi, M.; Shibata, A.; Abe, H.; Kitajima, T.; Tada, S.; Mizutani, M.; Ohmori, H.; Ayame, H.; Son, T. I.; Aigaki, T.; Ito, Y., Immobilization of epidermal growth factor on titanium and stainless steel surfaces via dopamine treatment. *Materials Science and Engineering: C* **2012**, 32 (8), 2552-2561.
 58. Shin, Y. M.; Lee, Y. B.; Kim, S. J.; Kang, J. K.; Park, J.-C.; Jang, W.; Shin, H., Mussel-Inspired Immobilization of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) for Enhanced Endothelialization of Vascular Grafts. *Biomacromolecules* **2012**, 13 (7), 2020-2028.
 59. Luo, R.; Tang, L.; Zhong, S.; Yang, Z.; Wang, J.; Weng, Y.; Tu, Q.; Jiang, C.; Huang, N., In Vitro Investigation of Enhanced Hemocompatibility and Endothelial Cell Proliferation Associated with Quinone-Rich Polydopamine Coating. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2013**, 5 (5), 1704-1714.
 60. Yang Z, T. Q., Zhu Y, Luo R, Li X, Xie Y, Maitz MF, Wang J, Huang N, Mussel-inspired coating of polydopamine directs endothelial and smooth muscle cell fate for re-endothelialization of vascular devices. *Advanced Healthcare Materials* **2012**, 1 (5), 548-559.
 61. Bae, I.-H.; Park, I.-K.; Park, D.; Lee, H.; Jeong, M., Thromboresistant and endothelialization effects of dopamine-mediated heparin coating on a stent material surface. *J Mater Sci: Mater Med* **2012**, 23 (5), 1259-1269.
 62. Yang, Y.; Qi, P.; Wen, F.; Li, X.; Xia, Q.; Maitz, M. F.; Yang, Z.; Shen, R.; Tu, Q.; Huang, N., Mussel-Inspired One-Step Adherent Coating Rich in Amine Groups for Covalent Immobilization of Heparin: Hemocompatibility, Growth Behaviors of Vascular Cells, and Tissue Response. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2014**, 6 (16), 14608-14620.
 63. Mavrogenis, A. F., Osseointegration of Cobalt-Chrome Alloy Implants. *Journal of Long-Term Effects of Medical Implants* **2011**, 21 (4), 349-358.
 64. Endovascular Angioplasty Material's Catalog. *Euro PCRO4* **2004**.
 65. Shi, Z.; Neoh, K. G.; Kang, E. T., In vitro endothelialization of cobalt chromium alloys with micro/nanostructures using adipose-derived stem cells. *J Mater Sci: Mater Med* **2013**, 24 (4), 1067-1077.
 66. Hamerli, P.; Weigel, T.; Groth, T.; Paul, D., Surface properties of and cell adhesion onto allylamine-plasma-coated polyethyleneterephthalat membranes. *Biomaterials* **2003**, 24 (22), 3989-3999.
 67. Noel, S.; Liberelle, B.; Robitaille, L.; De Crescenzo, G., Quantification of Primary Amine Groups Available for Subsequent Biofunctionalization of Polymer Surfaces. *Bioconjugate Chemistry* **2011**, 22 (8), 1690-1699.
 68. Lee, H.; Dellatore, S. M.; Miller, W. M.; Messersmith, P. B., Mussel-inspired surface chemistry for multifunctional coatings. *Science (New York, N.Y.)* **2007**, 318 (5849), 426-430.
 69. Dreyer, D. R.; Miller, D. J.; Freeman, B. D.; Paul, D. R.; Bielawski, C. W., Elucidating the Structure of Poly(dopamine). *Langmuir* **2012**, 28 (15), 6428-6435.
 70. Taha, M. Fonctionnalisation d'un implant orthopédique pour l'obtention de propriétés anti-infectieuses améliorées. Thèse de Doctorat, Université de Lille 2, Lille, 2012.
 71. Blanchemain, N.; Laurent, T.; Chai, F.; Neut, C.; Haulon, S.; Krump-konvalinkova, V.; Morcellet, M.; Martel, B.; Kirkpatrick, C. J.; Hildebrand, H. F., Polyester vascular prostheses coated with a cyclodextrin polymer and activated with antibiotics: Cytotoxicity and microbiological evaluation. *Acta Biomaterialia* **2008**, 4 (6), 1725-1733.
 72. Blanchemain, N.; Karrou, Y.; Tabary, N.; Bria, M.; Neut, C.; Hildebrand, H. F.; Siepmann, J.; Martel, B., Comparative study of vascular prostheses coated with polycyclodextrins for controlled ciprofloxacin release. *Carbohydrate Polymers* **2012**, 90 (4), 1695-1703.
 73. Ju, K.-Y.; Lee, Y.; Lee, S.; Park, S. B.; Lee, J.-K., Bioinspired Polymerization of Dopamine to Generate Melanin-Like Nanoparticles Having an Excellent Free-Radical-Scavenging Property. *Biomacromolecules* **2011**, 12 (3), 625-632.

74. ISO10993-5, Biological Evaluation of Medical Devices - Part 5: Tests for In Vitro Cytotoxicity. 2009.
75. Hong, S.; Na, Y. S.; Choi, S.; Song, I. T.; Kim, W. Y.; Lee, H., Non-Covalent Self-Assembly and Covalent Polymerization Co-Contribute to Polydopamine Formation. *Advanced Functional Materials* **2012**, 22 (22), 4711-4717.
76. Graham, D. G.; Tiffany, S. M.; Bell, W. R.; Gutknecht, W. F., Autoxidation versus Covalent Binding of Quinones as the Mechanism of Toxicity of Dopamine, 6-Hydroxydopamine, and Related Compounds toward C1300 Neuroblastoma Cells in Vitro. *Molecular Pharmacology* **1978**, 14 (4), 644-653.
77. Jean-Baptiste, E.; Blanchemain, N.; Martel, B.; Neut, C.; Hildebrand, H. F.; Haulon, S., Safety, Healing, and Efficacy of Vascular Prostheses Coated with Hydroxypropyl- β -cyclodextrin Polymer: Experimental In Vitro and Animal Studies. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery* **2012**, 43 (2), 188-197.
78. Creel, C. J.; Lovich, M. A.; Edelman, E. R., Arterial Paclitaxel Distribution and Deposition. *Circulation Research* **2000**, 86 (8), 879-884.
79. van de Manacker, F.; Vermonden, T.; van Nostrum, C. F.; Hennink, W. E., Cyclodextrin-Based Polymeric Materials: Synthesis, Properties, and Pharmaceutical/Biomedical Applications. *Biomacromolecules* **2009**, 10 (12), 3157-3175.
80. Blanchemain, N.; Karrout, Y.; Tabary, N.; Neut, C.; Bria, M.; Siepmann, J.; Hildebrand, H. F.; Martel, B., Methyl- β -cyclodextrin modified vascular prosthesis: Influence of the modification level on the drug delivery properties in different media. *Acta Biomaterialia* **2011**, 7 (1), 304-314.
81. Dake, M. D.; Van Alstine, W. G.; Zhou, Q.; Ragheb, A. O., Polymer-free Paclitaxel-coated Zilver PTX Stents—Evaluation of Pharmacokinetics and Comparative Safety in Porcine Arteries. *Journal of Vascular and Interventional Radiology* **2011**, 22 (5), 603-610.
82. Alcaro, S.; Ventura, C. A.; Paolino, D.; Battaglia, D.; Ortuso, F.; Cattel, L.; Puglisi, G.; Fresta, M., Preparation, characterization, molecular modeling and In vitro activity of paclitaxel–cyclodextrin complexes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2002**, 12 (12), 1637-1641.
83. Grammenos, A.; Bahri, M. A.; Guelluy, P. H.; Piel, G.; Hoebeke, M., Quantification of Randomly-methylated- β -cyclodextrin effect on liposome: An ESR study. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2009**, 390 (1), 5-9.
84. Maurel, B.; Chai, F.; Maton, M.; Blanchemain, N.; Haulon, S., In stent restenosis and thrombosis assessment after EP224283 injection in a rat model. *Atherosclerosis* **2013**, 229 (2), 462-468.

CONCLUSION GENERALE

Ce travail de thèse avait pour objectif de développer de nouvelles méthodologies de greffage de (macro)molécules sur des substrats à base de titane en vue de concevoir des surfaces stimulables aux propriétés physico-chimiques modulables. Pour parvenir à cet objectif, nous avons exploité les propriétés de la molécule de dopamine qui présente d'une part, de bonnes propriétés d'adhésion sur le titane et d'autre part une fonction amine primaire facilement fonctionnalisable. Deux nouvelles ancres chimiques équipées d'un motif furane ou maléimide ainsi qu'un nouvel agent de transfert de polymérisation RAFT photosensible ont été synthétisés et employés pour élaborer des plateformes de titane aux propriétés modulables.

Une première étude combinant les propriétés adhésives de la dopamine et la réaction thermoréversible de Diels-Alder a permis de concevoir des plateformes de fonctionnalisation du titane recyclables dont les propriétés physico-chimiques de surface, en particulier la mouillabilité, peuvent être contrôlées sur demande.

Cette stratégie originale a également été utilisée pour greffer des polymères parfaitement définis à base d'OEGA, de TFEA et de NIPAM générés par polymérisation RAFT et incorporant en extrémité de chaîne un motif furane ou maléimide. Grâce à la thermo-réversibilité de la réaction de Diels-Alder, nous avons été en mesure de moduler la balance hydrophile/hydrophobe du matériau sur demande. Par ailleurs, les plateformes de titane fonctionnalisées par le motif maléimide ont également été utilisées pour greffer des polymères de NIPAM fonctionnalisés en extrémité de chaîne par une fonction thiol en exploitant la réaction de thiol-ène.

En parallèle, des polymères d'OEGA, de TFEA et de NIPAM élaborés à partir d'un agent de transfert RAFT doté d'un motif nitro-dopamine ont été greffés sur des surfaces de titane. Le caractère photosensible conféré par le groupement -nitro a été exploité afin de moduler la mouillabilité de surfaces de matériaux.

Enfin, dans un contexte d'applications biomédicales en chirurgie cardio-vasculaire, la réactivité et les propriétés adhésives de la polydopamine ont été exploitées pour greffer un polymère « réservoir » à base de cyclodextrine sur des stents métalliques en cobalt-chrome. Les matériaux fonctionnalisés permettent de prolonger la libération de principes actifs par rapport à un substrat dépourvu de revêtement. Toutefois, des études *in vivo* chez l'animal

doivent encore être réalisées afin d'évaluer l'efficacité de ces dispositifs dans la problématique de resténose.

Les perspectives de ce travail consisteront à exploiter les plateformes de fonctionnalisation développées au cours de cette étude pour concevoir de nouveaux matériaux multi-stimulables.

En particulier, des études devront être menées afin de mieux comprendre les phénomènes mis en jeu lors de l'irradiation des matériaux fonctionnalisés à l'aide des polymères incorporant le motif nitro-dopamine. L'identification des espèces présentes sur la surface après irradiation permettra d'envisager une réutilisation du substrat et d'opérer éventuellement une nouvelle étape de fonctionnalisation.

Parallèlement à ce travail, des études préliminaires concernant la formation réversible de polymères diblocs fonctionnalisés en extrémités de chaîne par des motifs catéchol/nitro-catéchol d'une part et des acides boroniques d'autre part, ont été réalisées. Ces études seront prochainement exploitées dans le cadre d'un projet ANR (DECIMAL) pour concevoir de nouveaux matériaux polymères stimulables.

Enfin, la stratégie de fonctionnalisation de stents vasculaires par la polydopamine sera utilisée prochainement pour immobiliser des principes actifs de manière covalente sur le stent. Ces dispositifs de nouvelle génération seront étudiés *in vivo* chez le rat et *ex vivo* par l'intermédiaire d'un bioréacteur développé dans le cadre d'une collaboration avec le GRB et l'Ecole Nationale Supérieure d'Arts et Métiers de Paris (demande de financement ANR 2014, projet PRESERVER).

Partie expérimentale

I. Réactifs et techniques d'analyse

I.1. Réactifs

Les réactifs employés lors des synthèses organiques sont issus des fournisseurs Sigma-Aldrich, Alfa Aesar, Acros Organics et Fluka et ont été utilisés sans aucune purification particulière exceptés ceux cités ci-dessous. La triéthylamine (Acros Organics, 99%) a été distillée sur CaH_2 avant utilisation. L'acrylate de poly (éthylène glycol) méthyl éther (Sigma Aldrich) ainsi que l'acrylate de 2,2,2-trifluoroéthyle (Sigma Aldrich, 99%) sont purifiés sur colonne de silice. Le *N*-isopropylacrylamide (Acros Organics, 99%) est purifié par recristallisation dans l'hexane.

Le tétrahydrofurane, l'éther diéthylique, le toluène sont purifiés par distillation sur sodium et sous azote. Le dichlorométhane, l'acétonitrile, le diméthylformamide sont distillés sur dihydruure de calcium sous atmosphère d'azote et le méthanol est purifié par distillation sur magnésium en présence d'un cristal d'iode également sous azote. L'éthanol, l'éther de pétrole, l'acétate d'éthyle, le chloroforme, l'acétone, l'hexane, l'isopropanol sont utilisés sans purification.

Les solvants deutérés tels que le chloroforme, l'acétone, le méthanol, le diméthylsulfoxyde, l'eau, l'acétonitrile sont fournis par la société Eurisotop (pureté > 99%).

I.2. Description des techniques d'analyse

Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) :

Les spectres RMN du proton ^1H et du carbone ^{13}C des différents échantillons ont été obtenus à l'aide d'un spectromètre Brüker Avance à 300 MHz utilisant le tétraméthylsilane (TMS) comme référence interne. Les spectres RMN ^{19}F sont également réalisés sur le même spectromètre 300 MHz en utilisant le trichlorofluorométhane comme référence interne. Les déplacements chimiques (δ) sont indiqués en partie par million (ppm) et la multiplicité est désignée par (s) pour singulet, (d) pour doublet, (dd) pour doublet dédoublé, (t) pour triplet, (q) pour quadruplet, (quint) pour quintuplet, (m) pour multiplet et (br) pour un massif large.

Chromatographie d'Exclusion Stérique (SEC) :

Les analyses des polymères ont été réalisées sur un module de séparation Waters e2695 utilisant le THF à 40°C comme phase mobile à un débit de 1 mL.min⁻¹ et une phase fixe constituée de trois colonnes HR1, HR3 et HR4 montées en série ; le tout couplé à un détecteur à indice de réfraction différentiel (Waters 2414). Les polymères ont été injectés à une concentration de 5 mg.mL⁻¹ après filtration sur membrane en PTFE de porosité 0,45 µm. Les masses molaires moyennes en nombre M_n ainsi que les indices de polymolécularité $\bar{M}_w/\bar{M}_n$ de chacun des polymères analysés ont été obtenus par mesure de l'indice de réfraction, dont la courbe de calibration a été réalisée à partir de standards en polystyrène (Polymer Standard Service).

Spectroscopie Infrarouge (IR) :

Les spectres infrarouges ont été effectués à l'aide d'un spectromètre Spectrum One (Perkin Elmer) et enregistrés entre 4000 et 400 cm⁻¹. Les analyses ont été menées par réflexion. Les échantillons de titane ont été analysés par réflexion totale atténuée (ATR) (cristal au sélénure de zinc ZnSe).

Spectroscopie UV-Visible (UV-Vis):

Les études de spectroscopies UV/Vis ont été réalisées à l'aide d'un spectrophotomètre Agilent UV 8453 équipé d'un contrôleur de température par effet Peltier.

Mesures d'angles de contact :

Les mesures d'angles de contact ont été réalisées à l'aide d'un goniomètre Digidrop (GBX Scientific Instruments) en déposant une goutte d'eau, à température ambiante, sur les surfaces de titane avec un minimum de 9 répliqués. L'obtention des valeurs d'angles de contact ainsi que celle des images numérisées ont été traitées par le logiciel Windrop ++.

Voltampérométrie cyclique (CV):

Les études de voltampérométrie cyclique ont été effectuées au moyen d'un potentiostat Autolab PGSTAT30 à des vitesses de balayage comprises entre 10 et 200 mV.s⁻¹.

La cellule d'électrolyse est composée de trois électrodes : une électrode de travail en platine ou en titane, une contre électrode (fil de platine ou titane) et une électrode de référence (Ag/AgCl). Les solutions électrolyte sont préparées à l'aide de Bu_4NPF_6 dans de l'acétonitrile anhydre (0,1 M) ou à l'aide d'une solution tamponnée à pH = 7 de phosphate salin. Les solutions sont purgées préalablement avec de l'azote et l'ensemble des mesures sont effectuées à 20°C.

Spectrométrie de Photoélectrons X (XPS):

Les spectres XPS ont été obtenus au moyen d'un Kratos Axis Ultra DLD (Kratos Analytical) utilisant un rayon monochromatique Al $K\alpha$ ($h\nu = 1486,6$ eV). Cet appareil est équipé de deux parties qui sont directement reliées: une chambre de préparation où la pression est réduite à 10^{-6} mbar et une chambre d'analyse dans laquelle la pression est maintenue à $5 \cdot 10^{-9}$ mbar pendant toute la durée de l'analyse. L'angle de détection des photoélectrons est de 90° par rapport à la surface des échantillons. La calibration en énergie a été réalisée avec le signal Ti 2p à 458,6 eV présent sur l'ensemble des surfaces analysées. Le traitement des données a été effectué à l'aide du logiciel Casa XPS.

Microscopie à Force Atomique (AFM) :

La microscopie à force atomique (AFM) est une technique qui permet de visualiser une résolution nanométrique de la morphologie de la surface d'un matériau. Elle est basée sur l'interaction entre la surface à analyser et une pointe nanométrique fixée sous un micro-levier qui balaye la surface et analyse ainsi la topographie de l'échantillon. Les expériences réalisées par AFM ont été effectuées à l'air et à température ambiante à l'aide d'un microscope Nanoscope III, Digital Instruments opérant en mode tapping.

Microscopie Electronique à Balayage (MEB) :

La microscopie électronique à balayage est basée sur l'interaction d'électrons avec la surface du substrat, fournissant des images en haute résolution de la surface de l'échantillon. Les clichés MEB enregistrés dans le cadre de l'étude décrite lors du chapitre 5, ont été obtenus à partir d'un microscope électronique à balayage (Hitachi S-4700 SEM FEG, Japon) réglé entre 20 et 35 kV et sur 50 μA . Après métallisation et application du vide, les échantillons

fonctionnalisés (pastilles de CoCr et/ou stent) ont été observés afin d'analyser la morphologie des couches de PDA et de polyCD greffées à la surface des substrats.

Ellipsométrie :

L'ellipsométrie est une technique de caractérisation de surface qui permet d'évaluer l'épaisseur d'une couche greffée sur la surface d'un substrat. Elle est basée sur le changement de polarisation d'un faisceau lumineux au contact du substrat. Les mesures réalisées dans le cadre de la caractérisation des surfaces CoCr-PDA ont été réalisées à l'aide d'un ellipsomètre UVISEL HR460 (Horiba Scientific, Villeneuve d'Ascq, France) à des longueurs d'ondes variant de 300 à 1500 nm avec 1 nm d'intervalle. L'angle d'incidence du faisceau a été fixé à 70° pour l'ensemble des mesures réalisées. Les variations d'angles enregistrées ont été analysées à l'aide du logiciel Delta-Psi-Horiba.

Irradiation par un rayonnement ultra-violet:

L'exposition des surfaces d'ITO à la lumière UV a été réalisée à l'aide d'une lampe monochromatique émettant à 365 nm de la marque Hamamatsu Photonics (modèle LC8 de type 01A). Cette lampe mercure-xénon est équipée d'un miroir réfléchissant permettant une bonne efficacité (90% de l'intensité réfléchi). La gamme spectrale de la lampe varie de 300 nm à 400 nm avec un maximum centré sur 365 nm. La puissance maximale de la lampe est de 4500 mW.cm⁻². L'irradiation des échantillons (solution et surface) a été réalisée à puissance maximale de la lampe pendant différentes durées. La distance lampe-échantillon a été fixée à environ 2 cm (puissance $\approx$ 0,5 W.cm⁻²).

Quantification colorimétrique par le Toluidine Blue O :

Le Bleu de Toluidine Ortho (TBO) ou chlorohydrate de triméthylthionine, est un colorant bleu chargé positivement (Figure PE.136). Il a été utilisé dans le cadre de l'étude développée dans le chapitre 5 afin de quantifier de manière semi-quantitative la quantité de polymère de cyclodextrine greffé sur les plateformes CoCr-PDA par dosage colorimétrique. En effet, le TBO est capable de se complexer, en milieu basique, avec les fonctions acides carboxyliques présentes dans le polyCD et peut également former des complexes d'inclusion

avec les cavités hydrophobes des cyclodextrines ¹. Cette méthode a ainsi également été utilisée afin d'évaluer la cinétique de libération de cette molécule modèle adsorbée sur les substrats fonctionnalisés en milieu PBS. Grâce aux lois de Beer-Lambert établies préalablement pour chaque couple TBO/solvant et selon le protocole décrit ci-après, il devient possible de quantifier le polyCD immobilisé ou libéré lors des différentes phases de l'étude.

