



HAL
open science

Synthèses et Caractérisations de Glucides Électrostimulables pour des Applications Antifouling

Fanny Peigneguy

► **To cite this version:**

Fanny Peigneguy. Synthèses et Caractérisations de Glucides Électrostimulables pour des Applications Antifouling. Chimie organique. Université d'Angers, 2020. Français. NNT : 2020ANGE0073 . tel-03637094

HAL Id: tel-03637094

<https://theses.hal.science/tel-03637094v1>

Submitted on 11 Apr 2022

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

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

THÈSE DE DOCTORAT

DE L'UNIVERSITE D'ANGERS
COMUE UNIVERSITE BRETAGNE LOIRE

ECOLE DOCTORALE N° 596
Matière, Molécules, Matériaux (3M)
Spécialité : Chimie organique

Fanny PEIGNEGUY

Synthèses et Caractérisations de Glucides Électrostimulables pour des Applications Antifouling

Thèse présentée et soutenue à Angers, le 8 décembre 2020
Unité de recherche : Laboratoire MOLTECH-Anjou – CNRS UMR 6200
Thèse N° :

Composition du Jury :

Rapporteurs :

Pr Pierre	AUDEBERT	Professeur des Universités	<i>ENS Paris-Saclay</i>
Dr Mohamed	MEHIRI	Maître de Conférences – HDR	<i>Université Côte d'Azur</i>

Examineurs :

Dr Charles	COUGNON	Chargé de Recherche CNRS – HDR	<i>Université d'Angers</i>
Pr Françoise	CONAN	Professeure des Universités	<i>Université de Brest</i>

Directeur de Thèse :

Dr Frédéric	GOHIER	Maître de Conférences – HDR	<i>Université d'Angers</i>
--------------------	---------------	-----------------------------	----------------------------

Co-directrice de Thèse :

Dr Christine	BRESSY	Maître de Conférences – HDR	<i>Université de Toulon</i>
---------------------	---------------	-----------------------------	-----------------------------

Invitée :

Dr Marie-Christine	SAINTE CATHERINE	Responsable Innovation Matériaux	<i>AID - DGA</i>
---------------------------	-------------------------	----------------------------------	------------------

Remerciements

Je remercie en premier lieu Marc Sallé, ancien directeur du laboratoire MOLTECH-Anjou, pour m'avoir accueillie au sein de l'établissement.

Je tiens à remercier l'ensemble des membres du jury pour avoir accepté de juger mon travail de thèse. Je remercie tout d'abord les rapporteurs, Pierre Audebert et Mohamed Mehiri, qui ont évalué mon travail dans un délai très court. Je remercie également Françoise Conan et Charles Cougnon pour leur participation à ce jury de thèse en tant qu'examineurs. J'associe à ces remerciements Marie-Christine Sainte Catherine, membre invitée de ce jury et tutrice de la Direction Générale de l'Armement (DGA).

J'adresse mes remerciements à la Direction Générale de l'Armement et à la Région Pays de la Loire pour le financement de cette thèse.

Je tiens à remercier chaleureusement mon directeur de thèse, Frédéric Gohier, de m'avoir fait confiance pour mener à bien ces travaux de thèse, mais je le remercie aussi pour son accueil, sa disponibilité, sa patience, ses conseils et ses connaissances en chimie organique.

Mes remerciements s'adressent également à ma co-directrice, Christine Bressy, de l'Université de Toulon. Je te remercie de m'avoir accueillie deux semaines au laboratoire Mapiem en compagnie de Jean-François Briand et de Raphaëlle Barry-Martinet : ces deux semaines furent rudes mais grâce à vous, j'ai appris à réaliser des tests microbiologiques.

Je souhaite remercier Charles Cougnon pour sa patience, son humour, mais surtout pour l'ensemble des connaissances qu'il m'a transmises en électrochimie, moi qui ne suis que chimiste organicienne. Sur le papier, tu ne fais pas parti de mes encadrants de thèse mais tu y as fortement contribué.

Je remercie également Narcis Avarvari et Stéphane Guillaume pour avoir accepté d'être membres de mon comité de suivi de thèse.

Je tiens à remercier les membres de la SFR Matrix pour leur aide car ils nous enlèvent une certaine charge de travail pour la caractérisation des produits. Alors, je remercie Sylvie Dabos-Seignon pour les analyses AFM, Ingrid Freuze et Sonia Jerjir pour la spectrométrie de masse, Benjamin Siegler pour la RMN et Magali Allain pour la résolution des structures cristallines.

Je souhaite remercier l'ensemble du personnel qui veille au bon fonctionnement du laboratoire et en particulier Valérie Bonnin, une travailleuse acharnée toujours au service des doctorants mais aussi Cécile Mézière, Véronique Verkruysse et Stéphane Chesné.

Un grand merci ou Milesker (en basque) à l'équipe d'enseignement constituée de Maitena Ocafrain, Sébastien Sourisseau, Claire Mesnil, Nadège Blon et Quentin Massiquot. Grâce à vous, j'ai pu encadrer des étudiants de Licence en travaux pratiques pendant les deux premières années de la thèse.

Je n'oublie pas l'ensemble des stagiaires que j'ai pu encadrer pendant ces trois années de thèse, à qui je leur dis merci : Gloire (Licence 3), Miguel (Master 1), Marie (BTS), Allam (Licence 3) et Gamzé (BTS).

Je voulais remercier tous les membres permanents du groupe « Systèmes Conjugés Linéaires » (SCL) pour cette ambiance agréable : Philippe Blanchard, Clément Cabanetos, Pierre Frère, Lionel Sanguinet, Philippe Leriche et Olivier Segut. Mes remerciements se dirigent également vers tous les doctorants et les post-doctorants qui appartiennent ou qui ont appartenu à ce groupe SCL : Nagham Ibrahim, Maria Saadeh, Pablo

Remerciements

Simón Marqués, José Maria Andrés Castán, Amir Habibi, Youssef Aidibi, Jérémie Grolleau, Clément Dalinot, Augustin Ayoub et Tatiana Ghanem.

Je souhaite remercier Ewen Touzé, ancien doctorant de Charles Cougnon mais également Amina Benchohra et Clémence Nicolas pour tous les conseils qu'ils ont pu me donner à la fin de la thèse.

J'ai également une pensée pour les doctorants des autres groupes de recherche qui termineront leur thèse après moi comme Yohan Cheret, Nataliya Plyuta, Maksym Dekhtiarenko, Clément Drou, Simon Séjourné et Aline Makhouloutah.

Milesker à mes amis de classe préparatoire qui ont suivi les mêmes études que moi dans des villes différentes : Sophie, Lisa, Maxence et Marine.

Enfin, je ne remercierai jamais assez ma mère, mon père, mon frère et ma grand-mère qui m'ont toujours soutenu dans les moments difficiles de mes études malgré la distance qui nous sépare depuis plusieurs années.

Merci à vous tous !

Sommaire

REMERCIEMENTS.....	3
SOMMAIRE.....	5
ABRÉVIATIONS ET SYMBOLES.....	9
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	15
CHAPITRE 1 : L'ENCRASSEMENT BIOLOGIQUE EN MILIEU MARIN, SES CONSÉQUENCES ET LES SOLUTIONS APPORTÉES DE L'ÉCHELLE DU LABORATOIRE À CELLE INDUSTRIELLE.....	21
1 L'ENCRASSEMENT BIOLOGIQUE OU BIOFOULING DANS LE MILIEU MARIN ET SES CONSÉQUENCES.....	21
1.1 PROCESSUS DE DÉVELOPPEMENT DU BIOFOULING DANS LE MILIEU MARIN.....	21
1.1.1 <i>L'adsorption moléculaire.....</i>	21
1.1.2 <i>Adhésion bactérienne.....</i>	24
1.1.3 <i>Formation du biofilm.....</i>	26
1.1.4 <i>Développement du macrofouling.....</i>	28
1.2 CONSÉQUENCES DU BIOFOULING.....	29
2 LES REVÊTEMENTS ANTIFOULING À L'ÉCHELLE INDUSTRIELLE.....	30
2.1 HISTORIQUE.....	30
2.2 LES PEINTURES ANTISALISSURES COMMERCIALES À BASE DE BIOCIDES.....	31
2.2.1 <i>Mécanisme de relargage du biocide au sein d'une peinture antisalissure.....</i>	31
2.2.2 <i>Les biocides et leur réglementation.....</i>	34
2.3 LES REVÊTEMENTS À FAIBLE ÉNERGIE DE SURFACE FRC (« FOULING RELEASE COATING »).....	37
3 DÉVELOPPEMENT DE REVÊTEMENT ANTIFOULING À L'ÉCHELLE DU LABORATOIRE.....	39
3.1 TRAITEMENT CHIMIQUE : IMMOBILISATION D'UN POLYMÈRE HYDROPHILE OU ZWITTERIONIQUE SUR UN SUBSTRAT.....	39
3.2 TRAITEMENT PHYSIQUE : APPLICATION D'UN POTENTIEL OU COURANT ÉLECTRIQUE SUR LA SURFACE.....	41
4 LA BIO-INSPIRATION EN PLEIN ESSOR.....	45
4.1 SURFACES MICRO- OU NANO-TEXTURÉES.....	45
4.2 LES SUBSTANCES NATURELLES CONTRE LE BIOFOULING.....	46
4.2.1 <i>Présentation de diverses substances naturelles ayant des propriétés antifouling.....</i>	46
4.2.2 <i>Les enzymes.....</i>	48
4.2.3 <i>Les glucides.....</i>	49
5 CONCLUSION.....	55
CHAPITRE 2 : ÉLECTROGREFFAGE DE GLUCIDES SIMPLES SUR UNE SURFACE DE CARBONE VITREUX.....	59
1 INTRODUCTION.....	59
2 SYNTHÈSE DU 4-AMINOPHÉNYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE 5.....	60
3 GREFFAGE DU 4-AMINOPHÉNYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE 5 SUR UNE SURFACE DE CARBONE VITREUX PAR RÉDUCTION DE SELS DE DIAZONIUM.....	61
3.1 ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR L'ÉLECTROGREFFAGE PAR RÉDUCTION DE SELS DE DIAZONIUM SUR UNE SURFACE DE CARBONE VITREUX.....	62
3.2 GREFFAGE DU 4-AMINOPHÉNYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE 5 PAR RÉDUCTION DE SELS DE DIAZONIUM.....	64
4 ÉTUDE ÉLECTROCHIMIQUE DU GREFFAGE DU 4-AMINOPHÉNYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE 5 PAR OXYDATION DE L'AMINE AROMATIQUE EN MILIEU ORGANIQUE.....	66
4.1 ÉTUDE ÉLECTROCHIMIQUE DU B-GLUCOPYRANOSIDE 5 EN SOLUTION ORGANIQUE.....	66

4.2	GREFFAGE DU B-GLUCOPYRANOSIDE 5 SUR UNE SURFACE DE CARBONE VITREUX PAR OXYDATION DE L'AMINE AROMATIQUE EN MILIEU ORGANIQUE	70
4.3	GREFFAGE DU B-D-GLUCOPYRANOSIDE 5 SUR UNE SURFACE DE CARBONE VITREUX PAR OXYDATION DE L'AMINE AROMATIQUE EN MILIEU ORGANIQUE EN PRÉSENCE DE BASE.....	73
4.3.1	<i>Choix de la base et résultats</i>	73
4.3.2	<i>Mécanisme de l'électrogreffage</i>	75
4.3.3	<i>Caractérisation de la surface modifiée par AFM, XPS et mesures d'angles de contact avec l'eau</i>	77
4.3.4	<i>Libération du cation glycosyle par voie électrochimique</i>	80
5	GREFFAGE DU 4-AMINOPHÉNYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE 5 PAR OXYDATION DE L'AMINE AROMATIQUE EN MILIEU AQUEUX	81
5.1	ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR L'ÉLECTROGREFFAGE DE COMPOSÉS PAR OXYDATION D'UNE AMINE EN MILIEU AQUEUX	83
5.2	ÉTUDE ÉLECTROCHIMIQUE DU B-GLUCOSIDE 5 EN MILIEU AQUEUX	87
5.3	GREFFAGE DU B-GLUCOPYRANOSIDE 5 EN MILIEU AQUEUX EN PRÉSENCE DE BASE.....	89
6	ÉTUDE COMPLÉMENTAIRE : GREFFAGE DU 4-AMINOPHÉNYL-B-D-LACTOSIDE 11 SUR UNE SURFACE DE CARBONE VITREUX EN MILIEU AQUEUX EN PRÉSENCE DE BASE	91
6.1	SYNTHÈSE DU 4-AMINOPHÉNYL-B-D-LACTOSIDE 11	92
6.2	GREFFAGE DU B-D-LACTOSIDE 11 SUR UNE SURFACE DE CARBONE VITREUX	93
7	CONCLUSION.....	95
	CHAPITRE 3 : ÉLECTROGREFFAGE D'UN GLUCIDE PRÉSENTANT UNE SONDE ÉLECTRO-ACTIVE.....	99
1	INTRODUCTION	99
2	CHOIX DU 4-AMINOPHÉNYL-6-(4-FERROCÉNYL-1H-1,2,3-TRIAZOL-1YL)-6-DEOXY-B-D-GLUCOPYRANOSIDE 15 POUR UNE APPLICATION ANTIFOULING	99
2.1	CHOIX DU FERROCENE (Fc) COMME SONDE ÉLECTRO-ACTIVE	100
2.1.1	<i>Généralités sur les applications du ferrocène</i>	100
2.1.2	<i>Application d'un potentiel électrique sur le ferrocène pour des applications antifouling.....</i>	<i>101</i>
3	SYNTHÈSE DU 4-AMINOPHÉNYL-6-(4-FERROCÉNYL-1H-1,2,3-TRIAZOL-1YL)-6-DEOXY-B-D-GLUCOPYRANOSIDE	104
4	ÉTUDE RMN¹H ET DRX DE DIFFÉRENTS COMPLEXES FERROCÈNE-GLUCOSE.....	105
4.1	CARACTÉRISATIONS DU NITROFERROCÈNE-GLUCOSE 14 ET DE L'AMINOFERROCÈNE-GLUCOSE 15 PAR RMN ¹ H ET DRX	105
4.2	ÉTUDE COMPLÉMENTAIRE SUR LA CARACTÉRISATION DE TROIS AUTRES COMPLEXES FERROCÈNE-GLUCOSE PAR RMN ¹ H ET DRX	110
5	ÉLECTROGREFFAGE DU COMPLEXE AMINOFERROCÈNE-GLUCOSE 15 SUR UNE SURFACE DE CARBONE VITREUX DANS UNE SOLUTION ORGANIQUE.....	113
5.1	ÉTUDE ÉLECTROCHIMIQUE DU COMPLEXE AMINOFERROCÈNE-GLUCOSE 15 DANS UNE SOLUTION ORGANIQUE.....	113
5.2	ÉLECTROGREFFAGE DU COMPLEXE AMINOFERROCÈNE-GLUCOSE 15 DANS UNE SOLUTION ORGANIQUE	114
5.3	ÉLECTROGREFFAGE DU COMPLEXE AMINOFERROCÈNE-GLUCOSE 15 DANS UNE SOLUTION ORGANIQUE EN PRÉSENCE DE COLLIDINE	120
5.3.1	<i>Électrogreffage du complexe aminoferrocène-glucose 15 via l'oxydation de l'amine aromatique en présence de collidine</i>	<i>122</i>
5.3.2	<i>Électrogreffage du complexe aminoferrocène-glucose 15 via l'oxydation du ferrocène en présence de collidine</i>	<i>122</i>
5.3.3	<i>Confirmation de l'électrogreffage par XPS et présentation des différents mécanismes selon la technique de greffage utilisée</i>	<i>123</i>
6	ÉLECTROGREFFAGE DU COMPLEXE AMINOFERROCÈNE-GLUCOSE 15 SUR UNE SURFACE DE CARBONE VITREUX DANS UNE SOLUTION AQUEUSE	128

6.1	ÉTUDE ÉLECTROCHIMIQUE DU COMPLEXE AMINOFERROCÈNE-GLUCOSE 15 DANS UNE SOLUTION AQUEUSE	128
6.2	COMPARAISON DES ÉLECTROGREFFAGES DU COMPLEXE AMINOFERROCÈNE-GLUCOSE 15 DANS UNE SOLUTION AQUEUSE EN L'ABSENCE ET EN PRÉSENCE DE BASE	129
7	PROPRIÉTÉ ANTI-ADHÉSION BACTÉRIENNE <i>IN VITRO</i> DU COMPLEXE AMINOFERROCÈNE-GLUCOSE 15	131
7.1	PRÉSENTATION DU TEST ANTI-ADHÉSION BACTÉRIENNE	131
7.2	ACTIVITÉ ANTI-ADHÉSION BACTÉRIENNE DU COMPLEXE AMINOFERROCÈNE-GLUCOSE 15	132
7.3	TEST DE TOXICITÉ DU COMPLEXE AMINOFERROCÈNE-GLUCOSE 15	137
7.4	TEST DE VIEILLISSEMENT DU REVÊTEMENT AMINOFERROCÈNE-GLUCOSE 15.....	139
8	CONCLUSION.....	141
CHAPITRE 4 : ÉLECTROGREFFAGE DE GLUCIDES AVEC DES SYSTÈMES CONJUGUÉS		145
1	INTRODUCTION	145
2	PREMIÈRE APPROCHE : SONDAS ÉLECTRO-ACTIVES À L'INTERFACE SUBSTRAT/ENVIRONNEMENT.....	146
2.1	TRAVAUX SUR UN GLUCIDE À BASE DE TERTHIOPHÈNE COMME SONDE ÉLECTRO-ACTIVE	146
2.1.1	<i>Synthèse du 4-Aminophényl-6-(4-(2,2':5',2''-terthiophène)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-6-déoxy-β-D-glucopyranoside 38.....</i>	<i>148</i>
2.1.2	<i>Électrogreffage du composé 38 sur une surface de carbone vitreux dans une solution organique.....</i>	<i>153</i>
2.1.3	<i>Étude électrochimique du composé 38 dans une solution aqueuse.....</i>	<i>158</i>
2.2	TRAVAUX SUR UN GLUCIDE À BASE D'EDOT COMME SONDE ÉLECTRO-ACTIVE	159
2.2.1	<i>Synthèse du 4-Aminophényl-6-(4-(3,4-Éthylènedioxythiényl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy-β-D-glucopyranoside 49.....</i>	<i>161</i>
2.2.2	<i>Électrogreffage du composé 49 sur une surface de carbone vitreux dans une solution organique.....</i>	<i>162</i>
2.2.3	<i>Électrogreffage du composé 49 sur une surface de carbone vitreux dans une solution aqueuse.....</i>	<i>166</i>
3	DEUXIÈME APPROCHE : SONDE ÉLECTRO-ACTIVE PROCHE DE LA SURFACE DU SUBSTRAT	168
3.1	SYNTHÈSES DES COMPOSÉS 1-(4-[5-(4-AMINOPHÉNYL)-2,2'-BITHIOPHÈNE]-1H-1,2,3-TRIAZOL-1-YL)-2,3,4,6-TÉTRA-O-ACÉTYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE 60 ET 1-(4-[5-(4-AMINOPHÉNYL)-2,2'-BITHIOPHÈNE]-1H-1,2,3-TRIAZOL-1-YL)-2,3,6-TRI-O-ACÉTYL-4-O-(2,3,4,6-TÉTRA-O-ACÉTYL-B-D-GALACTOPYRANOSYL)-(1→4)-B-D-GLUCOPYRANOSIDE 61	169
3.1.1	<i>1^{ère} voie de synthèse : conservation du groupement nitro jusqu'à l'étape finale</i>	<i>170</i>
3.1.2	<i>Modification de la stratégie de synthèse pour préparer les composés 60 et 61.....</i>	<i>171</i>
3.2	ÉLECTROGREFFAGE DES COMPOSÉS 60 ET 61 SUR UNE SURFACE DE CARBONE VITREUX EN SOLUTION ORGANIQUE	172
3.2.1	<i>Étude électrochimique des composés 60 et 61 en solution organique</i>	<i>172</i>
3.2.2	<i>Électrogreffage des composés 60 et 61 par réduction de sels de diazonium dans une solution organique</i> <i>173</i>	
4	CONCLUSION.....	176
CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES		181
CONCLUSION GÉNÉRALE.....		181
PERSPECTIVES.....		183
• <i>Glycosylation électrochimique sur la surface.....</i>		<i>183</i>
• <i>Synthèse d'un glucide photostimulable pour des applications antifouling.....</i>		<i>184</i>
EXPERIMENTAL PART.....		189
CHEMICALS		189
INSTRUMENTATION.....		189
SYNTHETIC PROCEDURES		190
SURFACE COVERAGE OF AN ELECTROACTIVE MOLECULE		238
BACTERIAL ANTI-ADHESION ASSAY		238
ANNEXES		247

ANNEXE 1: STRUCTURE REFINEMENT AND CRYSTALLOGRAPHIC DATA	247
ANNEXE 2: AFM PRINCIPLE.....	252
ANNEXE 3: PYROLYZED PHOTORESIST FILM (PPF) PREPARATION	253
ANNEXE 4: X-RAY PHOTOELECTRON SPECTROMETRY (XPS) PRINCIPLE	254
ANNEXE 5: WATER CONTACT ANGLE PRINCIPLE	255

Abréviations et Symboles

ACN	Acétonitrile
AcOEt	Acétate d'éthyle
ADNr 16S	Acide ribonucléique ribosomique 16S
AFM	<i>Atomic Force Microscopy</i> ou Microscopie à force atomique
Ag/AgNO₃	Électrode de référence, fil d'argent plongeant dans une solution d'acétonitrile contenant AgNO ₃ (0,01 M) et TBAP (0,1 M)
Ar	Aromatique
ASB	Albumine de sérum bovin
ASW	<i>Artificial Sea Water</i> ou Eau de mer artificielle
B	Base
BH⁺	Acide conjugué de la base
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbonyle
Boc₂O	Dicarbonate de di- <i>tert</i> -butyle
<i>n</i>-BuLi	<i>n</i> -butyllithium
<i>t</i>-BuONO	Nitrite de <i>tert</i> -butyle
CB	Carboxybétaine
CDP	<i>Controlled Depletion Polymer</i>
CE	Contre électrode
COD	Carbone organique dissous
COSY	<i>Homonuclear Correlation Spectroscopy</i>
Cu₂O	Oxyde de dicuivre
CV	Carbone vitreux
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène
DCM	Dichlorométhane
DCTB	<i>trans-2-[3-(4-<i>tert</i>-Butylphenyl)-2-methyl-2-propenylidene]malononitrile</i>
DEPT	<i>Distortionless Enhanced Polarization Transfer</i>
DIT	<i>Dithranol</i>
DLVO	Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek
DMAP	4-(Diméthylamino)pyridine
DMF	<i>N,N</i> -Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DO	Densité optique
DRX	Diffraction des rayons X
E	Champ électrique ou potentiel
EC	Électrochimique-Chimique
ECS	Électrode au calomel saturé
EDOT	3,4-Éthylènedioxythiophène
EDTA	Éthylènediaminetétraacétique
EI	<i>Electron Impact</i>
ENH	Électrode normale à hydrogène
EPS	<i>Extracellular Polymeric Substances</i> ou Substances polymériques extracellulaires
Eq	Équivalent
ESI	<i>Electrospray Ionization</i>
ET	Électrode de travail