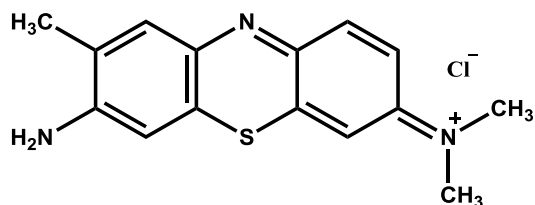


Figure PE.136 : Formule semi-développée du Bleu de Toluidine Ortho

Complexation du TBO sur les surfaces fonctionnalisées

Les substrats sont imprégnés dans 20 mL d'une solution de TBO à $5 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹ (pH ajusté à 10 grâce à de la soude à 0,1 mol.L⁻¹) pendant 4 heures à 30°C sous agitation (80 rpm) et à l'abri de la lumière. Les pastilles sont ensuite rincées deux fois pendant 5 minutes dans 10 mL de soude à 10^{-4} mol.L⁻¹ afin d'éliminer le TBO non complexé sur la surface.

Dosage quantitatif du TBO adsorbé sur les échantillons

Après l'étape de complexation/rinçage, les surfaces sont immergées dans 20 mL d'acide acétique (50% v/v) à l'abri de la lumière pendant 20 min sous agitation (80 rpm) afin de désorber le TBO. Les solutions obtenues sont analysées par spectroscopie UV-visible à une longueur d'onde de 633 nm (TBO/acide acétique 50% v/v : $\epsilon = 74,48$ L.mol⁻¹.cm⁻¹) ²⁻³.

Evaluation de la cinétique de libération du TBO adsorbé sur les échantillons

Après l'étape de complexation/rinçage, les surfaces sont immergées dans 10 mL de PBS (pH = 7,4) à 37°C sous agitation (80 rpm). Des prélèvements réguliers sont réalisés et dosés par spectroscopie UV-visible à une longueur d'onde de 288 nm (TBO/PBS : $\epsilon = 33,89$ L.mol⁻¹.cm⁻¹). Après chaque prélèvement, les milieux PBS (10 mL) sont renouvelés avec du PBS frais.

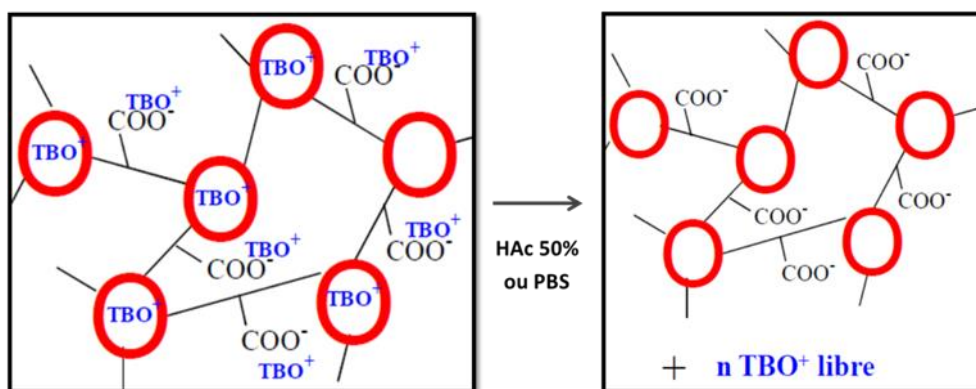


Figure PE.137 : Illustration du principe de complexation du TBO par le polyCD puis le dosage (HAc : acide acétique) ou la cinétique de libération (PBS) du TBO

Quantification colorimétrique par l'Acide Orange II :

L'Acide Orange II (AO) est un colorant orange chargé négativement (Figure PE.138) capable de se complexer, en milieu acide, avec des fonctions amines. Cette méthode de dosage colorimétrique a ainsi été utilisée afin de quantifier indirectement la quantité de fonctions amines présentes au sein des surfaces CoCr-PDA et a également permis d'optimiser le traitement thermique appliqué à ces mêmes substrats.

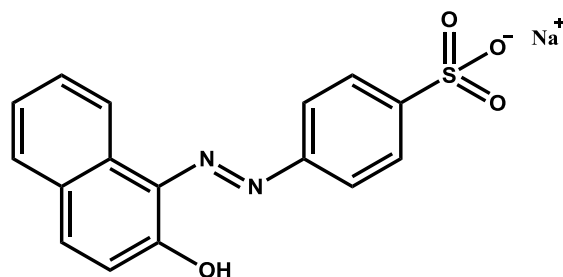


Figure PE.138 : Formule semi-développée de l'Acide Orange II (AO)

Complexation de l'AO sur les surfaces fonctionnalisées

Les substrats sont imprégnés dans 20 mL d'une solution d'AO à $2,5 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ (pH ajusté à 3 grâce à HCl $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$) pendant 1 nuit sous agitation (80 rpm) à température ambiante. Les pastilles sont ensuite rincées deux fois pendant 5 minutes dans 20 mL d'eau acidifiée (pH = 3) afin d'éliminer l'AO non complexé.

Dosage quantitatif de l'AO adsorbé sur les échantillons

Après l'étape de complexation/rinçage, les surfaces sont immergées dans 10 mL d'eau à pH = 12 pendant 3 heures sous agitation (80 rpm) et à température ambiante afin de désorber l'AO. Les solutions obtenues sont acidifiées à pH = 3 (1 mL d'HCl 0,1 mol.L⁻¹) puis sont analysées par spectroscopie UV-visible à une longueur d'onde de 485 nm (AO/HCl pH = 3 : $\varepsilon = 19,16 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)⁴⁻⁵.

Evaluations biologiques :

Vitalité cellulaire

Ce test de fonction cellulaire consiste à quantifier la vitalité des cellules présentes sur le support à caractériser par dosage fluorométrique. Le réactif Bleu Alamar (Interchim) incorpore un indicateur de croissance colorimétrique et fluorescent basé sur la détection de l'activité métabolique cellulaire. Le système comprend un indicateur de l'oxydation / réduction qui devient fluorescent et change de couleur en réponse à la réduction chimique du milieu de culture. Cette transformation n'est possible que par des cellules vivantes. L'intensité de la coloration est proportionnelle à l'activité cellulaire.

L'indicateur du taux d'oxydo-réduction relatif au métabolisme cellulaire indique des changements clairs et stables. De plus, ce test a la particularité de ne pas être destructif puisque le réactif ne présente aucune toxicité, ce qui permet entre autre de poursuivre la culture après l'expérience. La vitalité relative est exprimée en pourcentage $\pm$ écart type de la culture témoin. Deux échantillons pour chaque période d'exposition sont testés. Pour connaître le nombre de cellules à ensemercer dans chaque puits, un étalonnage préalable est réalisé. Cela montre que pour rester en phase de croissance exponentielle, nous déposerons pour ce test 7×10^3 cellules par puits pour les essais avec les cellules HPMEC.

Les échantillons testés sont préalablement rincés à l'eau distillée dans un bain à ultrasons deux fois 3 minutes puis immergés 5 minutes minimum dans l'éthanol sous hotte avant d'être séchés durant au 1 heure minimum.

Les cellules sont ensemençées dans des plaques multipuits (24 puits de 15 mm de diamètre, Costar) contenant les pastilles.

Préparation du Bleu Alamar :

Prélever 1,2 mL de solution mère de Bleu Alamar (Interchim Réf. : UP669413)

Compléter pour obtenir 30 mL avec du tampon phosphate

Filtrer avec un filtre 0,22 µm

Répartir environ 3 mL par tube

Conserver au congélateur

Les cellules sont mises à incuber à 37°C en atmosphère humide contenant 5% (v/v) de CO₂ pendant 3 et 6 jours. A la fin des périodes d'incubation des cellules (3 et 6 jours), le milieu est prélevé, et 500 µL d'une solution à 10% en volume de Bleu Alamar sont ajoutés. La boîte est placée dans l'étuve à 37°C pendant 3 heures. A la fin de cette période, 150 µL de chaque puits sont prélevés et placés dans une boîte NUNC 96 puits à fond noir en prenant soin de préserver de la lumière. La fluorescence est mesurée à 560 nm.

Prolifération cellulaire

Le test de prolifération cellulaire consiste en la détermination de la croissance cellulaire *in vitro* sur un support dont on veut évaluer la biocompatibilité. Le test est effectué sur des lignées cellulaires animales ou humaines provenant de préférence du site d'implantation (concept de cellules cibles) : ostéoblastes, fibroblastes, macrophages, cellules épithéliales, endothéliales, etc. Les cellules sont cultivées dans des plaques à 24 puits sur les pastilles d'une épaisseur de 3 mm et d'un diamètre de 14,9 mm. La période de culture est de 3 et 6 jours sans changement de milieu. Les cellules sont détachées de leur support par trypsination et comptées dans un compteur de cellules Coulter Z1. Le taux de prolifération relatif est exprimé en pourcentage $\pm$ écart type de la culture témoin. Six expériences séparées sont effectuées sur 2 ou 3 échantillons pour chaque période d'exposition. Pour connaître le nombre de cellules à ensemercer dans chaque puits, un étalonnage préalable est réalisé. Nous déposerons 7×10^3 cellules par puits pour les essais de prolifération cellulaire avec les cellules HPMEC.

Les échantillons testés sont préalablement rincés à l'eau distillée dans un bain à ultrasons deux fois 3 minutes puis immergés 5 minutes minimum dans l'éthanol sous hotte avant d'être

séchés durant 1 heure minimum. Les cellules sontensemencées dans des plaques multipuits contenant les échantillons.

A la fin des périodes d'incubation (3 et 6 jours) les cellules sont détachées des échantillons avec 0,3 mL de trypsine (0,1% (p/v) dans la solution Hank's sans Calcium et sans Magnésium) et une incubation de 10 minutes. Les échantillons sont douchés à l'aide de 7,7 mL d'EDTA pour bien détacher les cellules du matériau. La suspension de 10 mL ainsi obtenue est bien homogénéisée à l'aide d'une pipette Pasteur par aspirations-rejets répétés.

La suspension cellulaire obtenue est comptée à l'aide d'un compteur cellulaire Coulter Z1. Chaque suspension cellulaire est comptée deux fois.

Dégradation biologique en milieu de culture : MEM-10% sérum de veau fœtal (SVF) :

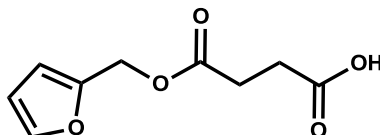
Cinq points de prélèvements: 0h, 8h, 24h, 72h, 120h (en accord avec les résultats de TBO réalisés à chaque temps, le protocole peut être adapté) et deux échantillons pour chaque temps sont nécessaires :

- Un milieu de culture comprenant du MEM, dans lequel 10% de SVF est ajouté, a été préparé de manière stérile
- Les pastilles de CoCr sont stérilisées aux UV pendant 15 min
- Les pastilles sont ensuite placées sous hotte dans des pots individuels où 2 mL de milieu enrichi avec 10% de SVF est ajouté; le pot est ensuite refermé de manière étanche et placé à 37°C sous agitation douce
- A chaque point, la pastille est retirée du pot, transférée dans une plaque 12 puits et est rincée afin d'éliminer les traces de milieu restant
- Les pastilles sont séchées obliquement durant une nuit ; la quantification TBO peut se faire le lendemain

II. Synthèses et caractérisations des ancres catéchols fonctionnalisées et des entités complémentaires pour la réaction de Diels-Alder

II.1. Synthèses et caractérisations des ancres à base de dopamine

II.1.1. Synthèse et caractérisation du composé 1



Le furfuryl alcool (10 g, 102 mmol) et l'anhydride succinique (11,2 g, 112 mmol) sont dissous dans du dichlorométhane anhydre (200 mL), à reflux, sous atmosphère d'azote. Quelques gouttes de triéthylamine sont ajoutées et le mélange réactionnel est agité pendant 15 heures. La phase organique est lavée par une solution d'HCl (0,5 mol.L⁻¹, 3 x 100 mL) puis à l'aide d'une solution de K₂CO₃ (10 % w/v, 2 x 100 mL), le produit est transféré dans la phase aqueuse. Celle-ci est alors acidifiée jusque pH = 4 (HCl 10 % w/v) et le résidu est extrait avec 3 x 100 mL de dichlorométhane. La phase organique est ensuite séchée sur MgSO₄ et après filtration, le solvant est évaporé. Le produit est finalement obtenu sous la forme d'un solide marron. Rendement : 18,1 g (90%).

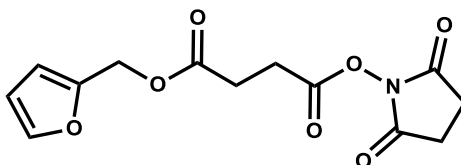
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm/TMS):

2,67 (m, 4H, CH₂-CH₂-COOH), 5,09 (s, 2H, CH₂-O), 6,36 (dd, 1H, CH=C(CH₂)), 6,41 (dd, 1H, O-CH=CH), 7,42 (dd, 1H, O-CH=CH).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃):

28,7 (CH₂-CH₂-COOH), 28,9 (CH₂-CH₂-COOH), 58,4 (CH₂-O), 110,6 (CH=C(CH₂)), 110,8 (O-CH=CH), 143,4 (O-CH=CH), 149,2 (CH=C(CH₂)), 171,8 (O-CO-CH₂), 178,2 (CH₂-COOH).

II.1.2. Synthèse et caractérisation du composé 2



Une suspension de *N*-hydroxysuccinimide (NHS, 2,61 g, 22,7 mmol) dans du CH₂Cl₂ anhydre (50 mL) est ajoutée goutte à goutte dans une solution de **1** (3 g, 15,1 mmol) et de *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) (4,69 g, 22,7 mmol) dans du CH₂Cl₂ (100 mL) sous atmosphère inerte (N₂) en présence d'un bain de glace à -5°C. Le mélange réactionnel est agité pendant une nuit puis après filtration, le solvant est éliminé sous pression réduite. Le produit est finalement purifié sur colonne de silice (CH₂Cl₂/acétate d'éthyle 5 : 1). Rendement: 3,62 g (81%).

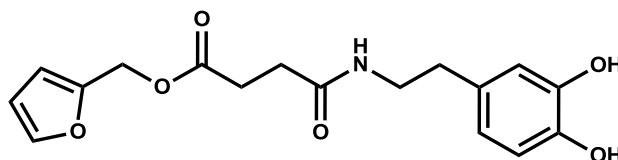
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm/TMS):

2,76 (t, 2H, CH₂-CO-O-N), 2,82 (s, 4H, CO-CH₂-CH₂-CO), 2,95 (t, 2H, (CH₂-CH₂-CO-O-N), 5,10 (s, 2H, CH₂-O), 6,36 (dd, 1H, CH=C(CH₂)), 6,42 (dd, 1H, O-CH=CH), 7,42 (dd, 1H, O-CH=CH).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃):

25,6 (CH₂-CH₂-CO-O-N), 26,2 (CH₂-CH₂-CO-O-N), 28,6 (CH₂-CH₂), 58,6 (CH₂-O), 110,6 (CH=C(CH₂)), 111,0 (O-CH-CH), 143,4 (O-CH=CH), 149,1 (CH=C(CH₂)), 167,7 (O-CO-CH₂), 168,9 (CO-N), 170,7 (CH₂-CO-O-N).

II.1.3. Synthèse et caractérisation de l'ancre Dopamine-Furane (**DF**)



Le chlorhydrate de dopamine (2,33 g, 12,3 mmol) est dissous dans une solution de méthanol (20 mL) contenant de la triéthylamine (2,56 mL, 18,4 mmol). Une solution de **2** (3,62 g, 12,3 mmol) dans du dichlorométhane anhydre (100 mL), est ajouté lentement à la première solution. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante, sous atmosphère d'azote pendant 48 heures puis les solvants sont éliminés sous pression réduite. Le résidu obtenu est dissous dans 100 mL de CH₂Cl₂ et lavé à HCl (0,5 mol.L⁻¹, 3 x 100 mL), séché sur MgSO₄ et après filtration, le solvant est évaporé. Le résidu est finalement purifié sur une colonne de silice (CH₂Cl₂/MeOH 10 :1) pour obtenir le produit sous forme d'une huile visqueuse marron foncé. Rendement : 2,36 g (58%).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm/TMS):

2,43 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO-O}$), 2,64 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CO-NH}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$), 3,42 (q, 2H, ($\text{CH}_2\text{-NH}$), 5,02 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6,07 (br, 1H, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 6,34 (dd, 1H, $\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_2)$), 6,38 (dd, 1H, $\text{O-CH}=\text{CH}$), 6,53 (dd, 1H, Aryl-H_e), 6,69 (d, 1H, Aryl-H_a), 6,78 (d, 1H, Aryl-H_d), 7,39 (dd, 1H, $\text{O-CH}=\text{CH}$).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3):

29,4 ($\text{CH}_2\text{-CO-NH}$), 30,8 ($\text{CH}_2\text{-CO-O}$), 34,7 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$), 41,1 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$), 58,5 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 110,7 ($\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_2)$), 111,0 (O-CH-CH), 115,2 ($\text{C}_{\text{aryl}d}\text{-H}$), 115,7 ($\text{C}_{\text{aryl}a}\text{-H}$), 120,7 ($\text{C}_{\text{aryl}e}\text{-H}$), 130,7 ($\text{C}_{\text{aryl}f}$), 143,0 ($\text{C}_{\text{aryl}b}\text{-OH}$), 143,5 ($\text{O-CH}=\text{CH}$), 144,0 ($\text{C}_{\text{aryl}c}\text{-OH}$), 149,0 ($\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_2)$), 172,3 (CO-NH), 172,9 (CO-O).

m/z : 356 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ [$\text{M}+\text{Na}$]

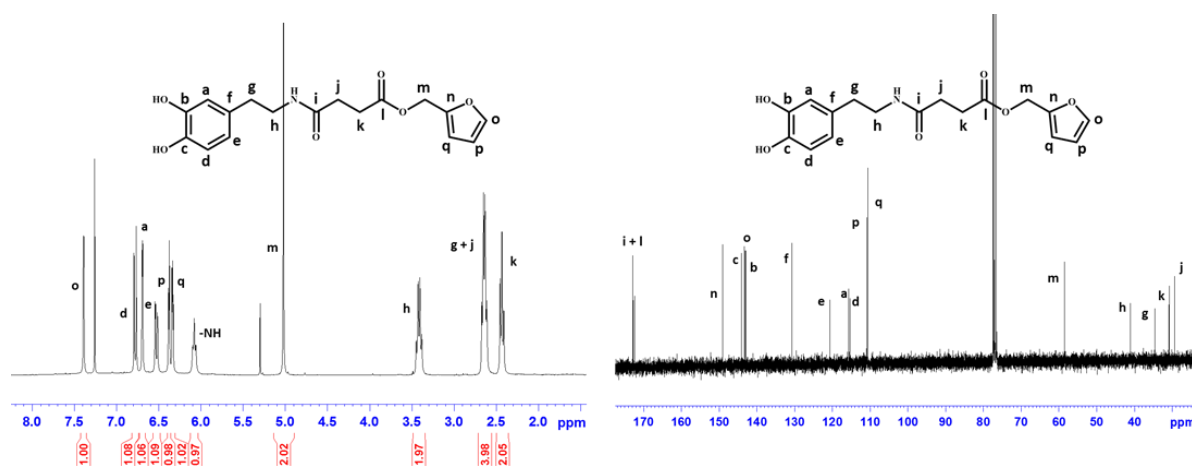


Figure PE.139: Spectres RMN ^1H et ^{13}C de l'ancre Dopamine-Furane

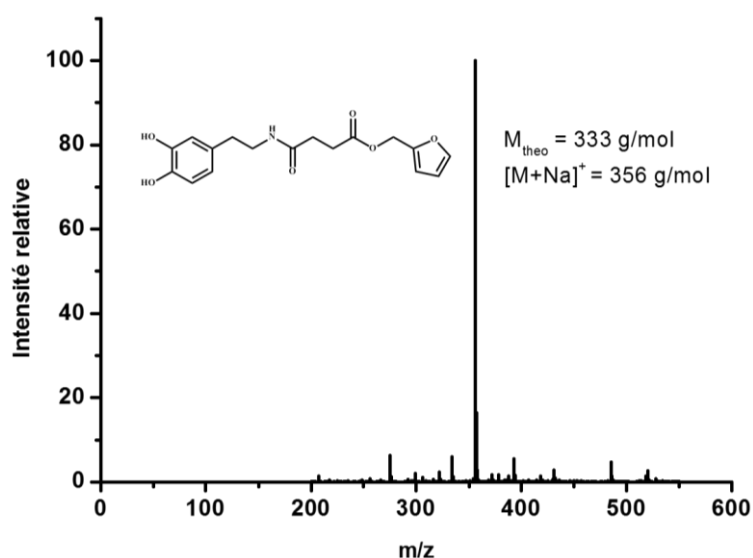
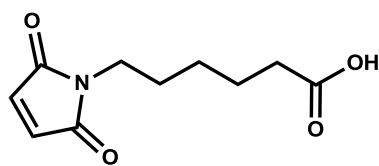


Figure PE.140 : Spectre de masse de l'ancre Dopamine-Furane

II.1.4. Synthèse et caractérisation du composé **3**

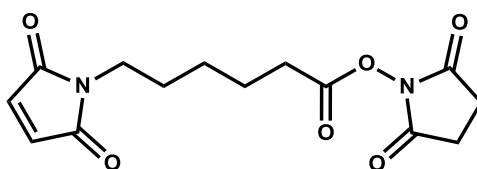
L'acide 6-aminocaproïque (6,72 g, 51,2 mmol) et l'anhydride maléique (5,02 g, 51,2 mmol) sont dissous dans de l'acétone anhydre (60 mL) et mis sous agitation sous azote pendant 4 heures. De la triéthylamine (1,71 mL, 12,3 mmol) et de l'acétate de sodium (2,33 g, 28,4 mmol) sont ensuite ajoutés au milieu réactionnel, mis à reflux et sous atmosphère d'azote. De l'anhydride acétique (10 mL, 106 mmol) est ensuite additionné lentement au mélange et l'ensemble est agité pendant une nuit à 100°C. Après retour à température ambiante, la phase organique est extraite avec 3 x 100 mL d'éther diéthylique puis séchée sur MgSO₄ et après filtration, le solvant est évaporé. Le produit est alors recristallisé dans de l'eau pour obtenir un solide brun. Rendement: 5,89 g (55%).