Abréviations et Symboles

Et₃N	Triéthylamine
EtOH	Éthanol
F	Constante de Faraday
FAB	<i>Fast Atom Bombardment</i>
Fc	Ferrocène
FRC	<i>Fouling Release Coating</i> ou Revêtement à faible énergie de surface
GC	<i>Glassy Carbon</i>
H₂SO₄	Acide sulfurique
HABA	<i>2-(4-Hydroxyphenylazo) benzoic acid</i>
HMQC	<i>Heteronuclear Multiple-Quantum Correlation</i>
HRMS	<i>High Resolution Mass Spectrometry</i>
I	Intensité d'un courant
IF	Intensité de fluorescence
In₂O₃	Oxyde d'indium
IP	Iodure de propidium
IR	Infrarouge
ITO	Oxyde d'indium-étain
K₂CO₃	Carbonate de potassium
M	Molarité (mol/L)
MALDI-TOF	<i>Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation - Time of Flight</i>
MeOH	Méthanol
MET	Microscope électronique en transmission
MMA	Méthacrylate de méthyle
n	Nombre d'électrons échangés au cours d'une réaction redox
Na₂S₂O₄	Dithionite de sodium
NaBH₄	Tétrahydruroborate de sodium
NaCl	Chlorure de sodium
NaN₃	Azoture de sodium
NaNO₂	Nitrite de sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium
mNBA	<i>m-nitrobenzylalcohol</i>
NBS	<i>N-bromosuccinimide</i>
NIS	Espèces non-indigènes
OMI	Organisation Maritime Internationale
PAMAM	Poly (amidoamine)
PC	Phosphorylcholine
PCBMA	Poly (méthacrylate) de carboxybétaine
PDMS	Polydiméthylsiloxane
PEDOT	Poly (3,4-éthylènedioxythiophène)
PEG	Poly (éthylène glycol)
PEO	Poly (oxyde d'éthylène)
PES	Poly (éthersulfone)
pI	Point isolélectrique
PMPC	Poly (2-méthacryloyloxyéthyl phosphorylcholine)
PPF	Film de carbone photorésistant pyrolysé
PS	Polystyrène

Abréviations et Symboles

PSBEDOT	Poly (sulfobétaine-3,4-éthylènedioxythiophène)
PSBMA	Poly (méthacrylate) de sulfobétaine
Pt	Platine
PTFE	Poly (tétrafluoroéthylène)
Q_f	Contribution de charge faradique
RMN	Résonance magnétique nucléaire
RPE	Spectroscopie par résonance paramagnétique électronique
S	Surface ou Substrat
SAM	<i>Self-Assembled Monolayer</i> ou Monocouche auto-assemblée
SB	Sulfobétaine
SLIPS	<i>Slippery Liquid-Infused Porous Surfaces</i> ou Surfaces poreuses glissantes infusées d'un liquide
SPC	<i>Self-Polishing Copolymer</i> ou Copolymère autopolissant
TA	Température ambiante
TBAF	Fluorure de tétra- <i>n</i> -butylammonium
TBAP	Tétrabutylammonium phosphate
TBTM	Méthacrylate de tributylétain
TC	Toulon Collection
TEMPO	2,2,6,6-Tétraméthyl-1-pipéridinyloxy
TFA	Acide trifluoroacétique
TFEA	2,2,2-trifluoroéthylamine
THF	Tétrahydrofurane
TIPS	Triisopropylsilyle
TLC	<i>Thin-Layer Chromatography</i> ou Chromatographie sur couche mince
TOF-SIMS	Spectrométrie de masse d'ions secondaires à temps de vol
TsCl	Chlorure de tosyle
TMS	Triméthylsilyle
UV	Ultraviolet
VNSS	<i>Vaätanen Nine Salt Solution</i>
vs	<i>Versus</i> / par opposition à
XPS	Spectrométrie de photoélectrons induits par des rayons X
Γ	Taux de recouvrement électrochimique (mol/cm ²)
ΔE	Écart en potentiel de pic à pic
σ_p	Coefficient de Hammett pour les substituants en para du noyau aromatique
λ	Longueur d'ondes (nm)
% m	Pourcentage massique

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale

La technologie a contribué à la croissance de l'activité humaine sur la Terre, dictée par l'économie et le profit. Cette croissance se fait au détriment de l'environnement, ce qui a pour conséquence un dérèglement climatique et une érosion de la diversité des espèces. Le milieu marin n'échappe pas non plus aux conséquences de l'activité humaine avec une température croissante des océans qui perturbe la faune marine, des rejets (déchets, carburants...) qui viennent polluer le milieu marin et une surpêche qui a lieu à des profondeurs de plus en plus importantes mettant en danger les écosystèmes. Cependant, l'artificialisation en mer est beaucoup moins importante que sur la terre car l'eau n'est pas l'environnement naturel de l'homme et les organismes marins tendent à se développer rapidement mettant à mal toute structure établie dans le milieu marin.

Effectivement, toute surface (naturelle ou artificielle) immergée dans l'eau de mer est soumise à la colonisation rapide et incontrôlée d'organismes marins tels que les bactéries, les diatomées, les protozoaires qui représentent les micro-organismes mais également les macro-algues et les invertébrés qui constituent les macro-organismes. Connu sous le nom de fouling ou biofouling, cet encrassement biologique est ubiquitaire dans l'environnement marin et constitue un problème majeur pour les activités humaines sur les plans économiques, environnementaux et matériels. En effet, ces bio-salissures limitent les performances des appareils utilisés comme les navires, les pipelines, les plateformes marines pétrolières et éoliennes, augmentent les coûts de maintenance et de nettoyage, sont à l'origine de la bio-corrosion et s'introduisent hors de leur aire de répartition naturelle par transport maritime entraînant le développement d'espèces non indigènes ou invasives.

Cependant, toute surface ne souffre pas du biofouling, par contre elles sont toutes soumises à la formation du biofilm, c'est-à-dire, une communauté de micro-organismes fixée à une surface et maintenue par la sécrétion d'une matrice adhésive et protectrice. Ainsi, le biofouling se développe lorsque le biofilm commence à altérer les performances des dispositifs utilisés. On dit alors que les effets du biofilm se trouvent au-delà du seuil d'interférence. Il est donc nécessaire d'apprendre à vivre avec le biofilm en maintenant ses effets en dessous du seuil d'interférence afin qu'il ne perturbe pas les performances des appareils utilisés.¹

Les scientifiques ont développé des peintures antisalissures marines comme moyen de défense contre l'encrassement biologique sur les surfaces artificielles et en particulier sur les coques de navires. Ainsi, les premières peintures antisalissures à base de biocides ont vu le jour au milieu du 18^{ème} siècle et la plus efficace a été développée dans les années 1970 lors de l'incorporation de composés à base de tributyle étain (TBT) dans les matrices autopolissantes qui ont une durée de vie élevée avec un taux de relargage du biocide constant. Pourtant, dans les années 1980, les autorités prennent conscience des effets néfastes de l'utilisation du TBT sur la faune et la flore marines non ciblées conduisant à des restrictions progressives au fil du temps jusqu'à son interdiction dans les peintures antisalissures à partir de janvier 2008.

Aujourd'hui, le cuivre est redevenu le biocide prédominant et son action est généralement accompagnée par l'utilisation de boosters ou co-biocides (herbicides, fongicides, algicides, bactéricides...). Cependant, ces biocides peuvent également être à l'origine de problèmes environnementaux dus à leur toxicité envers des espèces marines non-ciblées. Effectivement, leur accumulation dans les colonnes d'eau et les sédiments en

¹ (a) Flemming, H. C., *Water research* **2020**, *173*, 115576. (b) Flemming, H.-C., In *Biofilm Highlights*, Springer Berlin Heidelberg: **2011**, 81-109.

raison de leur dégradation lente remet en cause leur utilisation. Ainsi, depuis le 1^{er} janvier 2018, seulement 10 substances actives peuvent être utilisées dans les peintures antisalissures marines au lieu de 25 afin de limiter les impacts environnementaux. Les peintures à base de biocides représentent actuellement plus de 90 % du marché mondial des systèmes antifouling.²

Le développement de nouvelles peintures, contenant des biocides moins toxiques extraits des organismes marins ou bien synthétisés, est onéreux car les substances sont soumises à des études éco-toxicologiques et d'impact environnemental. Le rapport bénéfice/risque est mis en balance avant leur enregistrement et leur autorisation de mise sur le marché (règlement biocide RPB, règlement (UE) n° 528/2012).

Il existe d'autres revêtements sans relargage appelés revêtements à faible énergie de surface ou Fouling Release Coatings (FRC) qui ont été inventés dans les années 1970. Ils avaient été mis de côté avec le succès des peintures autopolissantes à base de TBT. Aujourd'hui, leur utilisation continue et elle est principalement dédiée à la marine marchande et militaire. Ces revêtements sont préconisés pour réduire les coûts de maintenance et la consommation en carburant, en raison de leur capacité à réduire les frottements et la traînée hydrodynamique des navires. Toutefois ces systèmes sont efficaces en mode dynamique lorsque le navire navigue.

À l'heure d'aujourd'hui, il n'existe pas de revêtements idéaux mais la recherche s'investit dans le développement de revêtements efficaces, écologiques, biodégradables, rentables et durables. En effet, un environnement sain est le signal d'un avenir radieux !³

À l'échelle du laboratoire, une des alternatives proposées est la fonctionnalisation de surface par des polymères polaires/hydrophiles qui développent des propriétés anti-adhésives pour prévenir de l'installation du biofilm. Les scientifiques s'intéressent également de plus en plus aux mécanismes de défense de la nature au travers de structures micro et nano-texturées qui fournissent une surface superhydrophobe avec une propriété autonettoyante.

Le traitement électrochimique des surfaces générant des substances toxiques est une autre alternative afin d'empêcher la formation du biofilm sur des capteurs, par exemple.

Cependant, il existe de nombreuses autres approches mais il est impossible de toutes les citer.

Au travers de ce manuscrit, nous allons essayer de contribuer à des solutions plausibles pour lutter contre les salissures marines. L'objectif de ce travail de thèse est de développer de nouveaux revêtements efficaces et respectueux de l'environnement. Nous proposons d'immobiliser sur une surface de carbone vitreux de nouveaux composés à base de glucides et de systèmes conjugués électrostimulables pour éviter le relargage d'une espèce chimique dans l'environnement. Le glucide, qui est une molécule biodégradable, interviendra dans l'activité antiprotéinique du composé car il sera à l'origine de la formation d'une couche d'hydratation au-dessus de la surface repoussant les protéines. L'application d'un courant électrique par balayage de potentiel sur le système conjugué modifiera les propriétés redox qui seront à l'origine de la variation de la mouillabilité et de l'état de charge de la surface, perturbant ainsi l'adhésion bactérienne.

² https://professionnels.ofb.fr/sites/default/files/pdf/documentation/Rapport_Antifouling-environnement2019.pdf

³ Kyei, S. K.; Darko, G.; Akaranta, O., *Journal of Coatings Technology and Research* **2020**, *17*, 315-332.

Le manuscrit de thèse sera structuré en quatre volets de la manière suivante :

Dans le chapitre 1, nous présenterons les différentes étapes du développement du biofouling sur une surface immergée dans l'eau de mer ainsi que leurs conséquences sur les activités humaines. Puis, nous mentionnerons les différentes peintures antisalissures ayant atteint l'échelle industrielle et leurs effets néfastes sur l'environnement. Enfin, nous discuterons de différentes approches antifouling qui ont été développées ces dernières années avec un regard de bienveillance sur l'environnement.

Le chapitre 2 portera sur la synthèse et l'immobilisation de glucides simples (glucose et lactose), liés à une phénylamine en position anomérique, sur une surface de carbone vitreux. Le greffage se fera par oxydation de l'amine aromatique dans les milieux organiques et aqueux. Il s'agira de déterminer une méthodologie de greffage qui pourra être utilisée pour les prochains composés. De plus, la formation d'un produit de couplage lors de l'oxydation de l'amine aromatique ainsi que le rôle de la base (organique ou inorganique) dans le mécanisme de greffage seront discutés.

Le chapitre 3 portera sur la synthèse et l'immobilisation d'un glucose phénylamine, fonctionnalisé par une unité ferrocényle, sur une surface de carbone vitreux via l'oxydation de l'amine aromatique en milieux organiques et aqueux. Le ferrocène sera introduit sur la position 6 du glucide par une cycloaddition 1,3-dipolaire. Le mécanisme du greffage fera l'objet d'une attention toute particulière et sera développé au travers de diverses expériences. Enfin, la stabilité de la couche organique déposée sur la surface sera étudiée et les propriétés anti-adhésion bactérienne seront évaluées au moyen d'une microplaque de 96 puits reliée à un potentiostat. Ce test sera effectué au contact d'une suspension bactérienne TC8 en présence ou en l'absence d'une stimulation électrique par balayage de potentiel pendant 15 h.

Dans le chapitre 4, nous nous intéresserons à des sondes électro-actives différentes du ferrocène tout en conservant la structure moléculaire du glucide électrostimulable proposée dans le chapitre 3. Nous présenterons donc les synthèses et les greffages sur carbone vitreux de glucides à base de terthiophène et d'EDOT. Dans les trois exemples développés dans les chapitres 3 et 4, les sondes électro-actives représentent la couche supérieure au contact direct de la solution lorsque l'électrode est immergée. Dans un dernier exemple, nous avons changé d'approche en introduisant le système électro-actif en position anomérique du glucide. Cette fois-ci, la sonde électro-active représentera la couche inférieure tandis que le glucide sera au contact direct de la solution. Nous présenterons donc les avancées par rapport à cette nouvelle approche.

CHAPITRE 1

Chapitre 1 : L'encrassement biologique en milieu marin, ses conséquences et les solutions apportées de l'échelle du laboratoire à celle industrielle

Le terme « biofouling » désigne l'encrassement biologique auquel est soumise une surface naturelle ou artificielle quel que soit le milieu environnant, terrestre ou aquatique. Ce phénomène naturel est très abondant en milieu marin et envahit rapidement toute surface immergée.

Plus de 4000 organismes marins ont été identifiés comme étant responsable du biofouling. La plupart de ces espèces vivent principalement dans les eaux peu profondes, le long de la côte et dans les ports, qui sont des milieux riches en nutriments. Ces organismes marins sont répartis en deux catégories selon leur taille. La première représente les micro-organismes (ou le microfouling) tels que les bactéries, les diatomées et les spores d'algues tandis que les bernacles ou balanes, les vers tubicoles, les bryozoaires, les moules et les macro-algues appartiennent à la catégorie des macro-organismes (ou le macrofouling).⁴

1 L'encrassement biologique ou biofouling dans le milieu marin et ses conséquences

1.1 Processus de développement du biofouling dans le milieu marin

La colonisation d'une surface immergée dans l'eau de mer s'effectue en six grandes étapes qui sont définies par : l'adsorption moléculaire, l'adhésion bactérienne, la formation et la maturation du biofilm, l'adhésion d'espèces unicellulaires puis enfin, l'installation de zoospores et de larves qui se transforment en macro-organismes marins (Schéma 1. 1). Ces différentes séquences évoluent progressivement d'un processus physique vers un processus biologique.⁵

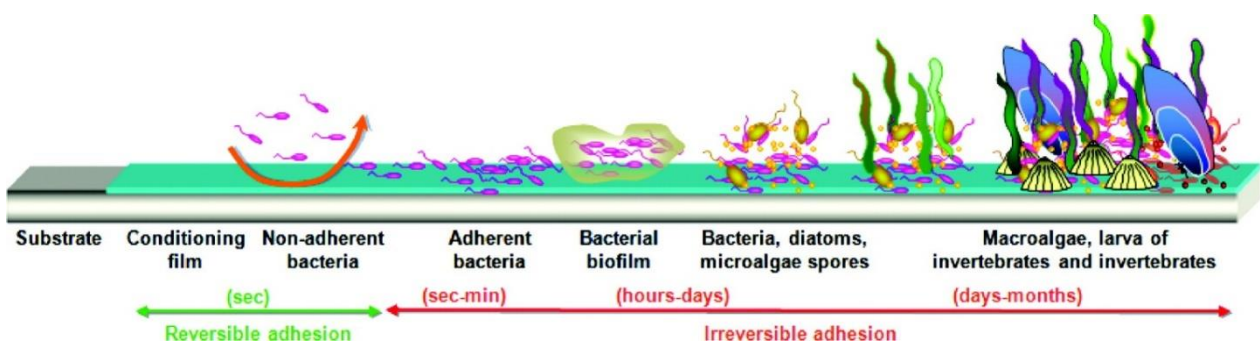


Schéma 1. 1 : Développement du biofouling sur une surface immergée dans le milieu marin.⁶

1.1.1 L'adsorption moléculaire

La colonisation débute immédiatement après l'immersion d'une surface dans le milieu marin et correspond à l'adsorption de macromolécules organiques (protéines, polysaccharides, glycoprotéines, acides humiques) et/ou des molécules inorganiques (les sels) déjà présentes dans l'environnement ou sécrétées par des micro-

⁴ Cao, S.; Wang, J.; Chen, H.; Chen, D., *Chinese Science Bulletin* **2011**, *56*, 598-612.

⁵ Wahl, M., *Marine Ecology Progress Series* **1989**, *58*, 175-189.

⁶ Lejars, M.; Margailan, A.; Bressy, C., *Chemical Reviews* **2012**, *112*, 4347-4390.

organismes. L'ensemble de ces molécules adsorbées sur la surface constitue le film conditionnant. Ce film primaire est essentiel car il induit des modifications de propriétés de surface (rugosité, composition chimique, polarité, mouillabilité, énergie de surface) capables d'influencer l'adhésion bactérienne. Ainsi, la formation de micro-niches sur la surface représente une source en nutriments par rapport à l'environnement marin, ce qui favorise l'adhésion des bactéries qui est stabilisée par des interactions spécifiques. Si l'adsorption moléculaire tend à neutraliser partiellement la charge nette et modifier l'énergie libre de la surface, alors elle peut prévenir l'approche des bactéries sur le substrat.⁷

La compréhension du mécanisme d'adsorption moléculaire reste complexe et en particulier pour les protéines en raison de leur diversité structurale.

1.1.1.1 Facteurs internes à la protéine favorisant son adsorption sur la surface

Les protéines sont des biopolymères complexes constitués d'acides aminés reliés entre eux par une liaison peptidique et sont décrites selon quatre niveaux d'organisation structurale qui sont définis par les structures primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire. De plus, des chaînes latérales peuvent s'introduire dans la structure de la protéine après la traduction génétique comme des groupements phosphates, des oligosaccharides ou des lipides.

L'adsorption de la protéine peut être affectée par la taille, la stabilité structurale et l'encombrement stérique. En effet, comme la protéine est composée de plusieurs régions avec des propriétés spécifiques différentes (hydrophiles ou hydrophobes, chargées positivement ou négativement ou neutre, polaire ou apolaire), elle peut donc orienter ces régions en fonction de la surface d'approche.⁸ Les protéines dures (exemple : le lysozyme), petites et rigides à haute stabilité interne, présentent un faible niveau d'adsorption sur les surfaces hydrophiles, excepté lors des attractions électrostatiques. Par contre, ces protéines subissent une altération structurale lors de leur adsorption sur des surfaces hydrophobes. Au contraire, les protéines molles (exemple : l'albumine), de taille intermédiaire, ont tendance à s'adsorber sur tout type de surface indépendamment des interactions électrostatiques en surmontant une réorientation conformationnelle. Concernant les protéines de haut poids moléculaire comme les lipoprotéines et les glycoprotéines, le phénomène d'adsorption dépend des lipides et des glycanes. De par leurs structures labiles, les lipoprotéines auront une forte affinité avec les surfaces hydrophobes contrairement aux glycoprotéines qui s'adsorbent sur des surfaces hautement hydrophiles dues aux glycanes.⁹

Les petites protéines diffusent rapidement et sont les premières à s'adsorber sur la surface. Cependant, les plus grosses protéines s'attachent plus fortement au substrat en raison d'une plus grande surface de contact et peuvent même repousser des protéines pré-adsorbées.

Ainsi, les protéines ont tendance à adhérer à des surfaces chargées, apolaires et avec une tension superficielle ou énergie de surface élevée. Selon Belfort¹⁰, les surfaces apolaires déstabilisent les protéines et facilitent la réorientation conformationnelle conduisant à la fois à de fortes interactions entre protéines et à des interactions protéine-surface (Schéma 1. 2). Ceci explique la forte affinité des protéines envers les surfaces hydrophobes plutôt que les surfaces hydrophiles (Schéma 1. 3).

⁷ Haras, D., *Mater. Tech.* **2005**, *93*, s.27-s.41.

⁸ Utrata-Wesołek, A., *Polimery* **2013**, *58*, 685-695.

⁹ Rabe, M.; Verdes, D.; Seeger, S., *Advances in Colloid and Interface Science* **2011**, *162*, 87-106.

¹⁰ Anand, G.; Sharma, S.; Dutta, A. K.; Kumar, S. K.; Belfort, G., *Langmuir* **2010**, *26*, 10803-10811.