RMN ¹H (300 MHz, DMSO), δ (ppm/TMS):

1,21 (m, 2H, CH₂-CH₂-CH₂-COOH), 1,48 (m, 4H, N-CH₂-CH₂; CH₂-CH₂-COOH), 2,18 (t, 2H, CH₂-COOH), 3,38 (t, 2H, N-CH₂), 7,01 (s, 2H, CH=CH), 12,01 (br, 1H, COOH).

RMN ¹³C (75 MHz, MeOD):

25,6 (CH₂-CH₂-COOH), 27,3 (CH₂-CH₂-CH₂-COOH), 29,3 (N-CH₂-CH₂), 34,7 (CH₂-COOH), 38,4 (N-CH₂), 135,4 (CH=CH), 172,7 (C=O), 177,5 (COOH).

II.1.5. Synthèse et caractérisation du composé **4**

Une suspension de *N*-hydroxysuccinimide (NHS, 2,45 g, 21,3 mmol) dans du CH₂Cl₂ anhydre (20 mL) est ajoutée goutte à goutte dans une solution de **3** (3 g, 14,2 mmol) et de *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) (4,39 g, 21,3 mmol) dans du CH₂Cl₂ (100 mL) sous atmosphère inerte (N₂) en présence d'un bain de glace à -5°C. Le mélange réactionnel est agité pendant une nuit puis après filtration, le solvant est éliminé sous pression réduite. Le produit

est finalement purifié sur colonne de silice (CH_2Cl_2 /acétate d'éthyle 5 :1). Rendement: 3,42 g (68%).

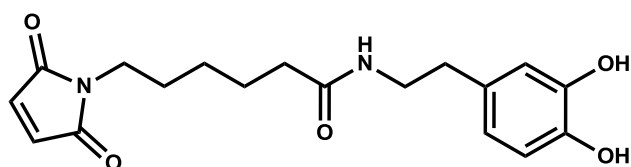
$\text{RMN } ^1\text{H}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

1,40 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-O}$), 1,62 (q, 2H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2$), 1,76 (q, 2H $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-O}$), 2,60 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO-O}$), 2,83 (s, 4H, $\text{CO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$), 3,52 (t, 2H, N-CH_2), 6,68 (s, 2H, CH=CH).

$\text{RMN } ^{13}\text{C}$ (75 MHz, CDCl_3):

24,1 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-O}$), 25,6 ($\text{CO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$), 25,9 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-O}$), 28,1 ($\text{N-CH}_2\text{-CH}_2$), 30,8 ($\text{CH}_2\text{-CO-O}$), 37,5 (N-CH_2) 134,1 (CH=CH), 168,4 (CO-O), 169,1 ($\text{CO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$), 170,9(CO-CH=CH-CO).

II.1.6. Synthèse et caractérisation de l'ancre Dopamine-Maléimide (**DM**)



Le chlorhydrate de dopamine (1,92 g, 10,1 mmol) est dissous dans une solution de méthanol (20 mL) contenant de la triéthylamine (1,76 mL, 12,6 mmol). Une solution de **4** (2,60 g, 8,4 mmol) dans du dichlorométhane anhydre (100 mL), est ajouté lentement à la première solution. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante, sous atmosphère d'azote pendant 48 heures puis les solvants sont éliminés sous pression réduite. Le résidu obtenu est dissous dans 100 mL de CH_2Cl_2 et lavé à HCl (0,5 mol.L⁻¹, 3 x 100 mL), séché sur MgSO_4 et après filtration, le solvant est évaporé. Le résidu est finalement purifié sur une colonne de silice (CH_2Cl_2 /MeOH 10 :1) pour obtenir le produit sous forme d'une poudre jaune. Rendement: 0,84 g (29%).

$\text{RMN } ^1\text{H}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

1,22 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-NH}$), 1,55 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2$; $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-NH}$), 2,12 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO-NH}$), 2,66 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$), 3,48 (m, 4H, N-CH_2 ; $\text{CH}_2\text{-NH}$), 5,77 (br, 1H, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 6,56 (dd, 1H, Aryl-H_e), 6,68 (s, 2H, CH=CH), 6,72 (d, 1H, Aryl-H_a), 6,81 (d, 1H, Aryl-H_d)

$\text{RMN } ^{13}\text{C}$ (75 MHz, CDCl_3):

25,1 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-NH}$), 26,1 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-NH}$), 28,1 ($\text{N-CH}_2\text{-CH}_2$), 34,8 ($\text{CH}_2\text{-C}_{\text{aryl}}$), 36,4 ($\text{CH}_2\text{-CO-NH}$), 37,6 ($\text{CH}_2\text{-NH}$), 40,9 (N-CH_2), 115,3 ($\text{C}_{\text{aryl}d}\text{-H}$), 115,6 ($\text{C}_{\text{aryl}a}\text{-H}$), 120,5 ($\text{C}_{\text{aryl}e}\text{-H}$), 130,6 ($\text{C}_{\text{aryl}f}$), 134,1 (CH=CH), 143,1 ($\text{C}_{\text{aryl}b}\text{-OH}$), 144,3 ($\text{C}_{\text{aryl}c}\text{-OH}$), 171,1 (C=O), 174,0 (CO-NH).

m/z : 369 g.mol^{-1} $[\text{M}+\text{Na}]$

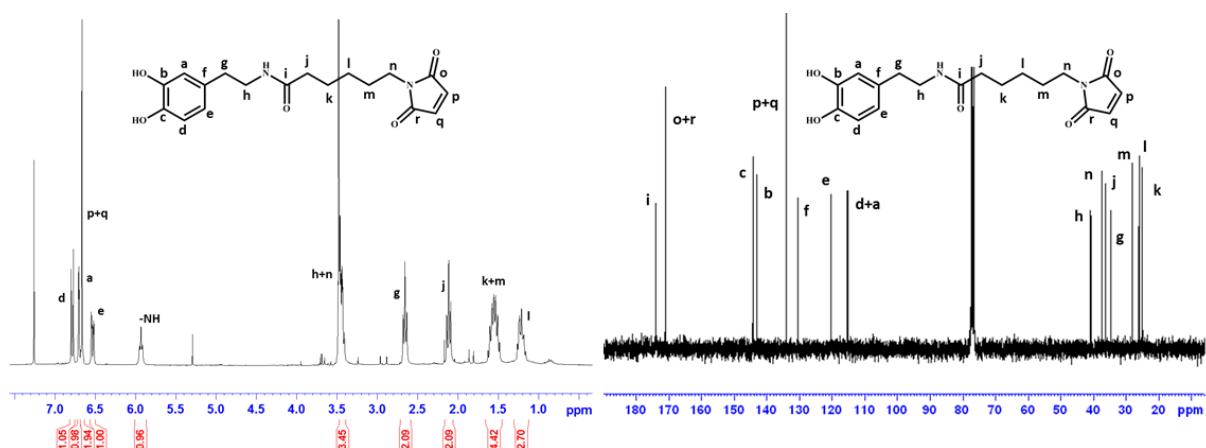


Figure PE.141 : Spectres RMN ^1H et ^{13}C de l'ancre Dopamine-Maléimide

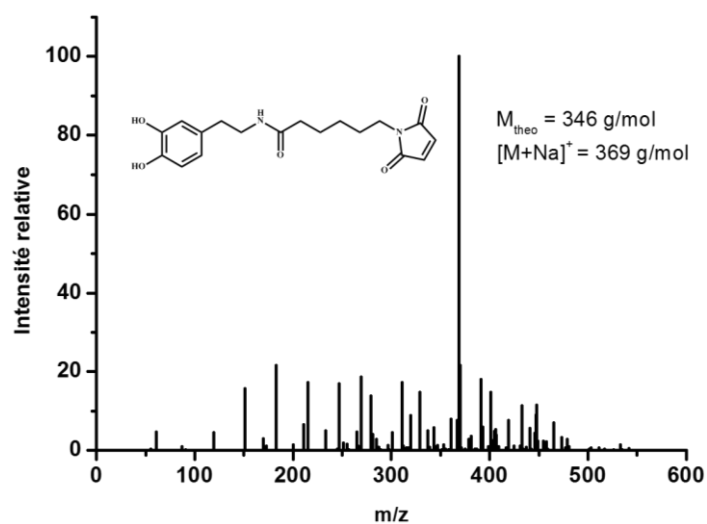
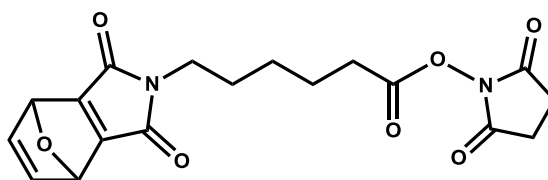


Figure PE.142 : Spectre de masse de l'ancre Dopamine-Maléimide

II.1.7. Synthèse et caractérisation du composé 5



Le composé **4** (1 g, 3,3 mmol) est dissous dans du CH_2Cl_2 anhydre (50 mL) et le furane (0,46 mL, 6,5 mmol) est ajouté. Le mélange est agité pendant 5 jours à reflux sous atmosphère inerte (N_2). Le solvant est ensuite éliminé sous pression réduite et le produit est purifié sur colonne de silice (CH_2Cl_2 /acétate d'éthyle 5 :1). Rendement: 0,60 g (49%).

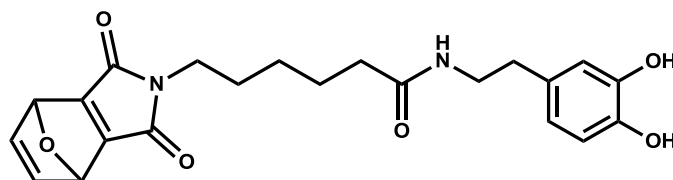
RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

1,40 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-O}$), 1,60 (q, 2H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2$), 1,75 (q, 2H $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-O}$), 2,59 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO-O}$), 2,84 (m, 4H, $\text{CO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$), 2,85 (m, 1,3H, CH-CO-N) et 3,52 (d, 0,7H, CH-CO-N), 3,33 (t, 0,7H, N-CH_2) et 3,49 (t, 1,3H, N-CH_2), 5,26 (t, 1,3H, CH-O-CH) et 5,32 (m, 0,7H, CH-O-CH), 6,40 (t, 0,7H, CH=CH) et 6,51 (t, 1,3H, CH=CH).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3):

24,1 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-O}$), 25,6 ($\text{CO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$), 27,1 ($\text{N-CH}_2\text{-CH}_2$), 29,7 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-O}$), 30,8 ($\text{CH}_2\text{-CO-O}$), 38,2 et 38,5 (N-CH_2), 46,0 et 47,4 (CH-CO-N), 79,4 et 80,9 (CH-O-CH), 134,5 et 136,5 (CH=CH), 167,1 (CO-O), 169,1 ($\text{CO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$), 176,3 (CO-N).

II.1.8. Synthèse et caractérisation de l'ancre Dopamine-Maléimide protégée (DMp)



Le chlorhydrate de dopamine (0,36 g, 1,91 mmol) est dissous dans une solution de méthanol (20 mL) contenant de la triéthylamine (0,33 mL, 2,39 mmol). Une solution de **5** (0,60 g, 1,60 mmol) dans du dichlorométhane anhydre (100 mL), est ajouté lentement à la première solution. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante, sous atmosphère d'azote pendant 48 heures puis les solvants sont éliminés sous pression réduite. Le résidu obtenu est dissous dans 100 mL de CH_2Cl_2 et lavé à HCl (0,5 mol. L^{-1} , 3 x 100 mL), séché sur MgSO_4 et après filtration, le solvant est évaporé. Le résidu est finalement purifié sur une colonne de silice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10 :1) et le produit est obtenu sous forme d'une poudre blanche. Rendement: 0,11 g (17%).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

1,23 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-NH}$), 1,58 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2$; $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-NH}$), 2,10 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO-NH}$), 2,69 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$), 2,87 (s, 1,55H, CH-CO-N) et 3,55 (dd, 0,45H, CH-CO-N), 3,32 (t, 0,45H, N-CH_2) et 3,47 (t, 1,55H, N-CH_2), 3,49 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$), 5,27 (t, 1,55H, CH-O-CH) et 5,34 (m, 0,45H, CH-O-CH), 5,56 (br, 1H, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 6,41 (t, 0,45H, CH=CH) et 6,53 (t, 1,55H, CH=CH), 6,60 (dd, 1H, Aryl- H_e), 6,72 (d, 1H, Aryl- H_a), 6,85 (d, 1H, Aryl- H_d).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3):

25,1 (CH₂-CH₂-CO-NH), 26,0 (CH₂-CH₂-CH₂-CO-NH), 27,2 (N-CH₂-CH₂), 34,9 (CH₂-CH₂-NH), 36,4 (CH₂-CO-NH), 38,8 (CH₂-NH), 40,8 (N-CH₂), 46,0 et 47,4 (CH-CO-N), 79,4 et 80,9 (CH-O-CH), 115,4 (C_{aryl}d-H), 115,7 (C_{aryl}a-H), 120,6 (C_{aryl}e-H), 130,8 (C_{aryl}f), 134,5 et 136,6 (CH=CH), 143,1 (C_{aryl}b-OH), 144,1 (C_{aryl}c-OH), 173,6 et 175,5 (C=O), 176,9 (CO-NH).

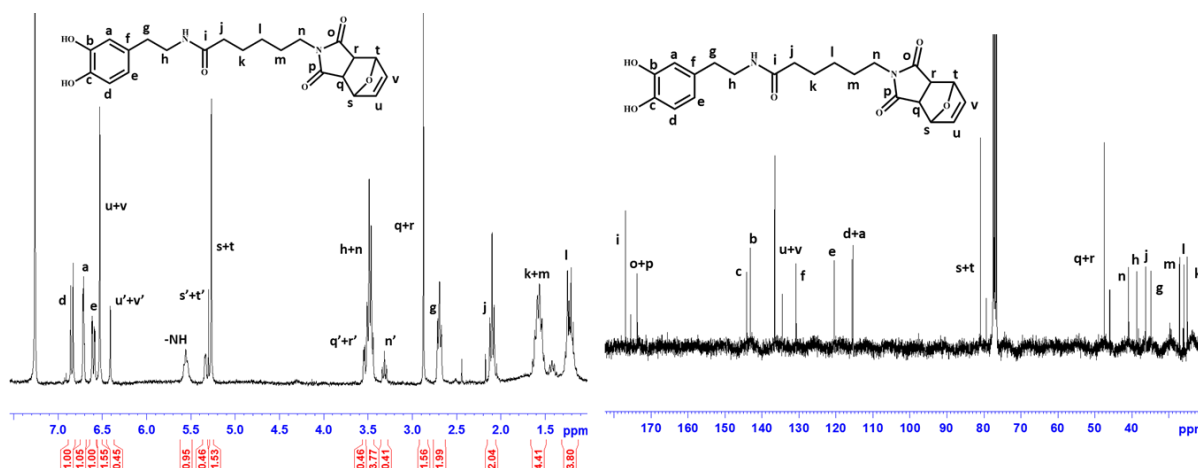
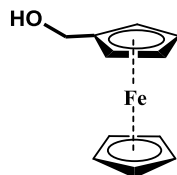


Figure PE.143 : Spectres RMN ¹H et ¹³C de l'ancre Dopamine-Maléimide protégé

II.2. Synthèse et caractérisation des sondes électro-actives

II.2.1. Synthèse et caractérisation de l'hydroxy-méthyle ferrocène



Le ferrocène carboxaldéhyde (1 g, 4,68 mmol) est dissous dans du méthanol anhydre (25 mL) et du borohydrure de sodium (0,89 g, 23,4 mmol) est ajouté par portions à la solution. Le mélange réactionnel est refroidi à -5/-10°C puis est agité pendant 30 minutes sous atmosphère inerte (N₂). Après hydrolyse et élimination de l'excès de NaBH₄, le produit est extrait par 3 x 50 mL de dichlorométhane, séché sur MgSO₄ et après filtration, le solvant est évaporé. Le produit est finalement obtenu sous forme d'une poudre jaune avec un rendement quantitatif.

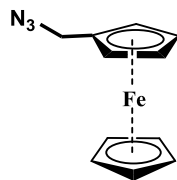
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm/TMS):

1,48 (m, 1H, CH₂-OH), 4,1-4,4 (m, 11H, C_{Fc}-H et CH₂-OH).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃):

60,8 ($\text{CH}_2\text{-OH}$), 69,1 ($\text{C}_{\text{FcIV}}\text{-H}$), 82,7 ($\text{C}_{\text{FcIV}}\text{-CH}_2$).

II.2.2. Synthèse et caractérisation de l'azoture de méthyle ferrocène



L'hydroxy-méthyle ferrocène (1 g, 4,63 mmol) et l'azoture de sodium (1,81 g, 27,8 mmol) sont dissous dans de l'acide acétique (60 mL) et mis sous agitation à 50°C pendant 3 heures. Le résidu est dilué dans 100 mL de dichlorométhane et est lavé à l'aide d'une solution saturée de NaHCO_3 (3 x 100 mL), séché sur MgSO_4 et après filtration, le solvant est éliminé sous pression réduite. Le résidu est finalement purifié sur une colonne de silice (acétate d'éthyle/éther de pétrole 1 :25) et le produit est obtenu sous forme d'une huile rouge avec un rendement de 90%.

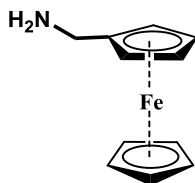
$\text{RMN } ^1\text{H}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

3,9-4,4 (m, 11H, $\text{C}_{\text{Fc}}\text{-H}$ et $\text{CH}_2\text{-N}_3$).

$\text{RMN } ^{13}\text{C}$ (75 MHz, CDCl_3):

52,2 ($\text{CH}_2\text{-N}_3$), 68,8 ($\text{C}_{\text{FcIV}}\text{-H}$), 82,2 ($\text{C}_{\text{FcIV}}\text{-CH}_2$).

II.2.3. Synthèse et caractérisation de l'aminométhyle ferrocène 6



L'azoture de méthyle ferrocène (1 g, 4,15 mmol) est dissous dans de l'éther diéthylique anhydre (70 mL) et de l'aluminohydruure de lithium (0,47 g, 12,5 mmol) est ajouté par portions à la solution. Le mélange réactionnel est agité pendant 30 minutes à température ambiante sous atmosphère inerte (N_2) puis l'excès de LiAlH_4 est éliminé par l'ajout de 100 mL d'eau. Le produit est alors extrait par 3 x 50 mL d'éther diéthylique puis lavé à l'aide d'une solution

saturée de chlorure de sodium et séché sur MgSO_4 . Après filtration, le solvant est évaporé et l'aminométhyle ferrocène (0,81 g, 90%) est obtenu sous forme d'une poudre jaune.

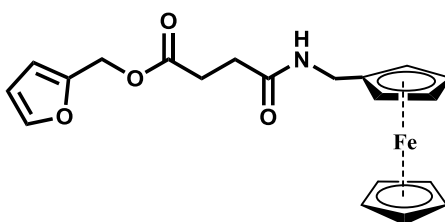
$\text{RMN } ^1\text{H}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

3,55 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}_2$), 4,10-4,23 (m, 9H, $\text{C}_{\text{Fc}}\text{-H}$).

$\text{RMN } ^{13}\text{C}$ (75 MHz, CDCl_3):

41,1 ($\text{CH}_2\text{-NH}_2$), 67,6 ($\text{C}_{\text{Fc}}\text{-H}$), 82,3 ($\text{C}_{\text{FcIV}}\text{-CH}_2$).

II.2.4. Synthèse et caractérisation de la sonde ferrocène furane **7**



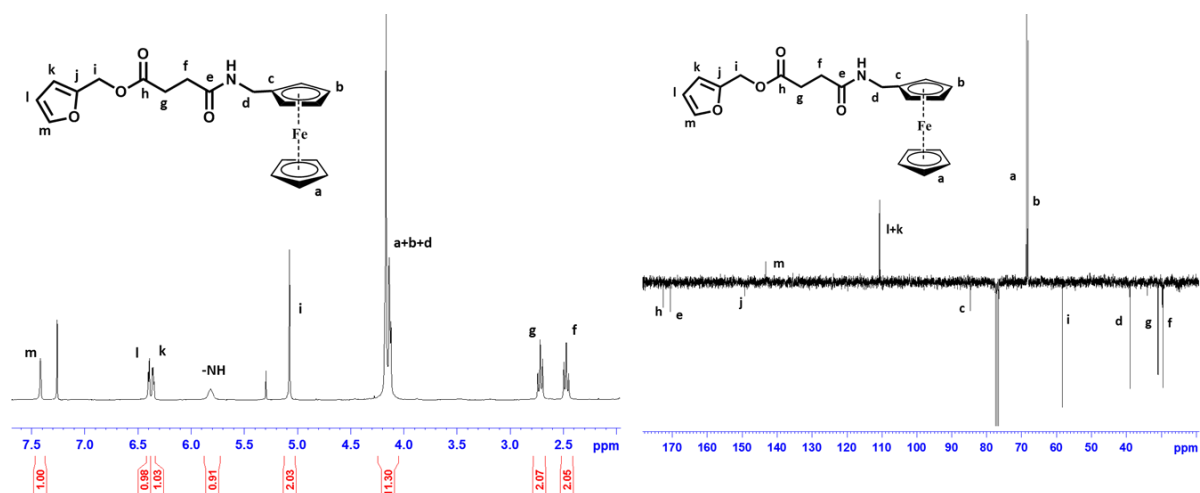
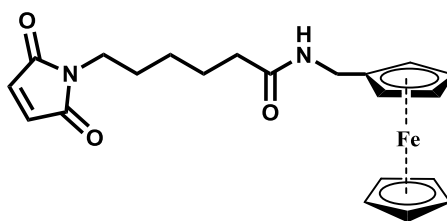
L'aminométhyle ferrocène **6** (0,4 g, 1,86 mmol) est dissous dans une solution de dichlorométhane (20 mL) contenant de la triéthylamine (0,39 mL, 2,79 mmol). Une solution de **2** (0,5 g, 1,69 mmol) dans du dichlorométhane anhydre (80 mL), est ajouté lentement à la première solution. Le milieu réactionnel, sous agitation et sous N_2 , est laissé à température ambiante pendant une nuit puis est lavé par 3 x 100 mL d'eau distillée. Après séchage de la solution sur MgSO_4 et filtration, l'évaporation du solvant conduit à la formation d'une poudre jaune-orange avec un rendement quantitatif.