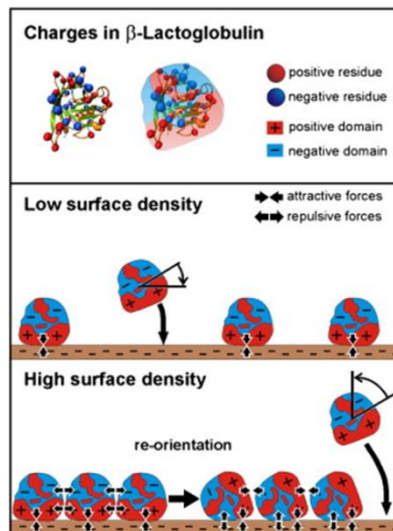


Schéma 1. 2 : Modification de l'orientation d'une protéine adsorbée sur une surface. Au-dessus : représentation de la distribution de charges positives et négatives sur la protéine globulaire Lactoglobuline. Au centre : à faible densité de surface, l'orientation de la protéine est seulement déterminée par les interactions surface-protéine. En dessous : à des densités de surface élevées, les interactions protéines-protéines augmentent. Ces interactions provoquent une réorientation des protéines sur la surface accompagnée d'un affaiblissement des interactions protéines-surface.⁹

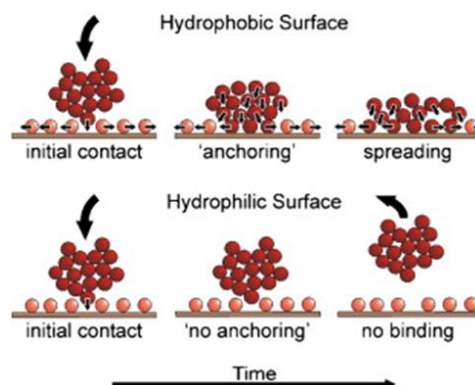


Schéma 1. 3 : Représentation du processus d'étalement d'un cluster de protéines sur une surface hydrophobe et sur une surface hydrophile.⁹

1.1.1.2 Facteurs externes influençant l'adsorption des protéines sur la surface

Les paramètres externes tels que la température, le pH et la force ionique peuvent également influencer l'adsorption de la protéine.⁹

La température influe sur l'état d'équilibre et sur la cinétique du phénomène d'adsorption de la protéine. Thermodynamiquement, l'adsorption de la protéine est favorisée par un gain d'entropie qui résulte de la libération des molécules d'eau adsorbées sur la surface et du réarrangement structurel à l'intérieur de la protéine. Cinétiquement, la diffusion de la protéine vers la surface est nettement accélérée ce qui augmente le taux d'adsorption. Ainsi, la quantité de protéines adsorbées sur la surface augmente avec la température.

Le pH détermine l'état électrostatique de la protéine. Lorsque le pH est égal au point isoélectrique (pI) de la protéine, le nombre de charges positives et négatives est en équilibre, indiquant la neutralité de la protéine. Par contre, lorsque le pH est inférieur au pI, la protéine est chargée positivement alors qu'elle est chargée

négativement si le pH est supérieur au pl. Au pH isoélectrique, une protéine a tendance à devenir moins soluble. En effet, la protéine neutre minimise les répulsions électrostatiques entre protéines et permet aux forces d'attraction de prédominer menant à l'agrégation et à la précipitation. Le taux d'adsorption est élevé lorsque le substrat et la protéine possèdent des charges opposées puisque les forces d'attractions électrostatiques accélèrent la migration de la protéine vers la surface.

L'adsorption de la protéine peut également être contrôlée par la force ionique, c'est-à-dire la concentration en ions dissous. Une concentration élevée en sel réduit les répulsions électrostatiques entre le substrat et la protéine de mêmes charges, ce qui augmente l'adsorption tandis qu'elle diminue les attractions électrostatiques entre le substrat et la protéine de charges opposées, ce qui réduit l'adsorption.¹¹

En 1888, Franz Hofmeister a montré que certains ions favorisaient la précipitation des protéines (Schéma 1. 4).¹² Les ions kosmotropes sont hautement hydratés, ils ont tendance à stabiliser la structure native de la protéine et favorisent la précipitation à de fortes concentrations en sel car les ions diminuent la solvation de la protéine. Au contraire, les ions chaotropes sont faiblement hydratés, ils facilitent la solubilité et la dénaturation de la protéine en interagissant avec elle à de faibles concentrations en sel.

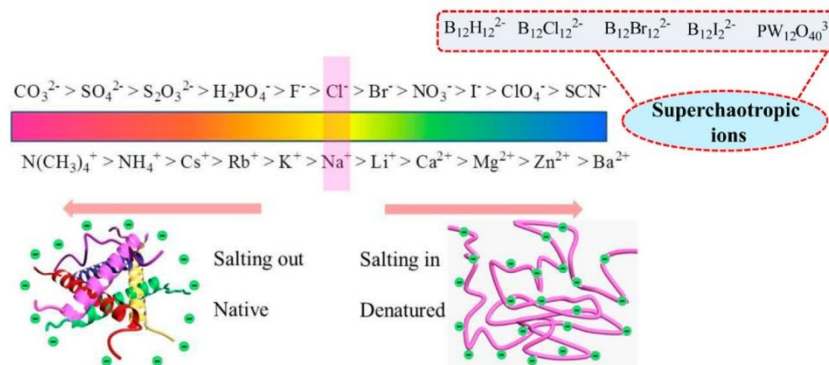


Schéma 1. 4 : Les ions de la série Hofmeister.¹²

1.1.2 Adhésion bactérienne

Les bactéries sont des micro-organismes vivants découverts pour la première fois à la fin du 17^{ème} siècle par Anthoni van Leeuwenhoek, un savant hollandais, qui les appela « animalcules ». Ces organismes sont des procaryotes dont l'ADN chromosomique est situé dans le cytoplasme. De plus, les bactéries possèdent une paroi cellulaire la protégeant de l'environnement extérieur mais aussi d'une éventuelle explosion de la cellule due à la pression osmotique.

La plupart des espèces bactériennes adoptent un mode de vie dit sessile, où elles vivent en communauté sur un support qu'elles colonisent contrairement au mode de vie dit planctonique où elles sont isolées et libres dans leur environnement.

Le processus de colonisation microbienne a été décrit pour la première fois par ZoBell en 1943. Il a suggéré que l'adhésion bactérienne impliquait deux étapes qui ont été étudiées et définies par l'équipe de Marshall en 1971 comme étant l'adsorption réversible non spécifique et l'adsorption irréversible spécifique.¹³

¹¹ Jones, K. L.; O'Melia, C. R., *Journal of Membrane Science* **2000**, 165, 31-46.

¹² Kang, B.; Tang, H.; Zhao, Z.; Song, S., *ACS Omega* **2020**, 5, 6229-6239.

¹³ Lappin-Scott, H. M.; Costerton, J. W., *Biofouling* **1989**, 1, 323-342.

Avant d'adhérer à la surface, les bactéries sont transportées du liquide au voisinage de l'interface support-liquide par un certain nombre de mécanismes tels que la sédimentation, la chimiotaxie, le mouvement brownien, l'hydrophobie de la surface de la cellule et la dynamique des fluides lors d'un régime d'écoulement turbulent.

1.1.2.1 Adhésion réversible non spécifique

Au voisinage de l'interface support-liquide, Busscher et Weerkamp¹⁴ ont décrit l'ordre d'intervention des interactions physiques en fonction de la distance entre la bactérie et le support (Schéma 1. 5). Ainsi, les forces de Van der Waals agissent lorsque la bactérie se trouve à une distance supérieure à 50 nm de la surface. Puis, les interactions électrostatiques s'ajoutent aux forces précédentes à une distance de 10-20 nm du substrat. Enfin, des interactions spécifiques se produisent lorsque la bactérie est à une distance inférieure à 1 nm de la surface et l'adhésion devient donc irréversible et spécifique.

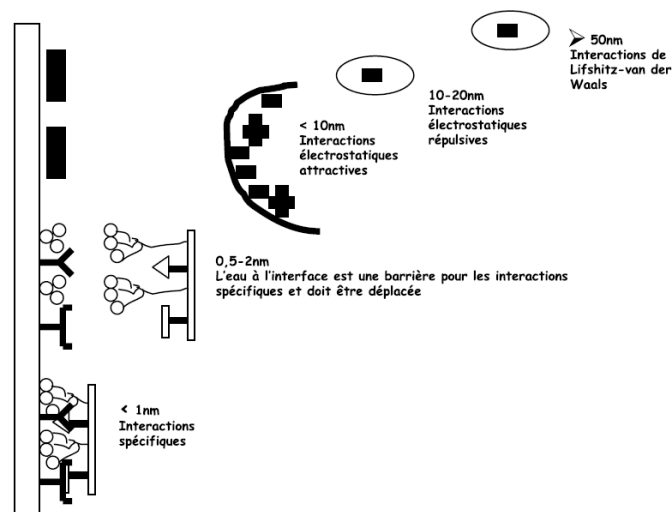


Schéma 1. 5 : Représentation des forces impliquées dans l'adhésion bactérienne.⁷

L'adhésion réversible non spécifique est décrite par la théorie DLVO (Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek) de 1948. Cette théorie étudie la stabilité d'une suspension colloïdale qui est définie par la dispersion des particules en solution. Elle considère le potentiel d'interaction total entre deux corps (bactérie et support) comme étant la somme des potentiels attractifs dus aux forces de Van der Waals et des potentiels répulsifs (Coulomb) dus aux doubles couches électroniques entourant la surface bactérienne et celle du substrat.¹⁵

Lorsqu'une surface est chargée, une différence de potentiel électrique se crée entre cette surface et la solution aqueuse. Ainsi, pour contrebalancer la charge à la surface, des contre-ions y sont attirés et forment une double couche électrique (couche de Stern et couche diffuse). Lorsque deux corps sont chargés négativement, ils peuvent soit s'attirer soit se repousser. En fait, cela dépend de l'épaisseur de la double couche qui découle elle-même de la concentration de l'électrolyte.

La répulsion électrostatique dépend de la force ionique de la solution contrairement aux attractions de Van der Waals qui restent constantes. Ainsi, plus la concentration ionique est importante, plus la force de répulsion électrostatique est faible et plus la distance entre les deux surfaces (bactérie et support) se réduit.

¹⁴ Busscher, H. J.; Weerkamp, A. H., *FEMS Microbiology Letters* **1987**, 46, 165-173.

¹⁵ Marshall, K. C., In *Bacterial Adhesion: Mechanisms and Physiological Significance*, Springer US: **1985**, 133-161.

Après avoir surmonté les répulsions électrostatiques, les parties hydrophobes du support et de la bactérie interagissent ensemble et éliminent les molécules d'eau présentes à l'interface bactérie-support. À partir de là, les interactions spécifiques peuvent commencer à s'effectuer et mèneront à une adhésion irréversible.¹⁶

De plus, l'adhésion de micro-organismes sur un substrat peut également être décrite par une approche thermodynamique qui met en relation l'énergie libre d'adhésion de Gibbs (ΔG^{adh}) avec les énergies interfaciales entre le substrat, la bactérie et le liquide environnant selon l'équation (1) :

$$\Delta G^{adh} = \gamma_{BS} - \gamma_{BL} - \gamma_{SL} \quad (1)$$

γ_{BS} est l'énergie interfaciale entre la bactérie et le substrat, γ_{BL} est l'énergie interfaciale entre la bactérie et le liquide environnant et γ_{SL} est l'énergie interfaciale entre le substrat et le liquide environnant.

Ainsi, l'adhésion bactérienne sera thermodynamiquement favorable lorsque $\Delta G^{adh} < 0$.¹⁷

1.1.2.2 Adhésion irréversible et spécifique

Dans cette étape, la bactérie utilise ses organelles extracellulaires (les fimbriae ou pili, le glycocalyx) pour établir le lien spécifique avec le substrat.¹⁸

Les fimbriae sont des structures protéiques filamenteuses présentes chez les bactéries à Gram négatif. Ils sont constitués par la polymérisation d'une sous-unité de piline, qui peut être assemblée à d'autres polypeptides dont l'adhésine.¹⁹ Lorsque la bactérie est à l'interface du support-liquide, les adhésines se fixent à des récepteurs glycolipidiques ou glycoprotéiques présents sur la surface du support, ce qui permet à la bactérie de rester à proximité. Cette accroche fait intervenir les interactions de Van der Waals mais aussi des liaisons hydrogènes et la formation de ponts polymères (fibrilles) entre les bactéries et la surface.

Le glycocalyx est une fibre polysaccharidique présente à la surface de la bactérie qui facilite l'adhésion bactérienne et comble les espaces entre la bactérie et le substrat.²⁰ On le nomme également « slime » car il englué les cellules bactériennes.

Ainsi, l'ensemble de ces interactions non spécifiques et spécifiques permet de maintenir la bactérie sur la surface de façon irréversible.

1.1.3 Formation du biofilm

À partir du moment où les bactéries ont commencé à adhérer de façon spécifique et irréversible à la surface du substrat, elles vont ensuite s'agglutiner, se multiplier pour former des micro-colonies qui vont se différencier. En parallèle, les bactéries sécrètent une matrice d'exopolymères (EPS) qui peut être constituée de polysaccharides, de protéines, d'acides nucléiques, d'agents tensio-actifs, de lipides, de glycolipides et de cations. La composition de la matrice dépend de l'espèce bactérienne et des conditions de croissance. De

¹⁶ Renner, L. D.; Weibel, D. B., *MRS Bulletin* **2011**, *36*, 347-355.

¹⁷ (a) Carniello, V.; Peterson, B. W.; van der Mei, H. C.; Busscher, H. J., *Advances in Colloid and Interface Science* **2018**, *261*, 1-14. (b) Araújo, E.; Bernardes, P.; Andrade, N.; Fernandes, P.; Sá, J., *International Journal of Food Science & Technology* **2009**, *44*, 2519-2525.

¹⁸ La Barre, S.; Haras, D., *J. Soc. Biol.* **2007**, *201*, 281-289.

¹⁹ <http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.1.2.5.html>

²⁰ <http://www.unsof.org/media/bacterio/html/cours-N103F2-7.html>
<http://www.unsof.org/media/bacterio/html/cours-N103F2-7.html>

plus, elle est hautement hydratée et peut contenir jusqu'à 97 % d'eau. La matrice représente à elle-seule 75 à 95 % du volume du biofilm ainsi formé.²¹

Le biofilm bactérien représente donc une communauté de micro-organismes fixée à la surface et enrobée d'une matrice polymère. Il permet aux bactéries de survivre dans un environnement hostile via la matrice polymère qui agit en tant que barrière protectrice.

Une des particularités du biofilm est son hétérogénéité (épaisseur, pH, teneur en oxygène dissous, morphologie des bactéries).²² Lorsque le biofilm arrive à maturation avec une structure tridimensionnelle, son épaisseur peut varier de quelques micromètres à quelques centimètres selon la composition du milieu, la nature du substrat, les souches bactériennes présentes et le temps. À l'intérieur du biofilm, les micro-colonies sont séparées par un espace libre qui permet de faire circuler l'oxygène et les nutriments mais aussi d'évacuer les déchets. Les régions au centre des agrégats bactériens ou à l'interface avec le substrat sont généralement anaérobies et pauvres en nutriments alors que celles situées à proximité de l'interface avec le liquide sont riches en oxygène et en nutriments. Enfin, la variation du pH est due à la production d'acide par certaines bactéries au cours de leur métabolisme.

Enfin, le biofilm se diversifie en faisant cohabiter différents micro-organismes unicellulaires eucaryotes comme les micro-algues et en particulier les diatomées mais également les champignons et les protozoaires (Figure 1. 1).

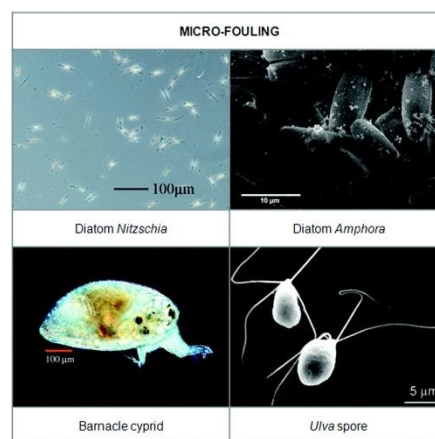


Figure 1. 1 : Présentation de différents micro-organismes fixés sur une surface immergée dans l'eau de mer naturelle.⁶

Les diatomées sont des micro-algues unicellulaires enveloppées par un squelette externe siliceux qui ne possèdent pas de flagelle pour se déplacer. Ainsi, les diatomées atterrissent passivement sur le substrat par l'écoulement du fluide ou par sédimentation. Puis, elles adhèrent au support par la sécrétion de substances polymères extracellulaires (principalement des polysaccharides) et se réorientent sur la surface en suivant le processus de motilité « glissante ». Les diatomées continuent à se diviser et à se multiplier pour donner naissance à des micro-colonies qui formeront un biofilm compact, comme les bactéries.⁶

Suite à la formation et à la maturation du biofilm, certaines bactéries peuvent s'y détacher et retournent ainsi dans leur état planctonique afin d'adhérer, puis de coloniser un nouveau substrat. Le détachement de

²¹ Tremblay, Y. D. N.; Hathroubi, S.; Jacques, M., *Can J Vet Res* **2014**, *78*, 110-116.

²² Lehaitre, M.; Delauney, L.; Compere, C., In *Real-Time Coastal Observing Systems for Marine Ecosystem Dynamics and Harmful Algal Blooms: Theory, instrumentation and modelling*, **2008**, 463-493.

ces bactéries peut être dû à des perturbations mécaniques, la disponibilité de nutriments, la dégradation enzymatique de la matrice polymérique, l'induction de la motilité...

1.1.4 Développement du macrofouling

Les macro-organismes sont d'origine animale ou végétale et sont répartis en deux grandes catégories : les organismes dit « soft » (mou en français) et les organismes dit « hard » (dur, encroûtant en français) (Figure 1. 2).²²



Figure 1. 2 : Présentation de différents macro-organismes fixés sur une surface immergée dans l'eau de mer naturelle.⁶

Ainsi, les organismes « hard » possèdent un squelette solide tel qu'une coquille ou un tube en calcaire qui le protège de l'environnement extérieur. C'est le cas des algues calcaires, des vers polychètes tubicoles, des moules, des huitres, des bryozoaires encroûtants et des balanes. Au contraire, les organismes « soft » représentés par les anémones, les éponges, les algues, les bryozoaires chevelus, les coraux mous, sont des organismes qui ne présentent aucune protection calcaire.

La colonisation des macro-organismes sur la surface se fait également en plusieurs étapes. Par exemple chez les invertébrés, la balane débute sa vie en tant que larve nauplius, subissant une séquence de mue larvaire pour donner naissance à la larve cypris. Cette dernière doit se fixer sur une surface dure pour achever sa transition à l'état adulte. Ainsi, à l'approche d'un substrat adéquat, la larve cypris peut adhérer grâce à des organes de fixation ou « antennules » qui sécrètent un adhésif temporairement. Une fois accrochée sur le substrat, la larve cypris se métamorphose en balane adulte enfermée dans une coquille calcaire dure qui produit un ciment biologique constitué de protéines hydrophobes réticulées à travers des ponts disulfures.⁶

L'algue verte *Ulva*²³ est une macro-algue qui colonise les surfaces grâce à la production de zoospores microscopiques capables de se fixer et d'adhérer à un substrat par la sécrétion de bio-adhésif hydrophile composé de glycoprotéines. La germination des spores, puis la division et la multiplication cellulaire donnent naissance à des jeunes plantes qui adhèrent au substrat par la sécrétion de bio-adhésif.

²³ Callow, J. A.; Callow, M. E., In *Biological Adhesives*, Springer Berlin Heidelberg: **2006**, 63-78.

1.2 Conséquences du biofouling

Ce phénomène biologique naturel représente une menace pour les surfaces artificielles immergées dans l'environnement marin telles que les pipelines, les câbles, les piliers de plateformes pétrolières et hydroliennes, les cages aquacoles, les instruments de mesure scientifique, les échangeurs thermiques ou les coques de navires.

Pour les navires en milieu marin, le biofouling modifie le profil hydrodynamique de la coque, c'est-à-dire qu'il augmente les forces de frottement (la trainée) entre la coque et l'eau dues à la rugosité et aux contraintes de cisaillement. De plus, l'accumulation du biofouling provoque un alourdissement (150 kg de fouling par m² en moins de six mois en mer) et une perte de manœuvrabilité du navire. L'ensemble de ces inconvénients engendre une perte de vitesse et une surconsommation du carburant (augmentation de 6 % pour une rugosité moyenne de 100 µm causée par les organismes marins).²⁴

L'encrassement biologique a un effet néfaste sur l'environnement puisque la surconsommation de carburant entraîne l'augmentation des émissions des gaz à effet de serre (le dioxyde de carbone, la vapeur d'eau, le méthane, le protoxyde d'azote et l'ozone troposphérique) et d'autres gaz nocifs tels que les oxydes de soufre, les oxydes nitreux et des particules.

Le biofouling contribue également à l'augmentation des coûts d'entretien d'un navire par une fréquence de nettoyage plus importante dans les cales sèches ou « dry docking » où sont générés une grande quantité de déchets toxiques.

D'autre part, le transport maritime et l'aquaculture sont des vecteurs de l'introduction d'espèces non-indigènes (NIS) dans un nouvel environnement. En effet, lorsque ces espèces se trouvent hors de leur aire de répartition naturelle, elles deviennent envahissantes et nuisent à la biodiversité ou à l'écosystème en entrant en concurrence avec les espèces autochtones. Par exemple, 821 espèces non-indigènes pluricellulaires ont été répertoriées dans la Méditerranée.²⁵

Une couche d'encrassement biologique déposée sur les surfaces métalliques des échangeurs de chaleur conduit à une conductivité thermique plus faible que celle du métal, ce qui réduit le transfert thermique. De plus, l'épaisseur du biofilm diminue la section de passage du fluide ce qui entraîne une augmentation de la perte de charge.²⁶

Les biosalissures perturbent également les instruments de mesure (capteurs physico-chimiques, caméras, projecteurs) installés sur des structures existantes (bateaux, quais, bouées, plateformes, digues) pendant une certaine période. En effet, les biosalissures causent une dérive des capteurs qui donnent ensuite des mesures inexploitable car elles sont bruitées.²⁷

²⁴ Gougoulidis, G.; Michelis, A., *Energy & Environment in Ships*, **2015**.