$\text{RMN } ^1\text{H}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

2,47 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO-O}$), 2,72 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO-NH}$), 4,15 (m, 11H, $\text{CH}_2\text{-NH}$; $\text{C}_{\text{Fc}}\text{-H}$), 5,08 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 5,82 (br, 1H, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 6,36 (dd, 1H, $\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_2)$), 6,40 (dd, 1H, $\text{CH-CH}=\text{C}$), 7,42 (dd, 1H, $\text{O-CH}=\text{CH}$).

$\text{RMN } ^{13}\text{C}$ (75 MHz, CDCl_3):

29,6 ($\text{CH}_2\text{-CO-NH}$), 31,1 ($\text{CH}_2\text{-CO-O}$), 39,0 ($\text{CH}_2\text{-NH}$), 58,4 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 68,2 ($\text{C}_{\text{Fc}}\text{-H}$), 84,7 ($\text{CH}_2\text{-C}_{\text{Fc(IV)}}$), 110,6 ($\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_2)$), 110,7 ($\text{CH-CH}=\text{C}$), 143,4 ($\text{O-CH}=\text{CH}$), 149,2 ($\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_2)$), 170,7 (CO-NH), 172,7 (CO-O).

Figure PE.144 : Spectres RMN ^1H et ^{13}C de l'entité ferrocène furane **7**II.2.5. Synthèse et caractérisation de la sonde ferrocène maléimide **8**

L'aminométhyle ferrocène **6** (0,4 g, 1,86 mmol) est dissous dans une solution de dichlorométhane (20 mL) contenant de la triéthylamine (0,39 mL, 2,79 mmol). Une solution de **4** (0,52 g, 1,69 mmol) dans du dichlorométhane anhydre (80 mL), est ajouté lentement à la première solution. Le mélange réactionnel est mis sous agitation, à température ambiante et sous atmosphère d'azote pendant une nuit puis est lavé par 3 x 100 mL d'eau distillée et séché sur MgSO_4 . L'élimination du dichlorométhane sous pression réduite aboutit à la formation d'une huile orange avec un rendement quantitatif.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

1,32 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-NH}$), 1,64 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-NH}$), 2,15 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO-NH}$), 3,50 (t, 2H, N-CH_2), 4,14 (m, 11H, $\text{CH}_2\text{-NH}$; $\text{C}_{\text{Fc-H}}$), 5,58 (br, 1H, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 6,68 (s, 2H, CH=CH).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3):

25,1 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-NH}$), 26,3 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-NH}$), 28,3 ($\text{N-CH}_2\text{-CH}_2$), 36,5 ($\text{CH}_2\text{-CO-NH}$), 37,6 ($\text{CH}_2\text{-N}$), 38,9 (NH-CH_2), 68,7 ($\text{C}_{\text{Fc}}\text{-H}$), 84,8 ($\text{CH}_2\text{-C}_{\text{Fc(IV)}}$), 134,2 (CH=CH), 170,9 (CO-NH), 172,0 (C=O).

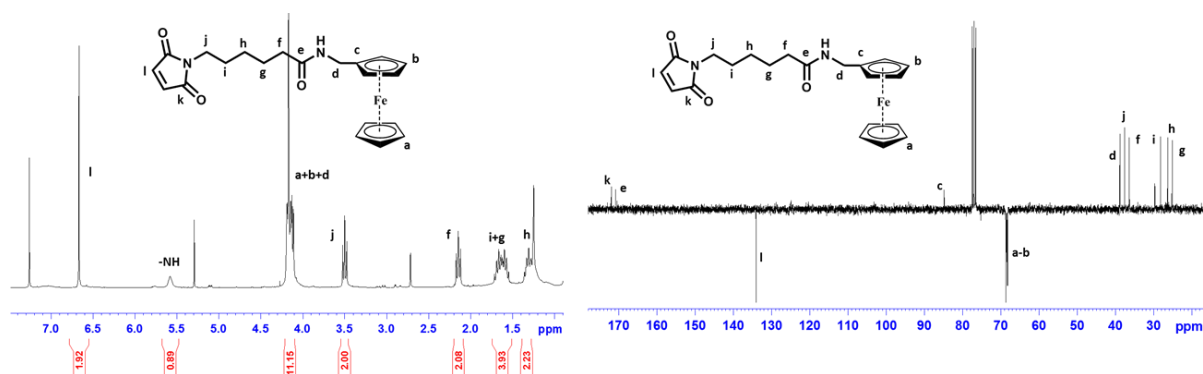
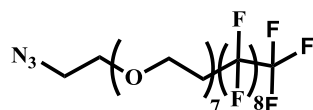


Figure PE.145 : Spectres RMN ^1H et ^{13}C de l'entité ferrocène maléimide **8**

II.3. Synthèses et caractérisations des sondes hydrophobes

II.3.1. Synthèse et caractérisation de l'azoture de Zonyl **9**

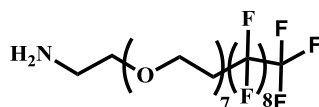


Le Zonyl-FSO-100 ($M_n \approx 809 \text{ g.mol}^{-1}$, avec $(\text{CF}_2)_x$, $x = 8$ et $(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O})_y$, $y = 8$, donné par RMN ^1H et ^{19}F) (20 g, 24,7 mmol) est dissous dans 100 mL de THF distillé. De la triéthylamine (2,8 mL, 27,2 mmol) est ajoutée et le milieu réactionnel est maintenu sous agitation et sous N_2 à $-5/-10^\circ\text{C}$. Une solution de chlorure de méthanesulfonyle dans 20 mL de THF est ensuite introduite lentement et le mélange réactionnel reste sous agitation pendant toute une nuit. Les sels de triéthylamine sont alors filtrés et le solvant est évaporé sous pression réduite. L'intermédiaire réactionnel ne subit aucune étape de purification et est immédiatement dissous dans du diméthylformamide (100 mL) contenant de l'azoture de sodium (2,41 g, 37,1 mmol). Le mélange est ensuite mis à reflux et sous atmosphère d'azote pendant 24 heures. Le solvant est évaporé et le produit brut est dissous dans du dichlorométhane (100 mL). La phase organique est alors lavée à l'aide d'eau distillée (3 x 100 mL) puis séchée sur MgSO_4 . Après filtration le solvant est éliminé et l'azoture de Zonyl est obtenu sous forme d'une huile marron avec un rendement de 87%.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

2,41 (m, 2H, CF₂-CH₂), 3,38 (t, 2H, CH₂-N₃), 3,50-3,73 (m, 26H, CH₂-CH₂-O), 3,76 (t, 2H, CF₂-CH₂-CH₂).

II.3.2. Synthèse et caractérisation de l' amino Zonyl **10**

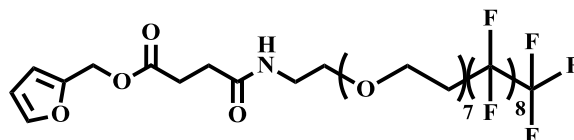


L' amino Zonyl est obtenu par réduction de l'azoture de Zonyl **9** (5 g, 6,0 mmol) en présence de LiAlH₄ dans les mêmes conditions que pour la formation de l'aminométhyl ferrocène décrite précédemment. A l'issue de la réaction, l' amino Zonyl est obtenu sous forme d'une huile visqueuse marron (2,8 g, 58%).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm/TMS):

2,43 (m, 4H, CF₂-CH₂, CH₂-NH₂), 2,89 (m, 2H, CH₂-NH₂), 3,47-3,74 (m, 26H, CH₂-CH₂-O), 3,77 (t, 2H, CF₂-CH₂-CH₂).

II.3.3. Synthèse et caractérisation de la sonde Zonyl furane **11**



L' amino Zonyl **10** (0,50 g, 0,63 mmol) est dissous dans une solution de dichlorométhane (30 mL) contenant de la triéthylamine (0,13 mL, 0,93 mmol). Une solution de **2** (0,20 g, 0,69 mmol) dans du dichlorométhane anhydre (70 mL), est ajouté goutte à goutte à la première solution. Le milieu réactionnel est mis sous agitation et sous atmosphère d'azote à température ambiante pendant une nuit. La solution est ensuite lavée à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium (1 mol.L⁻¹; 3 x 100 mL) puis par de l'eau distillée (3 x 100 mL) et séchée sur sulfate de magnésium. Après filtration, l'évaporation du solvant conduit à la formation d'une huile avec un rendement de 79%.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm/TMS):

2,45 (m, 4H, CF₂-CH₂; CH₂-CO-O), 2,65 (m, 2H, CH₂-CO-NH), 3,40 (m, 2H, CH₂-NH-CO), 3,45 (m, 2H, CH₂-CH₂-NH-CO), 3,50-3,70 (m, 24H, CH₂-CH₂-O), 3,78 (t, 2H, CF₂-CH₂-CH₂), 5,10 (s, 2H, CH₂-O-CO), 6,36 (dd, 1H, CH=C(CH₂)), 6,40 (dd, 1H, CH-CH=C), 7,42 (dd, 1H, O-CH=CH).

RMN ^{19}F (282 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

-126,3 (m, 2F, $\text{CF}_2\text{-CH}_2$), -123,8 à -122,0 (m, 12F, $(\text{CF}_2\text{-CF}_2)_3$), -113,6 (m, 2F, $\text{CF}_3\text{-CF}_2$), -81,0 (q, 3F, $\text{CF}_3\text{-CF}_2$).

IR: 3330 cm^{-1} (ν NH-CO), 1740 cm^{-1} (ν CO-O), 1670 cm^{-1} (ν CO-NH), 1150 cm^{-1} (ν C-O).

$M_{\text{nSEC}} = 1450 \text{ g/mol}$, $\text{Đ} = 1,17$.

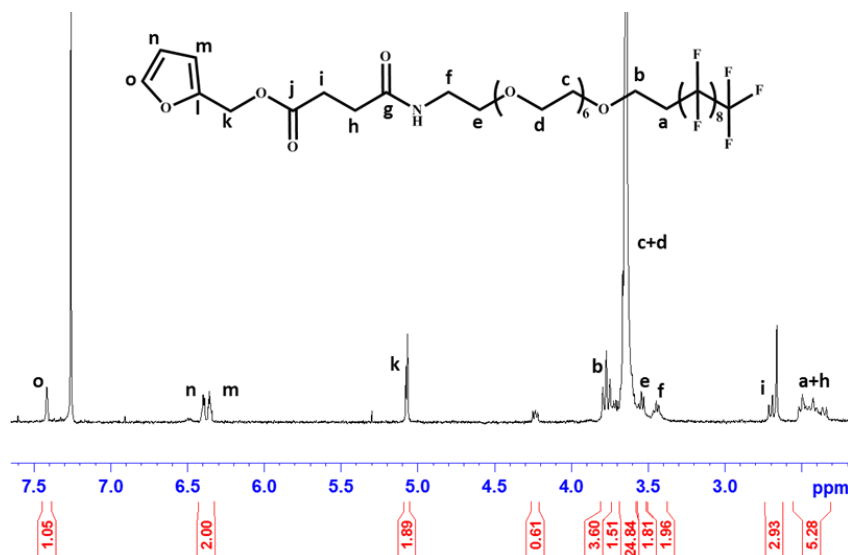
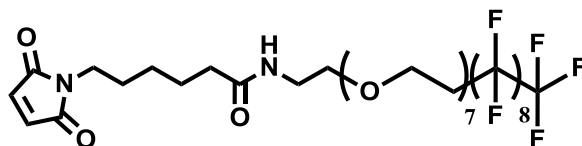


Figure PE.146 : Spectre RMN ^1H de la sonde hydrophobe Zonyl furane **11**

II.3.4. Synthèse et caractérisation de la sonde Zonyl maléimide (**12**)



Le Zonyl maléimide est obtenu par couplage entre l'amino Zonyl **10** (0,50 g, 0,63 mmol) avec le composé **4** (0,21 g, 0,68 mmol) en présence de triéthylamine (0,13 mL, 0,93 mmol) dans les mêmes conditions que pour la formation du Zonyl furane. A l'issue de la réaction, le produit est obtenu sous la forme d'une huile marron (0,47 g, 76%).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

1,40 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-NH}$), 1,62 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2$; $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-NH}$), 2,20 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO-NH}$), 2,45 (m, 2H, $\text{CF}_2\text{-CH}_2$), 3,40 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 3,52 (m, 4H, N-CH_2 ; $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$), 3,55-3,70 (m, 24H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 3,78 (t, 2H, $\text{CF}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 6,68 (s, 2H, CH=CH).

RMN ^{19}F (282 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

-126,3 (m, 2F, CF_2-CH_2), -123,8 à -122,0 (m, 12F, $(CF_2-CF_2)_3$), -113,6 (m, 2F, CF_3-CF_2), -81,0 (q, 3F, CF_3-CF_2).

IR: 3440 cm^{-1} (ν NH-CO), 1710 cm^{-1} (ν N-CO), 1660 cm^{-1} (ν CO-NH), 1150 cm^{-1} (ν C-O).

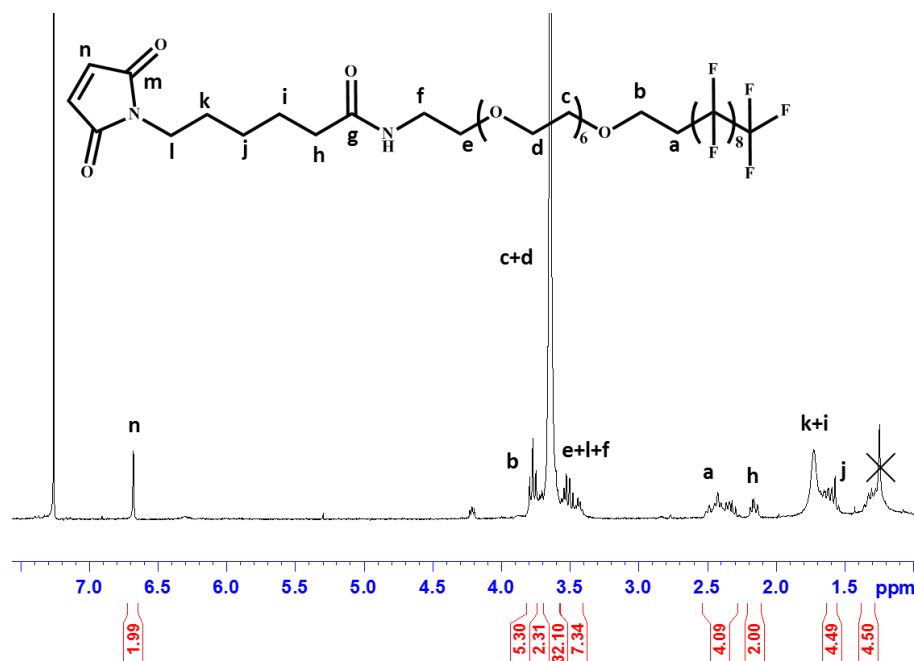
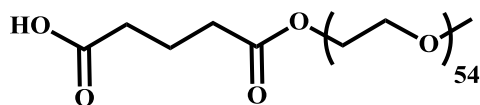
$$Mn_{SEC} = 1500 \text{ g/mol}, \bar{D} = 1,35.$$


Figure PE.147 : Spectre RMN ^1H de la sonde hydrophobe Zonyl maléimide **12**

II.4. Synthèses et caractérisations des sondes hydrophiles

II.4.1. Synthèse et caractérisation du PEG acide

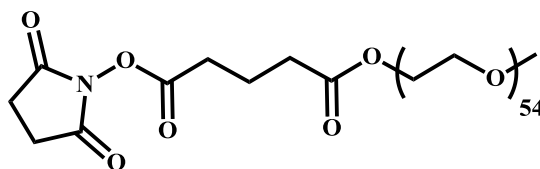


Le poly (éthylène glycol) méthyl éther ($M_n \approx 2000$ g/mol, 3 g, 1.5 mmol), l'anhydride glutarique (0,17 g, 1,5 mmol) et la triéthylamine (0,23 g, 2,25 mmol) sont dissous dans du dichlorométhane distillé (100 mL) et sont mis à reflux et sous atmosphère d'azote pendant 24 heures. Le solvant est évaporé, le résidu est ensuite dilué dans du dichlorométhane (5 mL) puis le polymère est précipité dans de l'éther diéthylique, filtré et séché sous vide. Rendement: 96%.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

1,95 (q, 2H, CO-CH₂-CH₂-CH₂-CO), 2,38 (t, 2H, CH₂-CH₂-COOH), 2,43 (t, 2H, CH₂-CO-O), 3,38 (m, 5H, CH₂-O-CH₃ ; CH₂-O-CH₃), 3,54 (m, 2H, CH₂-CH₂-O-CH₃), 3,55-3,75 (m, 208H, CH₂-CH₂-O), 3,87 (m, 2H, CH₂-CH₂-O-CO), 4,24 (m, 2H, CH₂-O-CO).

II.4.2. Synthèse et caractérisation du PEG succinimide

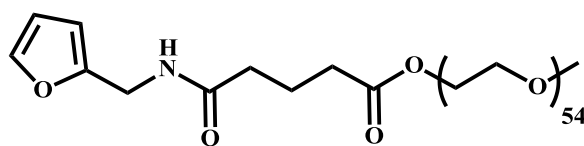


Une suspension de *N*-hydroxysuccinimide (NHS, 0,065 g, 0,57 mmol) dans du CH₂Cl₂ sec (20 mL) est ajouté goutte à goutte, à -5°C et sous N₂, à une solution de PEG acide (1 g, 0,47 mmol) et de *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC, 0,15 g, 0,71 mmol) dans du dichlorométhane (100 mL) pendant une nuit. Le mélange réactionnel est alors lavé trois fois à l'eau distillé; la phase organique est séchée sur MgSO₄ et après filtration, le solvant est évaporé. Le polymère est finalement purifié par précipitation dans un large excès d'éther diéthylique et est obtenu sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement de 69%.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm/TMS):

2,07 (q, 2H, CO-CH₂-CH₂-CH₂-CO), 2,50 (t, 2H, CH₂-CO-O), 2,71 (t, 2H, CH₂-CO-O-N), 2,84 (s, 4H, CO-CH₂-CH₂-CO), 3,37 (m, 5H, CH₂-O-CH₃; CH₂-O-CH₃), 3,54 (m, 2H, CH₂-CH₂-O-CH₃), 3,57-3,78 (m, 208H, CH₂-CH₂-O), 3,87 (t, 2H, CH₂-CH₂-O-CO), 4,24 (t, 2H, CH₂-O-CO).

II.4.3. Synthèse et caractérisation de la sonde PEG furane **13**



La furfurylamine (0,038 g, 0,39 mmol) est dissoute dans une solution de dichlorométhane (20 mL) contenant de la triéthylamine (0,05 g, 0,49 mmol). Une solution de PEG succinimide (0,77 g, 0,35 mmol) dans du CH₂Cl₂ (100 mL) est ajoutée lentement à la première solution. Le mélange est mis sous agitation et sous atmosphère inerte à température ambiante pendant toute une nuit. La phase organique est ensuite lavée à l'eau distillée (3 x 100 mL), séchée sur MgSO₄ puis après filtration le solvant est évaporé. Le PEG furane est

finalement obtenu sous forme d'une poudre blanche par précipitation dans de l'éther diéthylique. Rendement : 0,61 g (81%).

$M_{nSEC} = 3100$ g/mol, $\bar{D} = 1,02$.

RMN^1H (300 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm/TMS):

1,98 (q, 2H, CO-CH₂-CH₂-CH₂-CO), 2,26 (t, 2H, CH₂-CO-O), 2,39 (t, 2H, CH₂-CO-NH), 3,38 (m, 5H, CH₂-O-CH₃; CH₂-O-CH₃), 3,48-3,81 (m, 208H, CH₂-CH₂-O), 3,87 (t, 2H, CH₂-CH₂-O-CO), 4,22 (t, 2H, CH₂-O-CO) 4,42 (d, 2H, CH₂-NH), 6,22 (dd, 1H, CH=C(CH₂)), 6,31 (dd, 1H, CH-CH=C), 7,34 (dd, 1H, O-CH=CH).

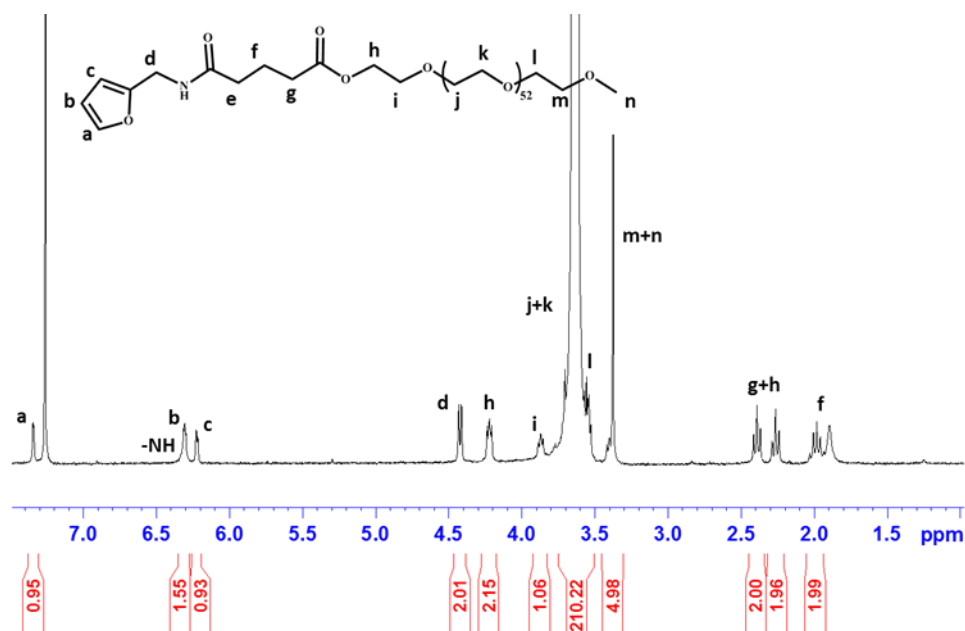
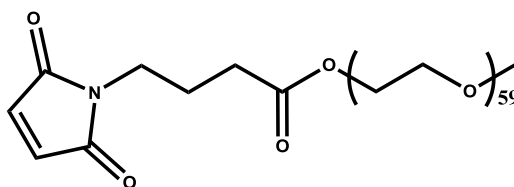


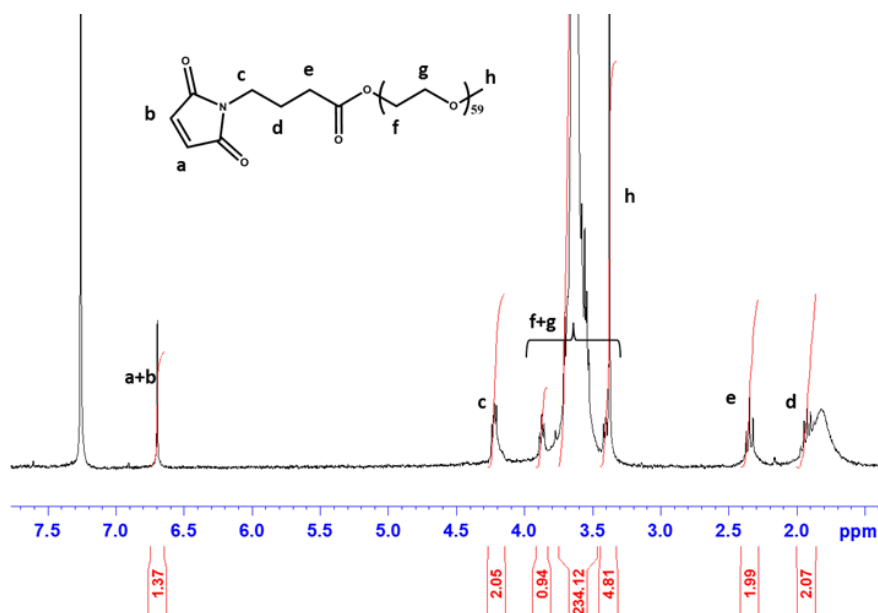
Figure PE.148 : Spectre RMN^1H de la sonde hydrophile PEG furane **13**

II.4.4. Caractérisation de la sonde PEG maléimide commerciale **14**



RMN^1H (300 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm/TMS):

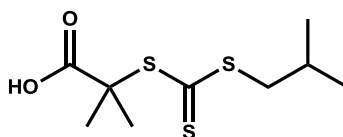
1,90 (m, 2H, N-CH₂-CH₂), 2,35 (t, 2H, CH₂-CO-O), 3,38 (m, 5H, CH₂-O-CH₃; CH₂-O-CH₃), 3,48-3,88 (m, 234H, CH₂-CH₂-O), 4,21 (t, 2H, N-CH₂) 6,69 (s, 2H, CH=CH).

Figure PE.149 : Spectre RMN ^1H de la sonde hydrophile PEG maléimide **14**

III. Synthèses des polymères fonctionnalisés en extrémités de chaîne

III.1. Synthèses et caractérisations des agents de transfert

III.1.1. Synthèse et caractérisation de l'agent de transfert **CTA1**



Une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium à 50% en masse (8,0 mL, 100 mmol) est ajoutée goutte à goutte à une solution de 2-méthyl-1-propanethiol (9,6 mL, 88 mmol), d'acétone (56 mL, 760 mmol) et de chlorure de tricaprylméthylammonium (1,6 mL, 9 mmol) maintenue sous atmosphère inerte (N_2) à 5°C en présence d'un bain de glace. Lorsque l'addition est terminée, l'ensemble est agité vigoureusement pendant 20 min. Un mélange de sulfure de carbone (5,6 mL, 88 mmol) et d'acétone (16 mL, 217 mmol) est ensuite introduit goutte à goutte au milieu réactionnel. La solution jaune obtenue est alors agitée pendant 30 min puis du chloroforme est ajouté (11,2 mL, 134 mmol). Une solution aqueuse de soude NaOH à 50% en masse (26 mL, 326 mmol) est ajoutée goutte à goutte et le mélange est agité pendant une nuit à température ambiante. Ensuite, de l'eau est ajoutée (130 mL) puis de

l'acide chlorhydrique concentré (66 mL) afin d'amener le pH de la solution entre 1 et 2. L'acétone restant dans le milieu est éliminé par un bullage à fort débit d'azote. La solide jaune-orange obtenu est recueilli par filtration sur fritté et lavé à l'eau distillée. Le solide est finalement recristallisé deux fois dans un mélange acétone/hexane (1 :20). Rendement: 12,5 g, (56%).

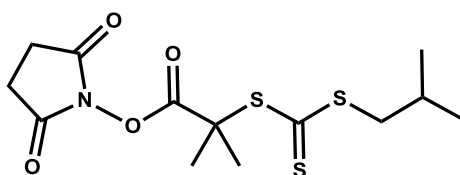
RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

1,01 (d, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1,72 (s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-CO}$), 1,98 (sept, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)_2$), 3,20 (d, 2H, $\text{S-CH}_2\text{-CH}$).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3):

22,1 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 25,2 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CO}$), 27,9 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 45,4 ($\text{S-CH}_2\text{-CH}$), 55,6 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 178,8 (C=O), 221,0 (C=S).

III.1.2. Synthèse et caractérisation de l'agent de transfert **CTA2**



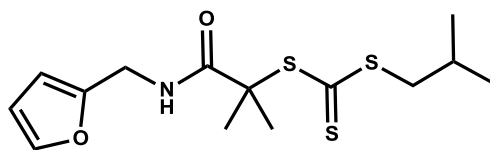
Une suspension de *N*-hydroxysuccinimide (NHS, 1,37 g, 11,9 mmol) dans du CH_2Cl_2 anhydre (50 mL) est ajoutée lentement dans une solution de **CTA1** (2 g, 7,9 mmol) et de *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) (2,5 g, 11,9 mmol) dans CH_2Cl_2 (80 mL) sous atmosphère inerte (N_2) en présence d'un bain de glace à -5°C . Le mélange réactionnel est agité pendant 1 nuit puis après filtration, le solvant est éliminé sous pression réduite. Le produit est finalement recristallisé dans un mélange acétone/hexane (1 : 20). Rendement: 2,28 g (83%).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

1,01 (d, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1,87 (s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-CO}$), 1,99 (sept, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)_2$), 2,81 (s, 4H, $\text{CO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$), 3,23 (d, 2H, $\text{S-CH}_2\text{-CH}$).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3):

22,1 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 25,5 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-CO}$), 25,6 ($\text{CO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$), 27,8 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 45,5 ($\text{S-CH}_2\text{-CH}$), 54,3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 168,7 (C=O), 218,9 (C=S).

III.1.3. Synthèse et caractérisation de l'agent de transfert **CTA3**

L'agent de transfert **CTA2** (1 g, 2,9 mmol) et le 2-aminométhylfuran (0,52 mL, 2,9 mmol) sont dissous dans du dichlorométhane anhydre (100 mL), à température ambiante, sous atmosphère d'azote. De la triéthylamine est ajoutée (0,6 mL, 4,3 mmol) et le mélange réactionnel est agité pendant 48 heures. La solution est ensuite lavée à l'eau distillée (3 x 50 mL), séchée sur MgSO_4 et après filtration, le solvant est évaporé. Le résidu est finalement purifié sur une colonne de silice (CH_2Cl_2) pour obtenir le produit sous forme d'une huile jaune. Rendement : 0,48 g (51%).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

0,99 (d, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1,70 (s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-CO}$), 1,95 (sept, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)_2$), 3,17 (d, 2H, $\text{S-CH}_2\text{-CH}$), 4,39 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 6,20 (dd, 1H, $\text{CH-C}(\text{CH}_2)$), 6,30 (dd, 1H, O-CH=CH), 6,75 (br, 1H, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 7,31 (dd, 1H, O-CH=CH).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3):

22,1 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 25,8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-CO}$), 27,8 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 37,3 (NH-CH_2), 45,3 (S-CH_2), 57,0 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-CO}$), 107,9 ($\text{CH=C}(\text{CH}_2)$), 110,4 (O-CH=CH), 142,7 (O-CH=CH), 151,0 ($\text{CH=C}(\text{CH}_2)$), 172,8 (C=O), 219,8 (C=S).

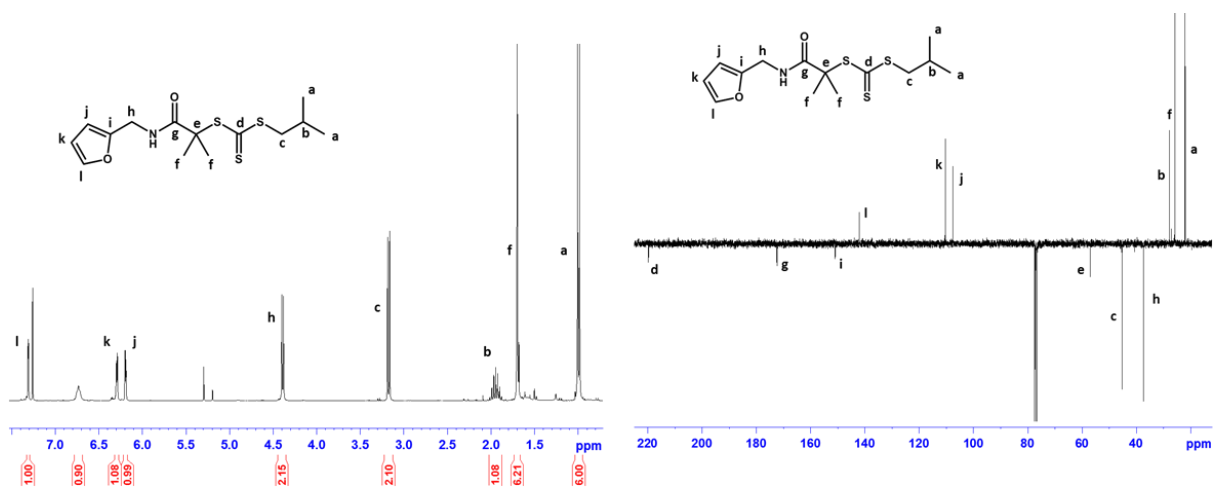
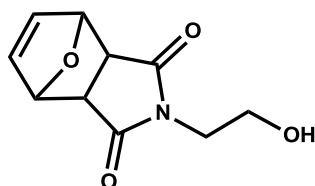


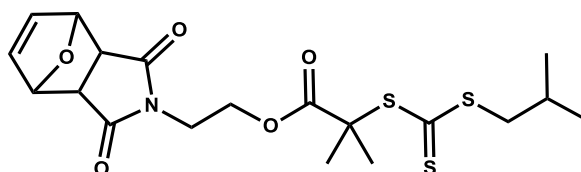
Figure PE.150 : Spectres RMN ^1H et ^{13}C de l'agent de transfert **CTA3**

III.1.4. Synthèse et caractérisation du composé **15**

L'anhydride maléique (20 g, 204 mmol) et le furane (14,47 g, 213 mmol) sont dissous dans du toluène distillé (100 mL) à température ambiante, sous atmosphère d'azote pendant 24 heures. Le produit précipité est ensuite collecté par filtration et lavé abondamment à l'éther diéthylique. Sans aucune autre purification, ce produit blanc est alors dissous dans 80 mL de méthanol anhydre puis de l'éthanolamine (12,44 g, 204 mmol) est ajoutée. La solution devient orangée puis est mise à reflux pendant 24 heures. Après retour à température ambiante, le produit cristallise et est finalement collecté par filtration sous forme de cristaux blancs. Rendement: 15,9 g (43%).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

2,093 (s, 2H, CH-CO-N), 3,41 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$), 4,78 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{-OH}$), 5,12 (s, 2H, CH-O-CH), 6,51 (s, 2H, CH=CH).

III.1.5. Synthèse et caractérisation de l'agent de transfert **CTA4**

Une suspension de **15** (0,85 g, 4,1 mmol) dans du CH_2Cl_2 anhydre (20 mL) est ajoutée lentement dans une solution de l'agent de transfert **CTA1** (1,03 g, 4,1 mmol), de *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) (1,26 g, 6,1 mmol) et de 4-diméthylaminopyridine (DMAP) (0,05 g, 0,4 mmol) dans CH_2Cl_2 (100 mL) sous atmosphère inerte (N_2) en présence d'un bain de glace à -5°C . Le mélange réactionnel est agité pendant 12 heures puis après filtration, le solvant est éliminé sous pression réduite. Le produit est finalement recristallisé dans un mélange acétone/hexane (1 : 20). Rendement: 1,39 g (77%).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

0,99 (d, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1,65 (s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-CO}$), 1,95 (sept, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)_2$), 2,86 (s, 1,7H, CH-CO-N) et 2,90 (s, 0,3H, CH-CO-N), 3,16 (d, 2H, $\text{S-CH}_2\text{-CH}$), 3,78 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 4,24 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 5,26 (t, 1,7H, CH-O-CH) et 5,29 (t, 0,3H, CH-O-CH), 6,51 (t, 1,7H, CH=CH) et 6,53 (t, 0,3H, CH=CH).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3):

22,1 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 25,1 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-CO}$), 27,9 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 37,6 (N-CH_2), 45,5 ($\text{S-CH}_2\text{-CH}$), 47,6 ($(\text{CH})_2\text{-CO-N}$), 56,0 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-CO}$), 62,2 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 80,9 (CH-O-CH), 136,6 (CH=CH), 172,9 ($\text{CO-C}(\text{CH}_3)_2$), 175,9 (CO-N), 221,9 (C=S).

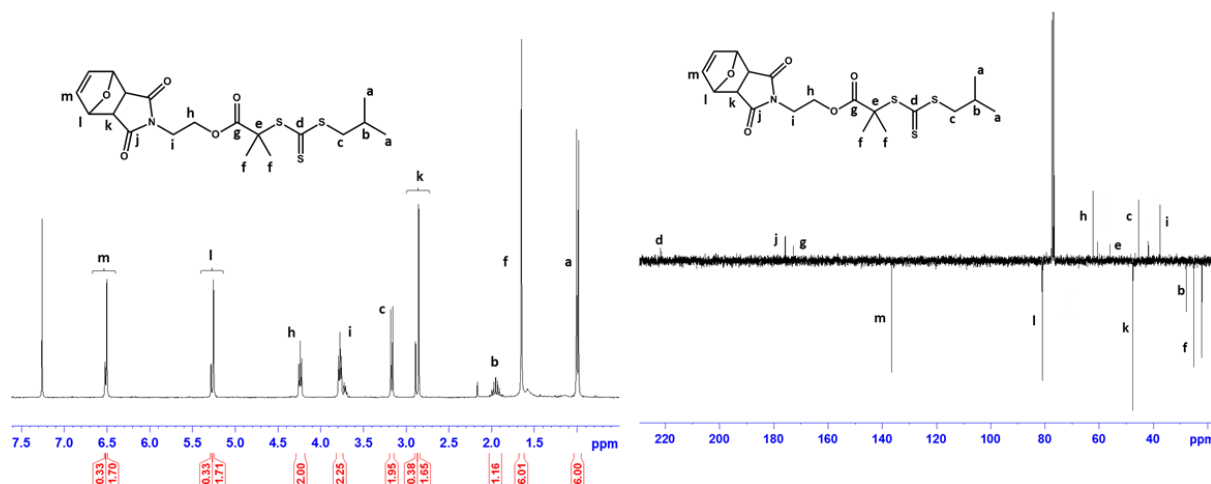
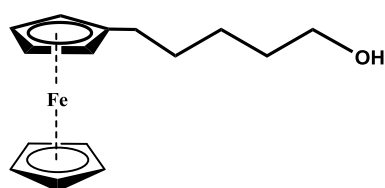


Figure PE.151 : Spectres RMN ^1H et ^{13}C de l'agent de transfert **CTA4**

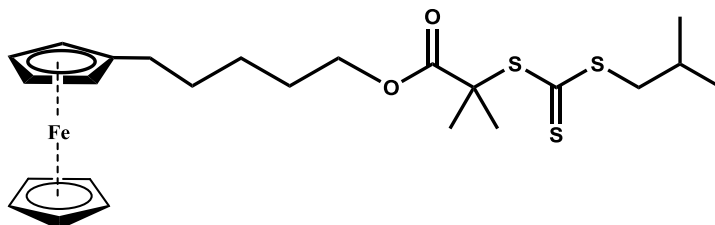
III.1.6. Synthèse du composé **16**



La synthèse du dérivé ferrocène **16** s'effectue en plusieurs étapes selon un protocole adapté de la littérature ⁶. Très succinctement, le ferrocène réagit tout d'abord avec l'anhydride succinique en présence de chlorure d'ammonium. Le produit formé subit ensuite une réduction de Clemmensen en présence de zinc (Zn) amalgamé à du mercure (Hg) à reflux de l'acide chlorhydrique (HCl), ce qui permet de réduire la fonction carbonyle. Finalement la réduction de la fonction acide carboxylique de cet intermédiaire en alcool en présence de LiAlH_4 permet l'obtention du produit **16**.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

1,19-1,58 (m, 6H, $\text{HO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 2,28 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-Fc}$), 3,54 (t, 2H, O-CH_2), 4,07 (m, 9H, Fc-H)

III.1.7. Synthèse et caractérisation de l'agent de transfert **CTA5**

Une suspension de **16** (0,50 g, 1,8 mmol) dans du CH_2Cl_2 anhydre (20 mL) est ajoutée lentement dans une solution contenant l'agent de transfert **CTA1** (0,70 g, 2,8 mmol), le 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDCI) (0,53 g, 2,8 mmol) et 100 mL de CH_2Cl_2 . Le mélange réactionnel est alors mis sous agitation, sous atmosphère inerte (N_2) et en présence d'un bain de glace à -5°C pendant 12 heures. Le résidu est lavé à l'aide d'une solution saturée de NaHCO_3 (3 x 50 mL), lavé à l'eau distillé (2 x 50 mL) puis la phase organique est séchée sur MgSO_4 . Après filtration, le solvant est éliminé sous pression réduite et le résidu est finalement purifié sur une colonne de silice (CH_2Cl_2 /éther de pétrole 1 :1) pour obtenir le produit sous forme d'une huile jaune. Rendement: 0,78 g (94%).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

1,01 (d, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1,29-1,65 (m, 6H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 1,69 (s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-CO}$), 1,97 (sept, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)_2$), 2,16 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-Fc}$), 3,21 (d, 2H, $\text{S-CH}_2\text{-CH}$), 4,08 (t, 2H, O-CH_2), 4,31 (9H, Fc-H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3):

22,2 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 25,2 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-CO}$), 27,9 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 28,5-29,8 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 30,9 ($\text{CH}_2\text{-Fc}$), 41,6 ($\text{S-CH}_2\text{-CH}$), 65,5 (O-CH_2), 67,8 ($\text{C}_{\text{Fc-H}}$), 69,4 ($\text{CH}_2\text{-C}_{\text{Fc-H}}$), 171,4 (CO-O), 220,3 (C=S).