²⁵ https://portailweb.universita.corsica/stockage_public/portail/baaaatr6/files/C2-Espe%CC%80ces%20non%20indige%CC%80nes.pdf

²⁶ (a) Compere, C., *Techniques sciences méthodes* **1999**, 48-54. (b) Labeyrie, J.; Lemoine, L. *Computational Methods and Experimental Measurements*, Springer Berlin Heidelberg, **1984**, 259-271. (c) Nebot-Sanz, E.; Casanueva, J.; Pendon, C.; Solera, R.; Jimenez Taracido, L.; Casanueva-Robles, T.; López-Galindo, C., In *Biofouling: Types, Impact, and Anti-fouling*. Nova Science Publishers: **2010**, 65-104.

²⁷ (a) Delauney, L.; Compère, C.; Lehaitre, M., *Ocean Sci.* **2010**, *6*, 503-511. (b) Whelan, A.; Regan, F., *Journal of Environmental Monitoring* **2006**, *8*, 880-886.

Les matériaux métalliques immergés dans l'eau de mer sont soumis à des phénomènes de corrosion induite par les micro-organismes (la biocorrosion). Par l'intermédiaire de leur métabolisme, les micro-organismes sécrètent des acides qui abaissent fortement le pH à l'interface métal-liquide contribuant à la dégradation du matériau. Les bactéries sécrètent des polysaccharides à caractère acide qui piègent les ions métalliques à des concentrations élevées et peuvent former des couples galvaniques. De plus, la présence d'un biofilm sur les surfaces métalliques modifie le potentiel d'abandon des alliages.²⁸

La prévention du biofouling reste un véritable défi car de nombreuses techniques ont été utilisées depuis que l'homme a marqué son territoire dans l'environnement marin sans trouver le remède miracle.

2 Les revêtements antifouling à l'échelle industrielle

2.1 Historique

Depuis plus de 2000 ans, les hommes tentent de développer des revêtements antifouling pour empêcher ou réduire l'encrassement biologique qui colonise les coques de bateaux.²⁹

Dès l'Antiquité, les Phéniciens et les Carthaginois furent les premiers à utiliser des revêtements à base de cuivre ou de plomb sur des coques de navire en bois. Puis, au 5^{ème} av. J.-C., les hommes ont développé un revêtement à base d'un mélange d'huile, d'arsenic et de sulfure pour combattre les tarets (mollusques bivalves) qui s'attaquent aux structures en bois immergées dans l'eau de mer. Au 3^{ème} siècle av. J.-C., les Grecs étaient connus pour utiliser du goudron, de la cire et des plaques de plomb comme les Romains. En 45-125 ap. J.-C., Plutarque a déclaré qu'il fallait régulièrement racler les coques pour enlever les salissures marines afin de permettre au navire une meilleure pénétration dans les eaux. Quant aux Vikings, ils utilisaient de la graisse de phoque au 10^{ème} siècle ap. J.-C. Entre le 13^{ème} et le 15^{ème} siècle, les marins recouvraient les coques avec les peaux d'animaux ou ils les enduisaient avec de la poix mélangée à de l'huile, de la résine ou du suif. Malgré son effet corrosif sur les coques en fer, la plaque de plomb était le revêtement le plus fréquemment utilisé avant le 18^{ème} siècle, adopté par l'Espagne, la France et l'Angleterre.

En 1625, William Beale fut le premier à déposer un brevet sur l'utilisation du cuivre en tant qu'agent antifouling en analysant un mélange de ciment, de poudre de fer et un composé de cuivre (sulfate de cuivre ou minerai de cuivre-arsenic). Il a fallu attendre le 19^{ème} siècle pour comprendre le rôle du cuivre avec Sir Humphrey Davy qui a étudié le processus de corrosion de ce métal où il a démontré que la réduction de l'encrassement biologique était due à la dissolution du cuivre. Or, le développement des bateaux en fer à la fin du 18^{ème} siècle a quasiment stoppé l'utilisation du cuivre car l'association fer-cuivre induit la corrosion galvanique. Face à cet inconvénient, l'intérêt de trouver un remplaçant au cuivre a pris de l'ampleur et de nouvelles alternatives ont été testées à base de revêtements métalliques (zinc, nickel, alliages...) et non métalliques (le caoutchouc, le liège, le papier...).

Au milieu du 18^{ème} siècle, le développement de peintures antisalissures est basé sur la dispersion d'un biocide dans des liants polymères. Les biocides employés étaient généralement de l'oxyde de cuivre, de l'arsenic ou de l'oxyde de mercure tandis que les liants pouvaient être des résines, de l'huile de lin, du goudron... Or, ces biocides organométalliques sont extrêmement nocifs pour les hommes et leur utilisation fut écartée après la

²⁸ (a) Guezennec, J., *Matériaux & Techniques* **1990**, 78, 3-8. (b) Libert, M.-F.; Bildstein, O., *L'Actualité chimique* **2015**, 400-401, 105-107. (c) Videla, H. A.; Herrera, L. K., In *Studies in Surface Science and Catalysis*, Elsevier: **2004**, 151, 193-218.

²⁹ Woods Hole Oceanographic Institution, In *Marine Fouling and Its Prevention*, **1952**, 211-223.

seconde guerre mondiale. Enfin, à cette même période, l'apparition des organoétains comme biocides a révolutionné les performances des peintures antifouling. Ces organostanniques étaient généralement employés dans des matrices polymères insolubles et solubles et ils ont connu un énorme succès lorsque des sels de tributylétain étaient incorporés dans une peinture autopolissante (SPC-TBT), une technologie qui a été brevetée en 1974 par Milne et Hails.

2.2 Les peintures antisalissures commerciales à base de biocides

Les peintures antisalissures disponibles sur le marché sont des mélanges complexes constitués de biocides, d'un liant ou matrice polymère, de solvants, de pigments et d'adjuvants.³⁰

L'utilisation de solvants facilite l'application de la peinture antisalissure sur la coque du navire tandis que leur volatilité permet un séchage et une remise à l'eau plus rapide. Il peut s'agir du xylène, du white spirit ou du naphta.

Le biocide décrit littéralement « tue la vie ». C'est une substance destinée à détruire, à repousser ou à rendre inoffensifs les organismes « nuisibles » qui tentent de coloniser une surface immergée dans l'environnement marin par une action biologique ou chimique. Ces biocides doivent avoir une action létale à faible concentration et une solubilité convenable en eau de mer. L'efficacité de la peinture antisalissure dépend donc de la nature du biocide.

Il y a également les liants polymères qui assurent un film continu sur la carène du bateau pour que les matières actives puissent diffuser de manière identique.

Des oxydes de fer, de zinc et de titane sont utilisés comme pigment de coloration et peuvent faciliter la diffusion des substances actives.

L'efficacité de la peinture est également déterminée par la quantité de matière active relarguée par unité de surface et par jour. Ce rapport est appelé « taux de lixiviation ». Ainsi, une peinture est efficace si le liant assure un taux de lixiviation supérieur au seuil minimal légal. Généralement, au début, le taux de lixiviation est trop élevé par rapport à ce qui est nécessaire, puis il diminue progressivement jusqu'à devenir insuffisant, c'est-à-dire, inférieur au seuil minimal légal. Il faut donc recouvrir le navire d'une nouvelle couche de peinture pour retrouver l'efficacité escomptée.

Les différents modes de fonctionnement de ces peintures antisalissures à base de biocides seront présentés dans la partie suivante.³¹

2.2.1 Mécanisme de relargage du biocide au sein d'une peinture antisalissure

2.2.1.1 Les matrices insolubles ou dures (« Contact Leaching Coating »)

Développée vers 1955, la peinture de contact est composée de polymères de hautes masses molaires et insolubles (de type résine époxyde, résine acrylique, vinylique, ou caoutchouc chloré) qui ne s'érodent pas dans l'eau de mer et dans lesquels les biocides (tels que l'oxyde de cuivre ou le tributylétain) sont dispersés physiquement.

³⁰ Alzieu, C.; Heral, M.; Dreno, J.-P., *Equinoxe* **1989**, 24, 22-31.

³¹ Anderson, C.; Dalley, R. *OCEANS '86*, **1986**, 1108-1113.

Lorsque la peinture est immergée dans l'eau de mer, les biocides situés à l'interface peinture-eau sont capables de diffuser à l'extérieur de la matrice. La dissolution et le relargage de ces biocides laissent des micropores à l'intérieur de la matrice pour que l'eau de mer puisse pénétrer lentement sous les couches superficielles du film. Cependant, avec le temps, l'accès à la surface pour les biocides situés en profondeur dans la couche de peinture se complique par augmentation de la tortuosité. Le taux de lixiviation diminue alors de façon exponentielle jusqu'à atteindre la valeur minimale pour empêcher le fouling alors que la peinture contient encore une grande quantité de biocides non utilisés. L'efficacité de ce type de peinture est limitée à une période de l'ordre de 1 à 2 ans (Schéma 1. 6).

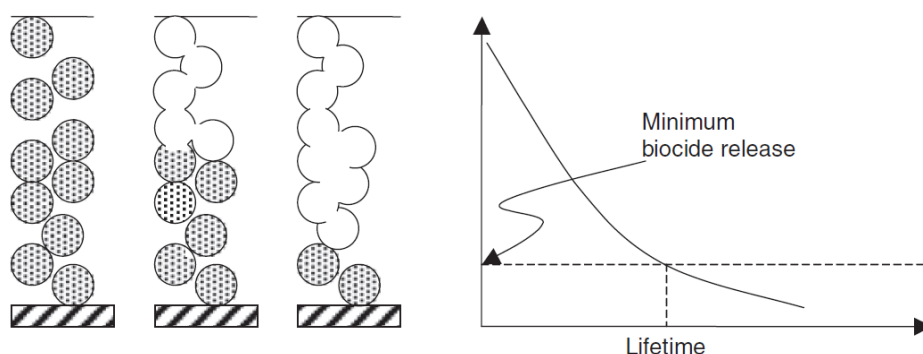


Schéma 1. 6 : Représentation schématique du mécanisme d'action d'une peinture à matrice insoluble pour relarguer le biocide dans l'eau de mer au cours du temps.³²

2.2.1.2 Les matrices solubles et les revêtements CDP (« Control Depletion Polymer »)

Les peintures ablatives sont une sous-classe des peintures conventionnelles où le biocide est physiquement dispersé dans une matrice polymère soluble ou contenant un additif soluble comme la colophane. L'objectif est de limiter la perte d'efficacité dans le temps en incorporant un liant qui peut se dissoudre dans l'eau de mer afin de libérer le biocide dispersé dans le film.

Les matrices solubles traditionnelles sont constituées de colophane, une résine obtenue après distillation de la térébenthine, substance récoltée à partir des arbres résineux. La colophane est constituée de 85-90 % d'un mélange d'acides résiniques dont les plus importants sont les acides abiétiques et lévopimariques. Ces acides possèdent un acide carboxylique et deux doubles liaisons qui s'oxydent facilement à l'air, rendant la colophane instable. Ainsi, lorsque le liant soluble est en contact avec l'eau de mer, les acides carboxyliques se transforment en ions carboxylates, ce qui dissout la résine et libère le biocide. Cependant, une dissolution très rapide dans l'eau de mer et la fragilité de la colophane ne permettent pas de maintenir l'activité antifouling au-delà de 12 à 15 mois (Schéma 1. 7).

³² Yebra, D. M.; Kiil, S.; Dam-Johansen, K., *Progress in Organic Coatings* **2004**, *50*, 75-104.