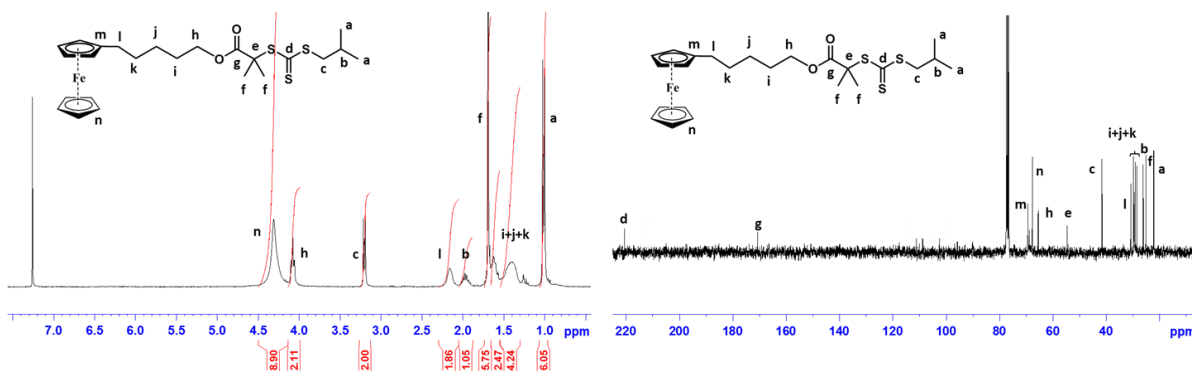
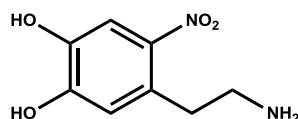


Figure PE.152 : Spectres RMN ^1H et ^{13}C de l'agent de transfert **CTA5**

III.1.8. Synthèse et caractérisation de la nitro-dopamine (17)

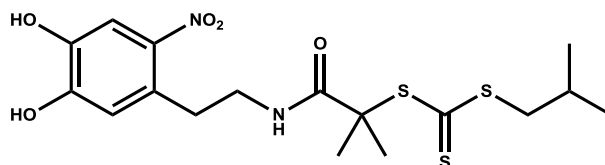


Dans un ballon tricol, de l'acide sulfurique pur (3,1 g, 31,6 mmol) est ajouté très lentement à une solution aqueuse (40 mL) contenant le chlorhydrate de dopamine (3 g, 15,9 mmol) et le nitrite de sodium (3,27 g, 47,5 mmol) sous agitation vigoureuse à -5/-10 °C. La réaction retourne ensuite à température ambiante puis est laissée sous agitation pendant 12 heures. Le précipité jaune-orangé formé est alors filtré et lavé plusieurs fois à l'eau et au méthanol glacé et le produit **17** est récolté sous forme d'une poudre jaune. Rendement: 1,77g (61%).

RMN ^1H (300 MHz, D_2O), δ (ppm/TMS):

3,25 (t, 2H, CH₂-NH₂), 3,37 (t, 2H, CH₂-Aryl), 3,41 (m, 2H, CH₂-NH₂), 6,94 (s, 1H, Aryl-*H*-C(CH₂)), 7,73 (s, 1H, Aryl-*H*-C(NO₂)).

III.1.9. Synthèse et caractérisation de l'agent de transfert **CTA6**



L'agent de transfert **CTA2** (1 g, 2,9 mmol) et la nitro-dopamine **17** (0,96 g, 3,4 mmol) sont dissous dans du diméthylformamide (150 mL), à température ambiante, sous

atmosphère d'azote. De la triéthylamine est ajoutée (0,6 mL, 4,3 mmol) et le mélange réactionnel est agité pendant 48 heures dans le noir. Le solvant est ensuite évaporé et le produit brut est dissous dans du CH_2Cl_2 (100 mL) puis lavé à l'eau distillée (3 x 100 mL). La solution est séchée sur MgSO_4 et après filtration, le solvant est évaporé. Finalement, le résidu est purifié sur une colonne de silice (CH_2Cl_2 / MeOH 10 : 1). Rendement: 0,74 g (61%).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS):

0,99 (d, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1,66 (s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-CO}$), 1,92 (sept, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)_2$), 3,06 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-Aryl}$), 3,10 (d, 2H, $\text{S-CH}_2\text{-CH}$), 3,60 (q, 2H, $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2$), 6,89 (s, 1H, Aryl-H_k), 7,38 (t, 1H, $\text{CH}_2\text{-NH-CO}$), 7,55 (s, 1H, Aryl-H_n).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3):

22,1 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 25,7 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-CO}$), 27,8 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 31,3 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-Aryl}$), 42,1 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$), 45,5 ($\text{S-CH}_2\text{-CH}$), 56,7 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 112,2 ($\text{C}_{\text{aryl-H}_n}$), 117,1 ($\text{C}_{\text{aryl-H}_k}$), 127,8 ($\text{C}_{\text{aryl-CH}_2}$), 141, ($\text{C}_{\text{aryl-NO}_2}$), 143,6 ($\text{C}_{\text{aryl-OH}}$), 149,7 ($\text{C}_{\text{aryl-OH}}$), 174,7 (C=O), 220,3 (C=S).

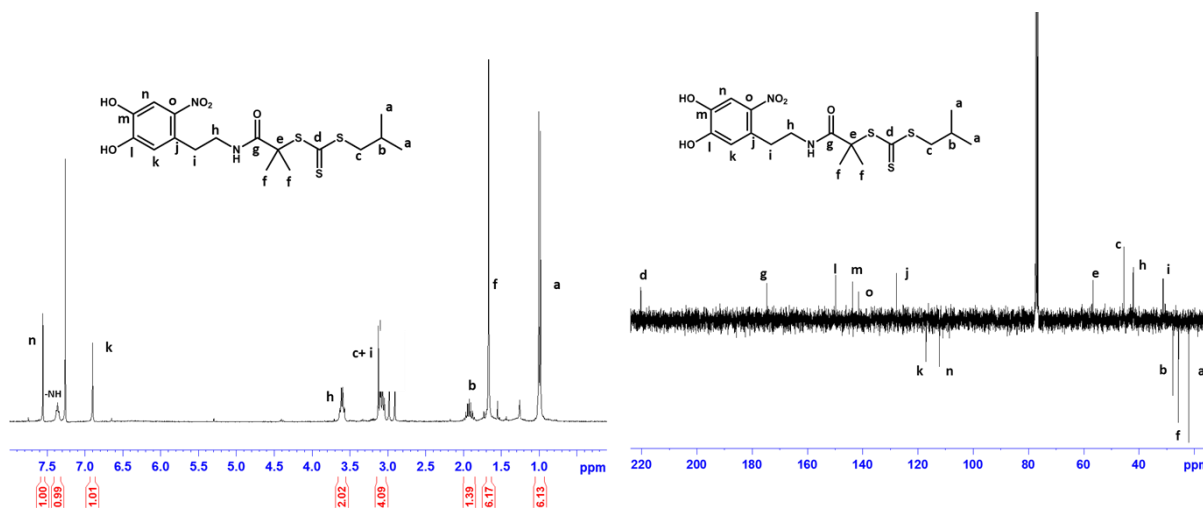
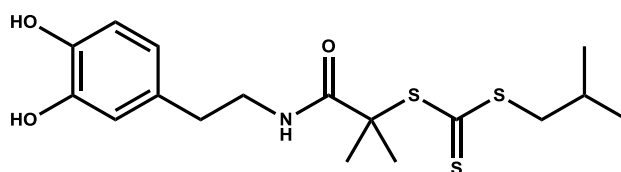


Figure PE.153 : Spectres RMN ^1H et ^{13}C de l'agent de transfert **CTA6**

III.1.10. Synthèse et caractérisation de l'agent de transfert **CTA7**



L'agent de transfert **CTA2** (5,0 g, 14,3 mmol) et le chlorhydrate de dopamine (3,0 g, 15,8 mmol) sont dissous dans du méthanol (150 mL) à température ambiante sous

atmosphère d'azote. Après 20 min de réaction, de la triéthylamine (2,4 mL, 17,2 mmol) est ajoutée progressivement et la solution est agitée pendant 48h dans le noir. Le solvant est évaporé pour donner une huile orange. Ce produit brut est dissous dans l'éther diéthylique (50 mL) puis lavé avec une solution saturée de NaHCO_3 (5 x 20 mL). La solution lavée est séchée sur MgSO_4 . Après filtration, la solution est évaporée. Le produit est finalement précipité dans l'hexane sous agitation vigoureuse pour donner un solide jaune orangé. Rendement: 3,9 g (70 %).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm/TMS) : 0,94 (d, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1,59 (s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,89 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)_2$), 2,60 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-Aryl}$), 3,11 (d, 2H, $\text{S-CH}_2\text{-CH}$), 3,37 (q, 2H, $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2$), 6,49 (dd, 1H Aryl- H_o), 6,54 (t, 1H, CO-NH-CH_2), 6,63 (d, 1H, Aryl- H_k), 6,72 (d, 1H, Aryl- H_n).
RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 22,1 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 25,8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-CO}$), 27,8 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 34,5 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$), 41,8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$), 45,5 ($\text{S-CH}_2\text{-CH}$), 57,1 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 115,3 ($\text{C}_{\text{aryl}}\text{-H}_n$), 115,5 ($\text{C}_{\text{aryl}}\text{-H}_k$), 120,7 ($\text{C}_{\text{aryl}}\text{-H}_o$), 130,7 ($\text{C}_{\text{aryl}}\text{-CH}_2$), 143,0 ($\text{C}_{\text{aryl}}\text{-OH}$), 144,2 ($\text{C}_{\text{aryl}}\text{-OH}$), 173,4 (C=O), 220,0 (C=S).

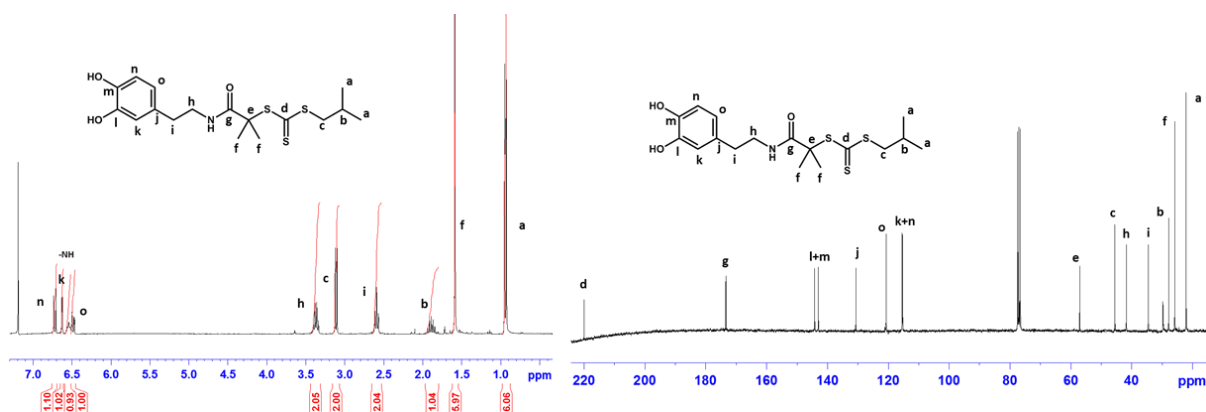


Figure PE.154 : Spectres RMN ^1H et ^{13}C de l'agent de transfert **CTA7**

III.2. Polymérisation par RAFT : procédure générale

L'agent de transfert, l'amorceur (AIBN), le monomère et le solvant sont introduits dans un tube Schlenk. La solution est dégazée pendant 45-60 minutes par bullage d'azote puis le mélange réactionnel est mis sous agitation et plongé dans un bain chauffé à température de polymérisation. A la fin de chaque polymérisation, le solvant est évaporé et le polymère est purifié soit par précipitation dans un non-solvant, soit par dialyse. Les différents paramètres utilisés pour chaque polymérisation sont répertoriés dans le Tableau PE.15.

Tableau PE.15 : Paramètres de polymérisation employés pour l'élaboration des polymères fonctionnalisés en extrémités de chaîne

Polymère	$[M]_0/[CTA]_0/[A]_0$	T (°C)	Temps	Solvant	Monomère/Solvant (g/mL)	Purification
CTA3/6-POEGA	30/1/0,2	80	16h	DMF	30/70	Dialyse dans acétone
CTA3/6/7-PTFEA	100/1/0,2	80	16h	DMF	20/80	Dialyse dans acétone
CTA3/6-PNIPAM	100/1/0,2	80	16h	DMF	25/75	Précipitation dans Et ₂ O
CTA5-PNIPAM	100/1/0,2	80	5h	Toluène	25/75	Précipitation dans Et ₂ O
CTA4-POEGA	30/1/0,2	75	16h	DMF	30/70	Dialyse dans acétone
CTA4-PTFEA	100/1/0,2	75	16h	DMF	20/80	Dialyse dans acétone
CTA4-PNIPAM	200/1/0,2	80	1h	DMF	25/75	Précipitation dans Et ₂ O

$[M]_0$, $[CTA]_0$ et $[A]_0$: concentration initiale respectivement du monomère, de l'agent de transfert et de l'amorceur.

Calcul de la conversion de monomère au cours des polymérisations :

- *Cas du PNIPAM :*

La conversion de monomère de NIPAM est calculée à partir des spectres RMN ¹H ((CD₃)₂CO) de l'échantillon prélevé avant la purification en étudiant la disparition des protons vinyliques. Pour ce faire, il suffit d'effectuer le rapport entre l'intégration du signal situé à 3,86 ppm correspondant au proton aliphatique CH situés en α du groupement NH des formes monomères et polymères (que l'on fixe à 1) et l'intégration du signal situé à 5,38 ppm correspondant au proton du groupement vinylique du monomère (CH₂-CH).

La conversion en PNIPAM est déterminée au temps t selon la relation suivante :

$$\tau_{(PNIPAM,t)} = 100 \times \left(\frac{1 - I_{5,38}^t}{I_{5,38}^0} \right)$$

Avec I_x : intégration du massif à X ppm

Équation PE.3 : Calcul du taux de conversion en PNIPAM par RMN ¹H.

- *Cas du POEGA et du PTFEA :*

La conversion des monomères d'OEGA et de TFEA est également déterminée à partir des spectres RMN ¹H (CDCl₃) des échantillons prélevés avant purification en étudiant la

disparition des protons vinyliques. De la même manière que pour le PNIPAM, le taux de conversion des deux monomères acrylates est réalisé en calculant le rapport entre l'intégration du signal situé à 4,1 ppm correspondant aux deux protons du groupement O-CH₂ des formes monomères et polymères (fixé à 1) et l'intégration des signaux situés à 6,05 ppm et 6,31 ppm correspondant aux deux protons du groupement vinylique du monomère (CH₂=CH).

La conversion en monomère acrylate est déterminée au temps t selon la relation suivante :

$$\tau_{(\text{POEGA ou PTFEA}, t)} = 100 \times \left(\frac{1 - (I_{6,05}^t + I_{6,31}^t)}{(I_{6,05}^0 + I_{6,31}^0)} \right)$$

Avec I_x : intégration du massif à X ppm

Équation PE.4 : Calcul du taux de conversion en POEGA ou PTFEA par RMN ¹H.

Calcul des masses molaires moyennes en nombre des polymères obtenus après purification :

Pour l'ensemble des polymères, les masses molaires moyennes en nombre ont été déterminées par RMN ¹H (Mn_{RMN}) selon la relation suivante :

$$Mn_{\text{RMN}} = \frac{I_{\text{poly}}/n_{\text{poly}}}{I_{\text{CTA}}/n_{\text{CTA}}} \times M_{\text{monomère}} + M_{\text{CTA}}$$

Mn_{RMN} : Masse molaire moyenne en nombre estimée par RMN ¹H (g.mol⁻¹)

I_{poly} : Intégration du signal d'un groupe de protons de l'unité monomère

n_{poly} : Nombre de protons dans l'unité monomère correspondant à I_{poly}

I_{CTA} : Intégration du signal du groupe de protons de l'agent de transfert

n_{CTA} : Nombre de protons de l'agent de transfert correspondant à I_{CTA}

M_{monomère} : Masse molaire du monomère (g.mol⁻¹)

M_{CTA} : Masse molaire de l'agent de transfert (g.mol⁻¹)

Équation PE.5 : Calcul de la masse molaire en nombre obtenue par RMN ¹H (Mn_{RMN})

III.3. Réaction de rétro Diels-Alder sur les polymères fonctionnalisés en extrémité de chaîne par le motif maléimide protégé

Pour réaliser la réaction de rDA, le polymère fonctionnalisé en extrémité de chaîne par le motif maléimide protégé (nommé « CTA4-polymère ») est introduit dans un ballon surmonté d'un réfrigérant et contenant 50 mL de toluène. Le milieu réactionnel est mis sous agitation et porté à 110 °C pendant deux jours. Le mélange est ensuite refroidi à l'aide d'un bain d'eau glacée puis le solvant est évaporé. Le polymère, désormais nommé « CTA4'-polymère », est finalement obtenu soit par précipitation dans un non-solvant ou purifié à l'aide d'une membrane par dialyse.

IV. Préparation des surfaces de titane

IV.1. Préparation des échantillons

L'ensemble des études réalisées ont été menées à l'aide de titane de grade 4 (pureté de 99.6%, GoodFellow) commercialisé sous la forme de barre de section circulaire (diamètre 15 mm) de 2 mètres de long. Dans un premier temps, les barres ont été pré-découpées en échantillons de plus petite longueur puis des pastilles d'épaisseur 3 mm ont été obtenues à l'aide d'une micro-tronçonneuse Secotom-10 équipée d'un disque de découpe en SiC 20S25 (Struers).

Les pièces de titane découpées sont tout d'abord ébavurées puis chanfreinées et subissent ensuite un polissage mécanique par l'intermédiaire d'une polisseuse automatique Buehler Phoenix 4000 permettant le polissage simultané de 6 échantillons (Figure PE.155).



Figure PE.155 : Polisseuse automatique utilisée pour la préparation des échantillons de titane

Pour ce faire, les pastilles sont fixées sur des résines de taille adaptée grâce à de l'adhésif double face et sont maintenues par serrage des empreintes sur un porte-échantillon comportant six ouvertures. Après fixation du porte-échantillon au niveau de la tête de la polisseuse, les échantillons subissent un polissage mécanique grâce à plusieurs disques de polissage de granulométrie différente (600/1200/2400) dont les paramètres optimaux (pression, vitesse, lubrifiant, temps ...) sont répertoriés dans le Tableau PE.16. Finalement, un feutre Supra 5 est utilisé avec une solution colloïdale diluée dite de « superfinition » à base de carbure de silicium (SPM) faisant office de lubrifiant et d'abrasif.

Ce polissage mécanique semi-automatique permet ainsi d'obtenir un état de surface « miroir » dont la rugosité est comprise entre 50 et 100 nm et également de posséder une parfaite reproductibilité en terme de préparation d'échantillons de titane.

Tableau PE.16 : Paramètres utilisés pour le polissage mécanique

Disque	Pression Début(lbs)	Pression Fin(lbs)	Rotation (tr.min ⁻¹)	Lubrifiant	Durée (min)
600	20	50	100	Eau	5
1200	20	50	100	Eau	3
2400	20	50	150	Eau	5
Supra 5	25	100	200	SPM	5

Dès la fin du cycle de polissage, les surfaces de titane sont rincées abondamment à l'eau afin d'éliminer les particules de titane abrasées et les résidus de colloïdes. Les échantillons sont ensuite rincés trois fois de suite pendant 10 minutes sous ultrasons dans des bains d'eau distillée, d'acétone et d'éthanol puis séchés sous flux d'azote.

IV.2. Oxydation des surfaces

Après polissage des surfaces de titane, les échantillons sont traités à l'aide d'une solution dite « piranha », composée d'un mélange d'acide sulfurique concentré et de peroxyde d'hydrogène (H₂SO₄/H₂O₂ 1:1) dans laquelle ils sont immergés pendant 2 min. Le temps d'immersion a été préalablement étudié afin de conserver l'état de surface « miroir » de l'échantillon. Les pièces de titane sont ensuite lavées abondamment à l'eau distillée puis sous

ultrasons dans un bain d'eau distillée, d'acétone et d'éthanol; et ce 3 fois de suite pendant 10 minutes. Elles sont finalement séchées sous courant d'azote.

IV.3. Fonctionnalisation des surfaces par les ancres catéchols

Les surfaces de titane fraîchement oxydées sont placées dans des piluliers, immergées dans une solution contenant 1 mM des ancres catéchols fonctionnalisées dans un mélange H₂O/MeOH (1 :1) et sont mises sous agitation, à température ambiante pendant toute une nuit. Après l'étape de greffage, les échantillons sont vigoureusement rincés dans le même mélange de solvants que celui utilisé pour la fonctionnalisation et sont séchés sous courant d'azote.

IV.4. Post-fonctionnalisation des plateformes de titane modifiées à travers la réaction de Diels-Alder ou à travers la réaction de thiol-ène

Pour réaliser les réactions de Diels-Alder ou de thiol-ène directement sur les surfaces de titane, une solution concentrée (CH₂Cl₂ ou DMF) de l'entité complémentaire à celle déjà présente sur la surface est déposée sur les échantillons (Figure PE.156). Ces derniers sont alors placés dans une étuve ventilée et soumis à un traitement thermique à 60°C pendant 7 jours (Diels-Alder) ou 3 jours (thiol-ène). Après réaction, les pastilles sont rincées abondamment avec le solvant utilisé pour la réaction et sont séchées sous flux d'azote.



Figure PE.156 : Illustration de la réalisation du dépôt des solutions concentrées sur les surfaces de titane permettant d'engendrer les réactions de Diels-Alder et de thiol-ène

IV.5. Recyclage des plateformes de titane par réaction de rétro Diels-Alder

Les réactions de rétro Diels-Alder sur les pastilles de titane sont réalisées dans un ballon à fond plat surmonté d'un réfrigérant. Les échantillons sont immergés dans du toluène distillé chauffé à 130°C, pendant 48h (molécules sondes) ou pendant 14 jours (polymères fonctionnalisés). Après réaction, les surfaces sont rincées abondamment avec du toluène et du dichlorométhane, séchées sous flux d'azote et font directement l'objet des diverses caractérisations (XPS, CV, mesures d'angle de contact...).

IV.6. Fonctionnalisation des surfaces de CoCr par la polydopamine

La fonctionnalisation des surfaces de CoCr est réalisée par simple immersion des échantillons dans une solution de dopamine à 2 mg.mL⁻¹ dans une solution de tampon Tris à 10 mM ajustée à pH = 8,5 à l'aide d'une solution de soude (0,1 M) [les échantillons issus de ce procédé sont nommés CoCr-PDA dans le manuscrit]. La réaction est effectuée à température ambiante et sous agitation (400 rpm) ; l'influence de la durée de la réaction est évaluée au cours de l'étude (1h et 16h). Les pastilles recouvertes de PDA sont ensuite rincées à l'eau distillée puis placées ou non dans une étuve ventilée. Quatre températures de recuit sont étudiées (150°C, 160°C, 170°C et 180°C) pour des durées variables (20, 30, 45 et 60 minutes) [les échantillons sont notés CoCr-PDA150, 160, 170 et 180 et CoCr-PDA20, 30, 45 et 60].

IV.7. Post-fonctionnalisation des plateformes CoCr-PDA par le polymère de cyclodextrine

Les plateformes de CoCr-PDA recuites ou non sont ensuite immergées pendant 10 minutes (37°C, 80 rpm) dans 10 mL d'une solution contenant la Me β CD/NaH₂PO₂/CTR avec un ratio de 10/3/10 (g/100 mL d'eau ultrapure). Les échantillons sont alors séchés à 90°C pendant 30 minutes dans une étuve ventilée. Finalement, la réaction de polycondensation est étudiée à trois températures (140°C, 150°C et 160°C) et à quatre durées de fixation (20, 30, 45 et 60 minutes) ⁷ [les échantillons sont nommés CoCr-PDA-polyCD]. L'excès de polymère non greffé est ensuite éliminé grâce à une étape de rinçage intensive à l'eau distillée.

Références bibliographiques

1. Taha, M.; Chai, F.; Blanchemain, N.; Goube, M.; Martel, B.; Hildebrand, H. F., Validating the poly-cyclodextrins based local drug delivery system on plasma-sprayed hydroxyapatite coated orthopedic implant with toluidine blue O. *Materials Science and Engineering: C* **2013**, 33 (5), 2639-2647.
2. Gupta, B.; Plummer, C.; Bisson, I.; Frey, P.; Hilborn, J., Plasma-induced graft polymerization of acrylic acid onto poly(ethylene terephthalate) films: characterization and human smooth muscle cell growth on grafted films. *Biomaterials* **2002**, 23 (3), 863-871.
3. Gupta, B.; Hilborn, J. G.; Bisson, I.; Frey, P., Plasma-induced graft polymerization of acrylic acid onto poly(ethylene terephthalate) films. *Journal of Applied Polymer Science* **2001**, 81 (12), 2993-3001.
4. Uchida, E.; Uyama, Y.; Ikada, Y., Sorption of low-molecular-weight anions into thin polycation layers grafted onto a film. *Langmuir* **1993**, 9 (4), 1121-1124.
5. Hamerli, P.; Weigel, T.; Groth, T.; Paul, D., Surface properties of and cell adhesion onto allylamine-plasma-coated polyethyleneterephthalat membranes. *Biomaterials* **2003**, 24 (22), 3989-3999.
6. Patwa, A. N.; Gupta, S.; Gonnade, R. G.; Kumar, V. A.; Bhadbhade, M. M.; Ganesh, K. N., Ferrocene-Linked Thymine/Uracil Conjugates: Base Pairing Directed Self-Assembly and Supramolecular Packing. *The Journal of Organic Chemistry* **2008**, 73 (4), 1508-1515.
7. Blanchemain, N.; Karrou, Y.; Tabary, N.; Neut, C.; Bria, M.; Siepmann, J.; Hildebrand, H. F.; Martel, B., Methyl- β -cyclodextrin modified vascular prosthesis: Influence of the modification level on the drug delivery properties in different media. *Acta Biomaterialia* **2011**, 7 (1), 304-314.

Annexes

Annexe 1

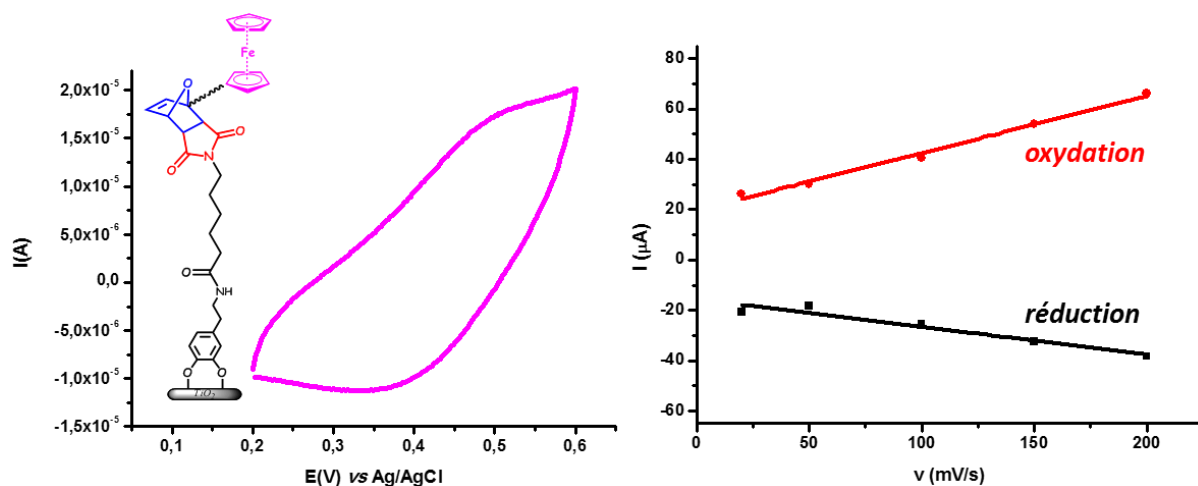


Figure A.157 : (Gauche) Voltampérométrie cyclique de la plateforme Ti-DM fonctionnalisée par le motif ferrocène **7** après réaction de Diels-Alder;
Conditions : solution électrolyte d'acétonitrile (TBAPF₆ 0.1M) ; vitesse de balayage de 50 mV.s⁻¹
(Droite) Evolution de l'intensité des pics d'oxydo-réduction en fonction de la vitesse de balayage

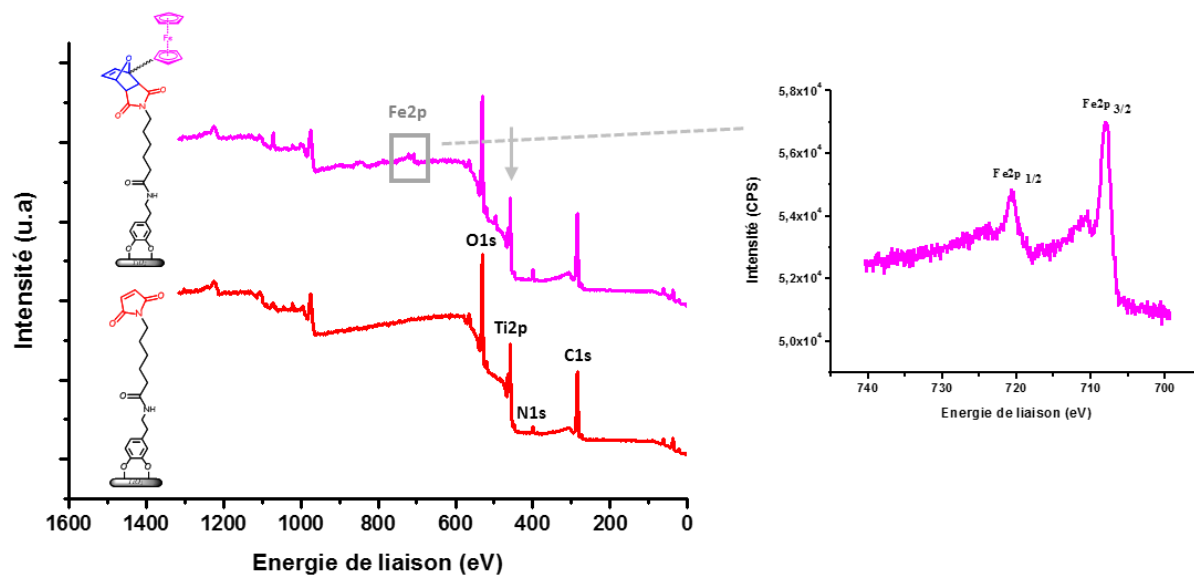


Figure A.158 : (Gauche) Spectres XPS de surfaces de Ti-DM avant (rouge) et après réaction de DA avec la sonde ferrocène **7** (violet).
(Droite) Spectre XPS du niveau de cœur du fer Fe2p de la plateforme Ti-DM modifiée à l'aide de la sonde électrochimique ferrocène **7**

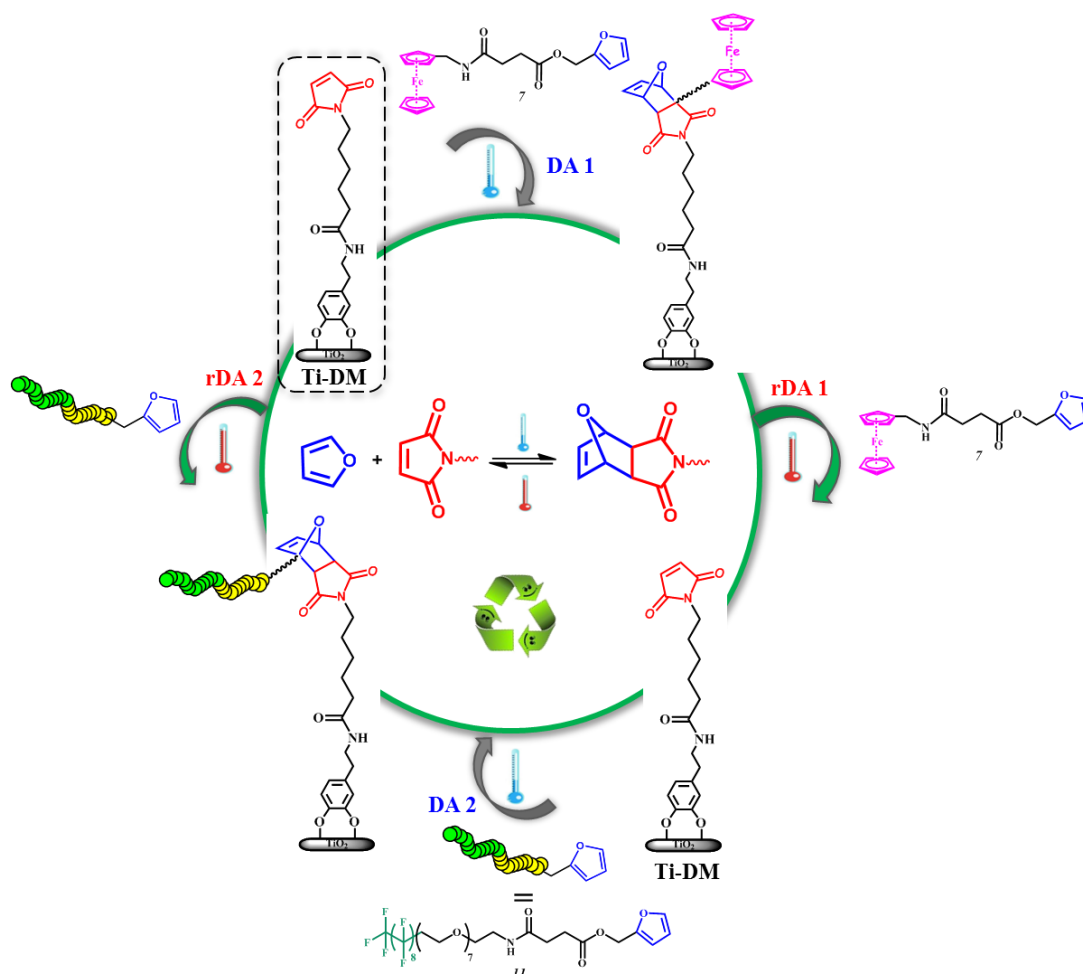


Figure A.159 : Illustration de la stratégie utilisée pour le recyclage des plateformes à base de titane

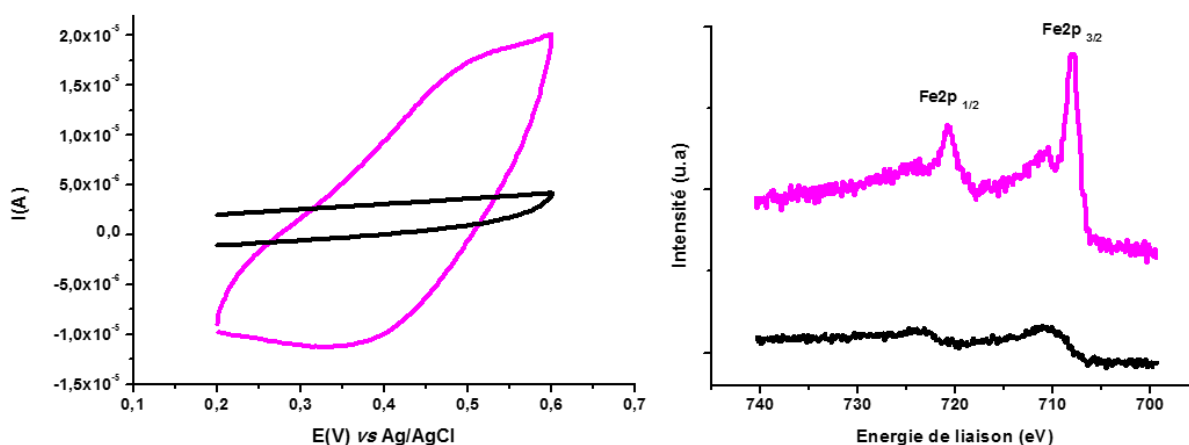


Figure A.160 : (Gauche) Voltampérogrammes cycliques de la plateforme Ti-DM fonctionnalisée par le motif ferrocène **7** avant (violet) et après (noir) réaction de rétro Diels-Alder;
Conditions : solution électrolyte d'acétonitrile (TBAPF₆ 0.1M) ; vitesse de balayage de 50 mV.s⁻¹
(Droite) Spectres XPS du niveau de cœur du fer Fe2p de la plateforme Ti-DM modifiée à l'aide de la sonde électrochimique ferrocène **7** avant (violet) et après (noir) rDA

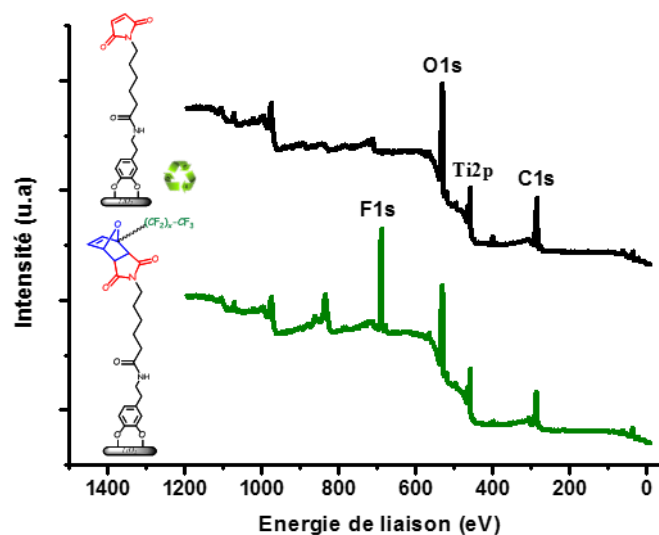


Figure A.161 : Spectres XPS d'une plateforme de Ti-DM recyclée avant (noir) et après une seconde réaction de Diels-Alder (vert) par l'intermédiaire de la sonde fluorée **11**

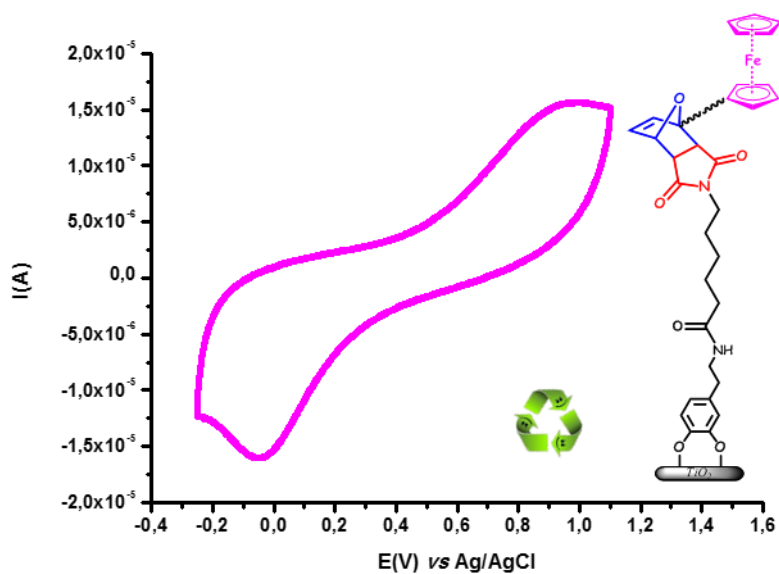


Figure A.162 : Voltampérogramme cyclique d'une plateforme Ti-DM recyclée fonctionnalisée par le motif ferrocène **7** après une seconde réaction de Diels Alder;
Conditions : solution électrolyte d'acétonitrile (TBAPF₆ 0.1M) ; vitesse de balayage de 50 mV.s⁻¹

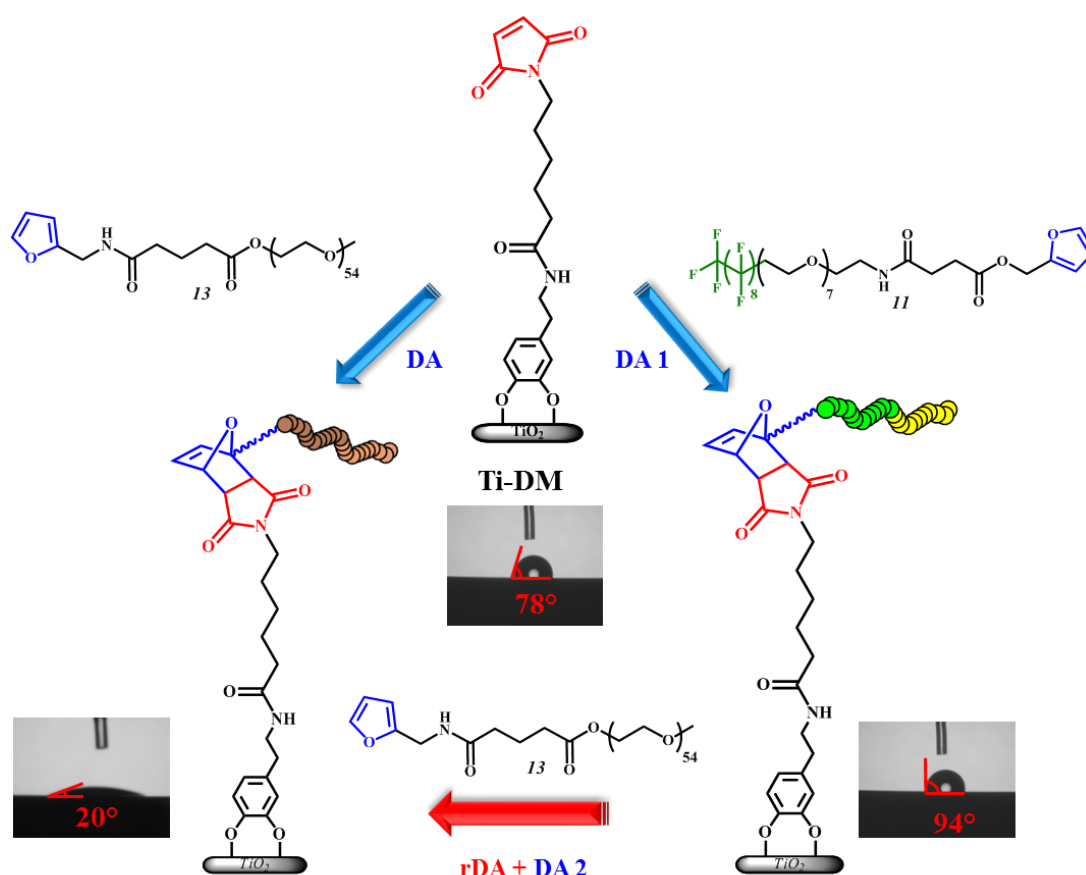


Figure A.163 : Etude du changement de mouillabilité d'une plateforme Ti-DM fonctionnalisée à travers une séquence DA1 réalisée avec **11**, rDA et DA2 réalisée avec **13**

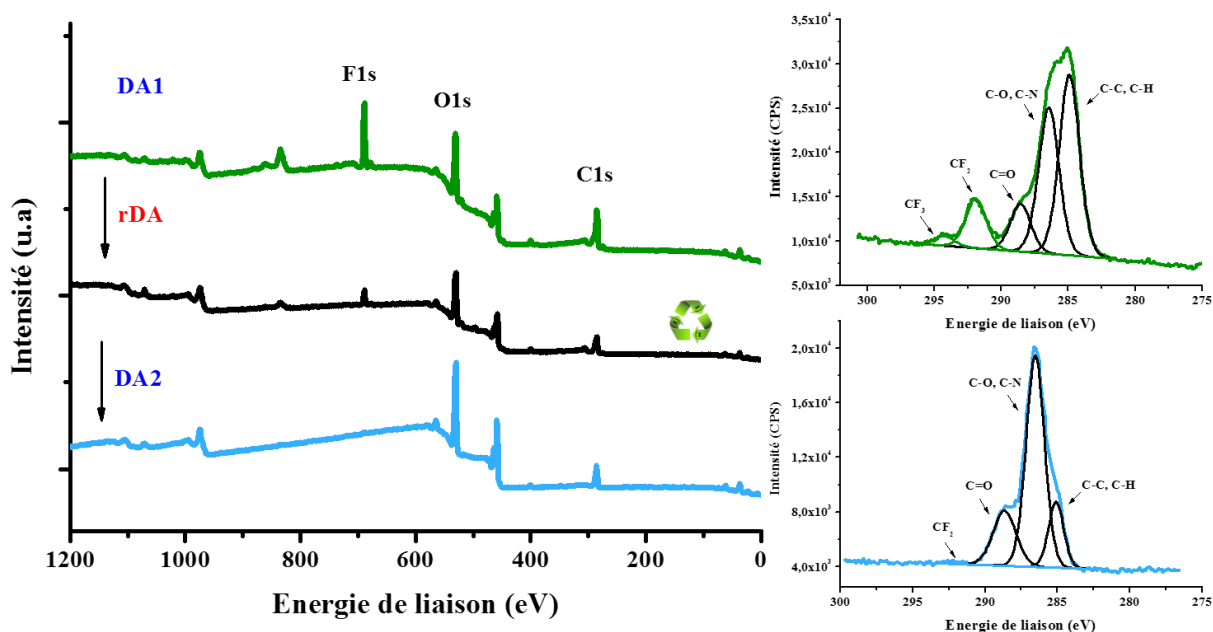


Figure A.164 : (Gauche) Spectre XPS de la plateforme Ti-DM fonctionnalisée avec la sonde fluorée **11** puis avec l'oligomère de PEG **13** à travers une séquence DA1/rDA/DA2
(Droite) Spectres XPS du niveau de cœur du carbone (C1s) de la plateforme Ti-DM modifiée avec l'oligomère fluoré **11** (DA1) et l'oligomère de PEG **13** (DA2)

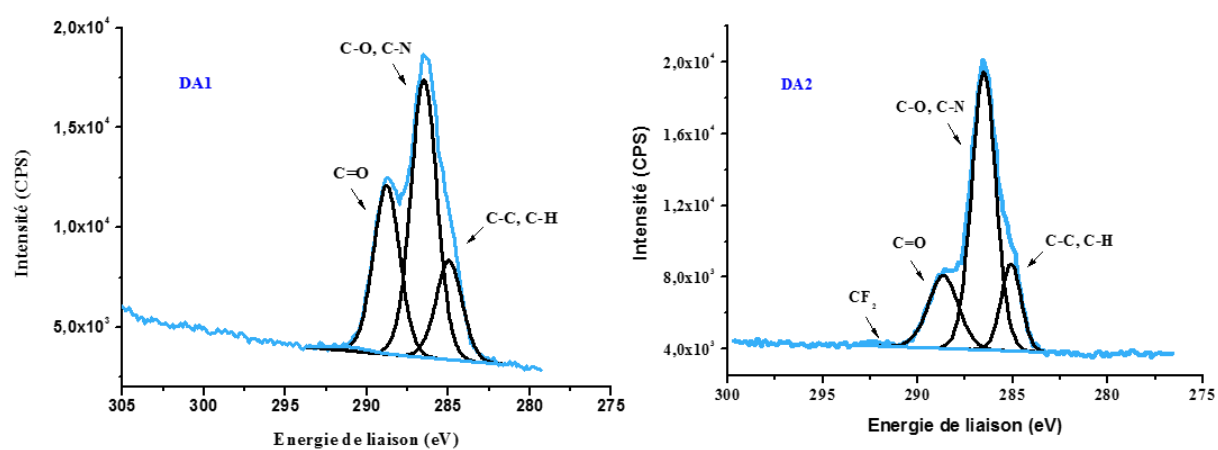
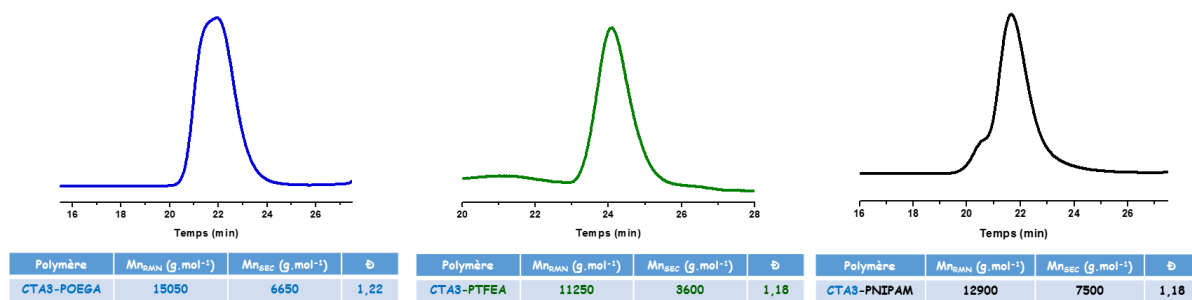
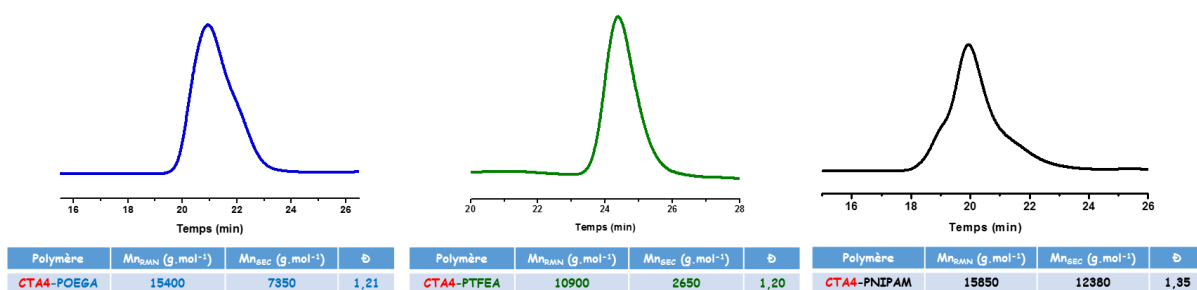
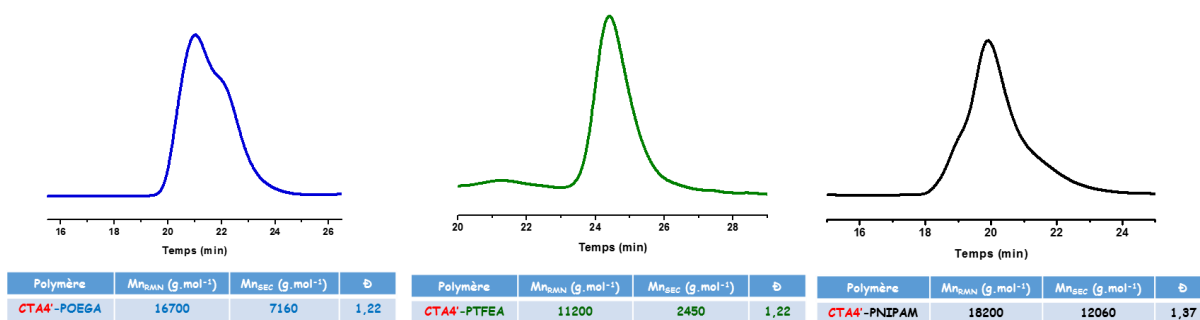


Figure A.165 : Comparaison des spectres XPS du niveau de cœur du carbone (C 1s) de la plateforme Ti-DF modifiée avec l'oligomère de PEG **13** par DA1 (gauche) et par rDA/DA2 (droite)

Annexe 2

Figure A.166 : Tracés SEC des polymères obtenus à partir de l'agent de transfert **CTA3**Figure A.167 : Tracés SEC des polymères obtenus à partir de l'agent de transfert **CTA4**Figure A.168 : Tracés SEC des polymères obtenus à partir de l'agent de transfert **CTA4'** après réaction de rétro Diels-Alder

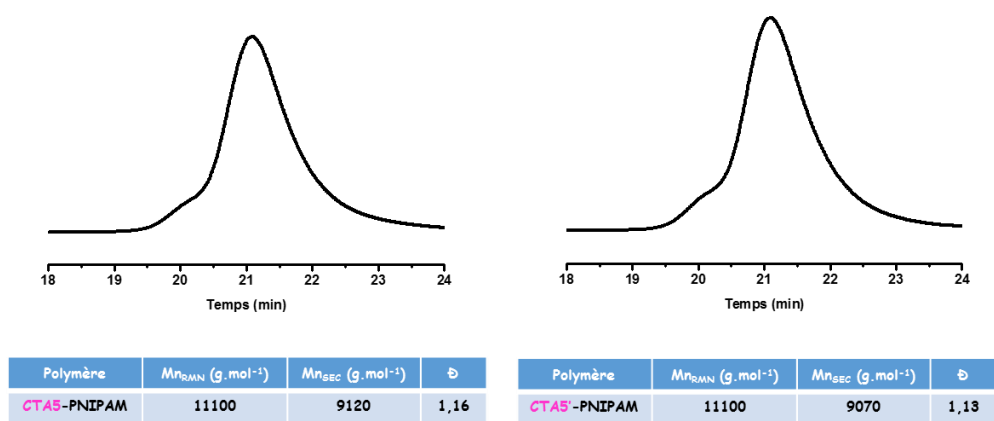


Figure A.169 : Tracés SEC des polymères obtenus à partir de l'agent de transfert **CTA5** avant (gauche) et après aminolyse (droite)

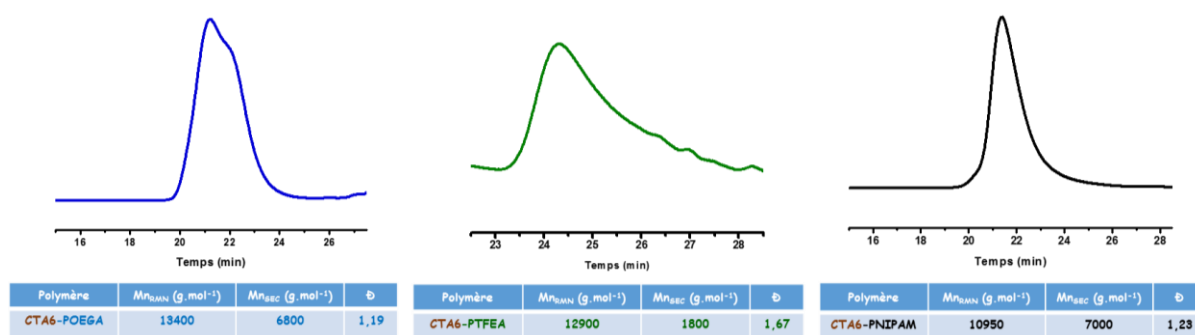


Figure A.170 : Tracés SEC des polymères obtenus à partir de l'agent de transfert **CTA6**

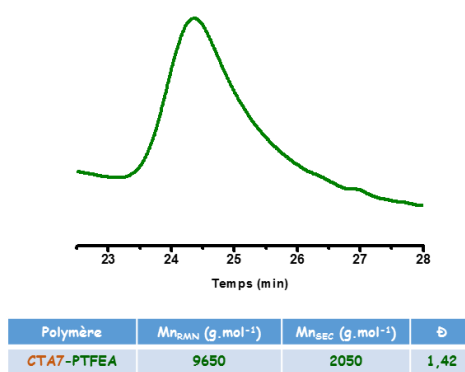


Figure A.171 : Tracés SEC du polymère obtenu à partir de l'agent de transfert **CTA7**

Annexe 3

I. Electrochimie – Voltampérométrie cyclique

Principe

La voltampérométrie cyclique consiste à enregistrer les courbes intensité-potentiel $i=f(E)$ donnant l'intensité du courant d'électrolyse i en fonction du potentiel E appliqué à une électrode de travail fixe inattaquable (en général en platine). La cellule d'électrolyse est ici composée de trois électrodes (Figure A.172) :

- L'électrode de travail, un disque de platine ou de titane de dimensions connues, sur laquelle se produisent les réactions d'oxydation et de réduction.
- L'électrode auxiliaire, constituée d'un fil de platine, fermant le circuit d'électrolyse.
- L'électrode de référence, soit de type Ag/AgCl soit un fil d'argent, qui sert à mesurer le potentiel de l'électrode de travail.

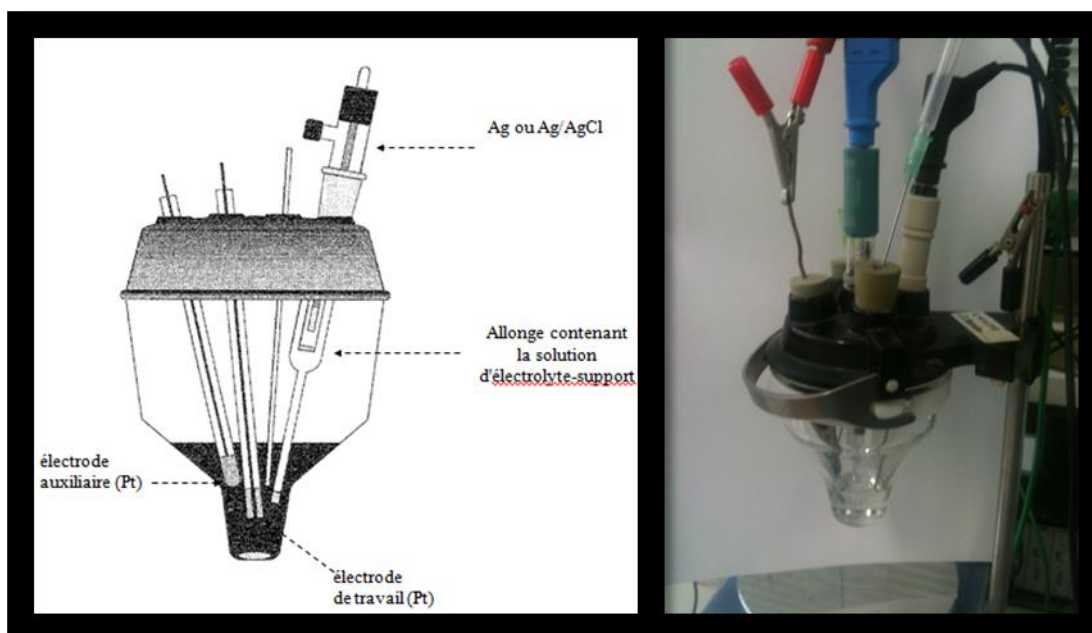


Figure A.172 : Schéma et photo d'une cellule d'électrochimie

Le composé à analyser est dissous à $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ dans un solvant contenant un électrolyte-support de grande pureté à $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. Il sert à conduire le courant au sein de la solution électrolytique. Le solvant doit être capable de dissoudre à la fois le composé à analyser et l'électrolyte.

Après un dégazage minutieux de la solution à l'argon ou à l'azote, la courbe $i = f(E)$ est enregistrée. Le balayage des potentiels est effectué à l'aller entre une tension initiale E_i et une tension finale E_f et au retour entre E_f et E_i .

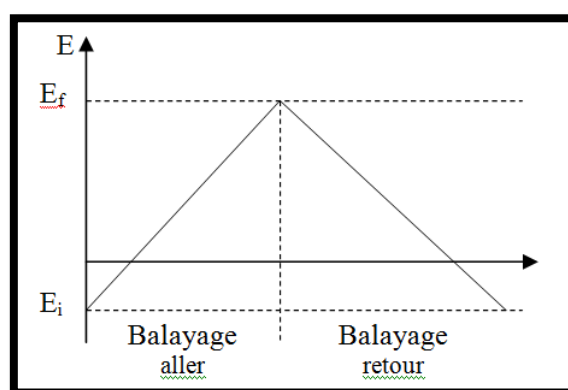


Figure A.173- Evolution de la tension appliquée en fonction du temps lors d'un cycle de voltampérométrie

L'électrode de travail est fixe et aucune agitation n'a lieu dans la cellule. Par conséquent, l'apport des espèces électroactives vers l'électrode de travail se fait uniquement par diffusion. Dans ces conditions, la courbe $i=f(E)$ présente un pic de courant dû au fait que l'état stationnaire n'est pas atteint immédiatement à l'électrode (Figure A.173).

✓ Régimes de voltampérométrie cyclique

- En **régime de diffusion** (cas standard), la valeur du courant de pic (i_p) est donnée par l'équation de Sevcik-Randles :

$$i_p = (2.69 \cdot 10^5) \cdot A \cdot n^{3/2} \cdot D^{1/2} \cdot C \cdot v^{1/2}$$

Avec

i_p : courant de pic

A : surface de l'électrode

n : nombre d'électrons échangés dans la réaction d'électrode

D : coefficient de diffusion de l'espèce électroactive

C : concentration de l'espèce électroactive

v : vitesse de balayage

Donc, pour une électrode et une espèce électroactive à une concentration donnée :

$$i_p = k \cdot v^{1/2}$$

- En **régime de couche mince**, la valeur du courant i_p est donnée par l'équation suivante :

$$i_p = (9.39 \cdot 10^5) \cdot n^2 \cdot V \cdot C \cdot v$$

avec

i_p : courant de pic

n : nombre d'électrons échangés dans la réaction d'électrode

V : volume de la couche

C : concentration de l'espèce électroactive

v : vitesse de balayage

Donc, dans ce cas, on a :

$$i_p = k \cdot v$$

II. Angle de contact

Principe

La mesure d'angle de contact rend compte de l'aptitude d'un liquide à s'étaler sur une surface par mouillabilité. La méthode consiste à mesurer l'angle de la tangente du profil d'une goutte déposée sur le substrat, avec la surface du substrat (Figure A.174, gauche).

Elle permet la discrimination de la nature polaire ou apolaire des interactions à l'interface liquide/solide. On peut ainsi déduire le caractère hydrophile ou hydrophobe d'une surface.

Si on utilise l'eau comme liquide de mesure d'angle de contact, on peut déduire le caractère hydrophobe (grand angle, faible énergie de surface) (Figure A.174, droite, a) ou hydrophile (petit angle, grande énergie de surface) (Figure A.174, droite, b) de la surface.

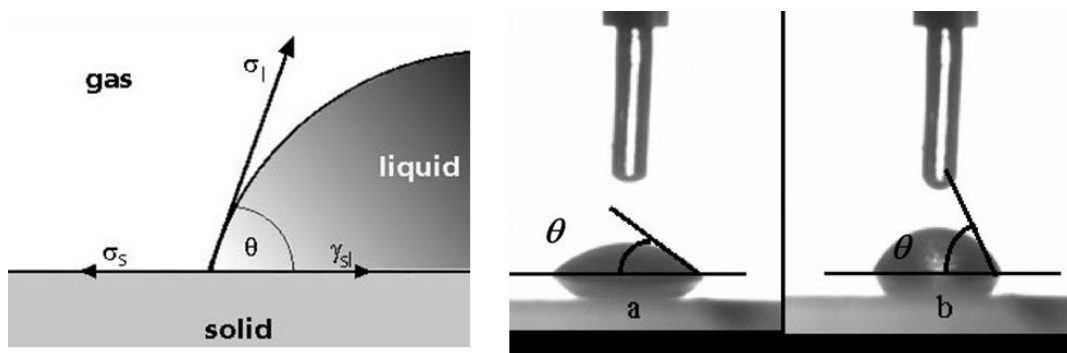


Figure A.174 : (Gauche) : Mise en évidence du principe de la mesure de l'angle de contact
(Droite) : Représentation de surfaces à caractère hydrophile (a) et hydrophobe (b)

RESUME

Le contrôle des propriétés physico-chimiques de surfaces des matériaux à base de titane est souvent requis pour améliorer leurs performances, leur activité biologique ou encore pour concevoir de nouveaux matériaux intelligents. Dans ce contexte, le greffage de (macro)molécules aux propriétés spécifiques est une solution pertinente pour élaborer des matériaux stimulables aux propriétés physico-chimiques modulables.

Dans ce travail de thèse, nous avons conçu plusieurs plateformes de fonctionnalisation du titane en exploitant les propriétés adhésives du motif catéchol combinées au concept de chimie « click » afin d'immobiliser des polymères fonctionnels préparés par polymérisation radicalaire contrôlée. Ainsi, des surfaces de titane recyclables à la mouillabilité programmable sur demande et des matériaux stimulables par la température ou par rayonnement ultra-violet ont pu être élaborés.

Enfin, les propriétés adhésives de la polydopamine ont été exploitées pour concevoir une nouvelle génération de stents « actifs » utilisés en chirurgie cardio-vasculaire pour lutter contre le phénomène de resténose intra-stent.

Mots clés : Titane, dopamine, polymères, chimie « click », physico-chimie de surface, matériaux stimulables.

ABSTRACT

Controlling the physico-chemical surface properties of titanium based materials is often required to enhance their capabilities, their biological activity. In this context, tethering of specific (macro)molecules appears to be a relevant method to develop stimuli responsive materials with predictable or commutable physico-chemical properties.

In this work, several titanium based functionalization platforms have been elaborated from dopamine derivatives incorporating “clickable” functions (maleimide/furan). These have been exploited to conveniently graft end-functionalized polymers, prepared by controlled radical polymerization, onto titanium surfaces, thereby affording surfaces with programmable wettability. Furthermore, we have also demonstrated that such materials could respond to various external stimuli such as temperature or UV light. Such stimuli have been notably used to reprogram the surface properties of materials. Finally, the adhesive properties of the polydopamine coating were used to design a new generation of drug eluting stent that could be employed in cardiovascular surgery in the treatment of in-stent restenosis.

Keywords: Titanium, dopamine, polymers, « Click-Chemistry », physico-chemistry of surfaces, stimuli responsive materials.