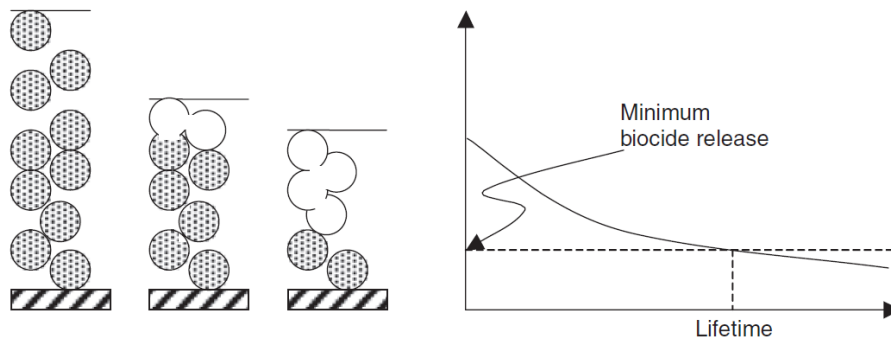


Schéma 1. 7 : Représentation schématique du mécanisme d'action d'une peinture à matrice soluble pour relarguer le biocide dans l'eau de mer au cours du temps.³²

Pour les CDP, le liant soluble est renforcé par des résines synthétiques organiques et des plastifiants insolubles plus résistants que la colophane afin d'améliorer les propriétés mécaniques pour mieux contrôler l'hydratation et la dissolution du liant.

2.2.1.3 Les matrices autopolissantes SPC (« Self-Polishing Copolymer »)

Les SPC sont les premières formulations de peinture à pouvoir contrôler le taux de relargage du biocide. Contrairement aux formulations conventionnelles, la performance de la peinture SPC est directement liée à l'épaisseur du film appliquée sur la surface. De plus, le taux de relargage reste quasiment constant sur toute la durée de son utilisation et la quantité de biocide libérée est beaucoup plus faible (Schéma 1. 8).

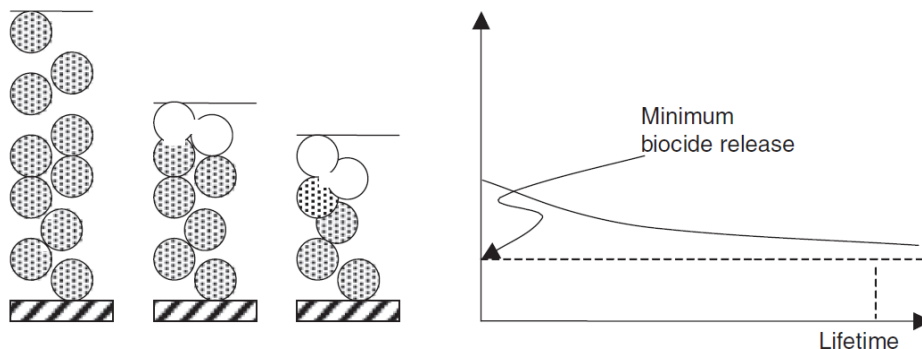


Schéma 1. 8 : Représentation schématique du mécanisme d'action d'une peinture autopolissante (SPC) pour relarguer le biocide dans l'eau de mer au cours du temps.³²

La peinture SPC la plus efficace est basée sur un copolymère de méthacrylate de tributylétain (TBTM) et de méthacrylate de méthyle (MMA). Ce copolymère est hydrophobe, ce qui empêche l'eau de mer de pénétrer dans le film de la peinture. Cependant, à la surface, l'eau de mer est capable d'interagir avec le copolymère hydrophobe par l'intermédiaire d'une réaction de saponification qui clive le groupe tributylétain du copolymère et le libère dans l'environnement marin (Schéma 1. 9). En effet, le lien carboxyle-TBT est instable dans les conditions alcalines.

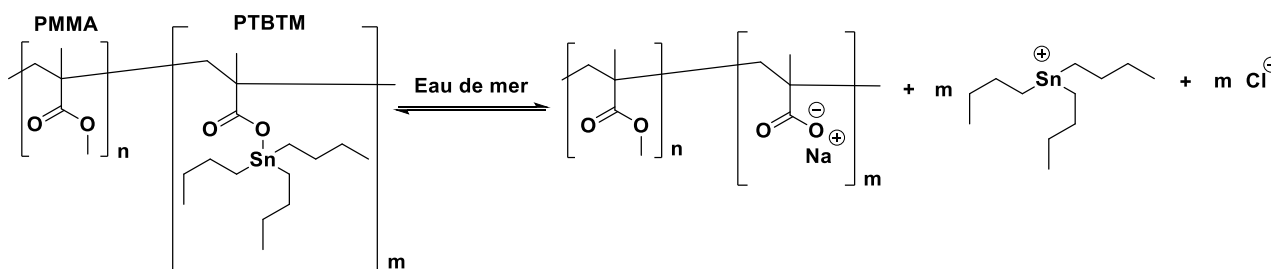


Schéma 1. 9 : Relargage contrôlé du biocide par une réaction de saponification du copolymère de TBTM et MMA dans une peinture autopolissante (SPC).

La perte du TBT provoque des changements chimiques dans le copolymère puisqu'il devient hydrophile et cassant à cause de l'augmentation de sa température de transition vitreuse (de 25 °C à 100 °C). De plus, ce polymère cassant peut facilement s'éroder par le mouvement de l'eau de mer ce qui entraîne un renouvellement constant de la couche superficielle. La formation d'un carboxylate de sodium favorise également sa solubilité dans l'eau de mer en fonction de la proportion molaire en TBTM dans le copolymère.

Le taux de polissage ou le taux d'érosion pour des peintures TBT-SPC est de l'ordre de 5 à 20 μm par mois. De plus, ces peintures peuvent retarder la mise des navires en cale sèche d'au moins 5 ans.

2.2.2 Les biocides et leur réglementation

Célèbre pour ses performances antifouling sur un large spectre d'organismes colonisateurs, le TBT est également connu pour sa condamnation dans les peintures antisalissures marines à cause de son impact néfaste sur l'environnement (dont la calcification des huitres et l'imposex chez les gastéropodes femelles). En effet, en 1982, la France a mis en place la première réglementation interdisant l'usage des peintures à base d'organoétains pour les navires de moins de 25 mètres. Cette mesure a été reprise dans une Directive européenne puis par de nombreux pays. En novembre 2001, l'Organisation Maritime Internationale (OMI) a souhaité interdire l'application de peinture à base de TBT sur tous les navires à partir du 1^{er} janvier 2003. Puis, dans un second temps, elle a exigé la suppression du revêtement à base de TBT sur toutes les coques de bateaux à partir de janvier 2008.³³

Depuis l'interdiction du TBT dans les peintures antisalissures, le cuivre est devenu le principal biocide. L'agent cuivreux le plus utilisé est l'oxyde de dicuivre (Cu_2O) grâce à son coût et son large spectre de toxicité (animaux et plantes). Lorsque l'oxyde de dicuivre entre en contact avec l'eau de mer, il se retrouve sous sa forme ionique réduite et instable, l'ion Cu^+ . Au contact de l'oxygène dissous, l'ion Cu^+ est immédiatement oxydé en ion Cu^{2+} , plus stable, qui représente le principal biocide pour empêcher le biofouling. Puis, une réaction de complexation se produit entre l'ion Cu^{2+} et des ligands organiques (le carbone organique dissous : COD) et inorganiques, ce qui réduit la toxicité du cuivre envers des organismes marins non-ciblés, en diminuant la concentration des ions Cu^{2+} (Schéma 1. 10).³⁴ Les complexes formés sont hydrophiles et chimiquement inertes. La forme la plus toxique et la plus biodisponible du cuivre est l'ion hydraté, $\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$.³⁵ La spéciation

³³ Dafforn, K. A.; Lewis, J. A.; Johnston, E. L., *Marine Pollution Bulletin* **2011**, 62, 453-465.

³⁴ (a) Brooks, S.; Waldock, M., In *Advances in Marine Antifouling Coatings and Technologies*, Woodhead Publishing: **2009**, 492-521. (b) Guardiola, F. A.; Cuesta, A.; Meseguer, J.; Esteban, M. A., *International journal of molecular sciences* **2012**, 13, 1541-1560.

³⁵ Voulvoulis, N.; Scrimshaw, M. D.; Lester, J. N., *Applied Organometallic Chemistry* **1999**, 13, 135-143.

du cuivre dépend des facteurs environnementaux comme le pH, la salinité et la présence de matières organiques dissoutes.

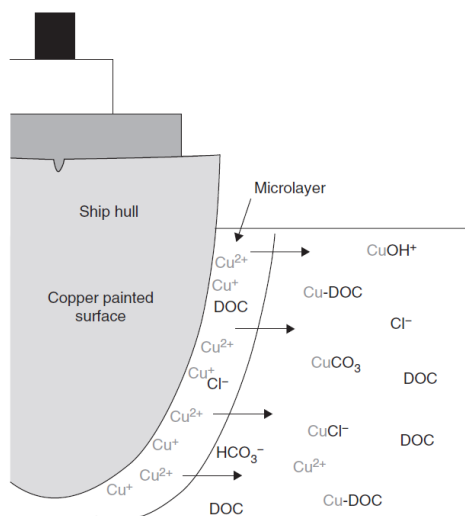


Schéma 1. 10 : Libération du cuivre dans l'eau de mer à partir d'une peinture antisalissure.³⁴

Bien que le cuivre soit naturellement présent dans l'environnement marin et qu'il soit un oligo-élément essentiel à tous les organismes vivants,³⁶ il devient nocif lorsque sa concentration dépasse le seuil de tolérance de l'organisme. De plus, l'accumulation du cuivre dans les sédiments devient problématique car il réduit la diversité de la faune benthique.³³

De plus, malgré son large spectre de toxicité, l'oxyde de dicuivre est devenu inefficace contre certaines plantes qui ont montré une tolérance au cuivre. Ainsi, de nouveaux biocides appelés boosters ou co-biocides ont été combinés aux peintures antisalissures à base de cuivre afin d'en accroître les performances. Ces boosters ou co-biocides sont des composés organiques principalement utilisés en tant que pesticides, herbicides, fongicides, bactéricides.

Depuis la mise en place de la Directive Biocide en 1998 qui est devenue le Règlement Européen (Règlement européen UE 528/2012 du Parlement européen et du Conseil du 22 mai 2012, dit « Règlement des produits biocides »), ces substances subissent des études éco-toxicologiques, d'impact environnemental et sont évaluées sur le rapport bénéfice/risque.

C'est ainsi que les substances actives comme l'Irgarol 1051 et le Diuron (Schéma 1. 11) ont été rejetées par la Commission Européenne. Ces deux herbicides étaient utilisés pour empêcher la croissance des organismes autotrophes sur les coques de bateaux en inhibant le transfert électronique dans le photosystème II, complexe enzymatique qui intervient dans les réactions de la photosynthèse. Il en résultait un stress oxydatif qui entraînait la photo-oxydation de la chlorophylle, puis la nécrose cellulaire.³⁷ De par leur toxicité à de faibles concentrations et leur persistance dans l'environnement, ils avaient des effets néfastes, en particulier,

³⁶ Laliberté, J.; Labbé, S., *Med Sci (Paris)* **2008**, *24*, 277-283.

³⁷ Zhao, W.; Wang, X., In *Antifouling Surfaces and Materials: From Land to Marine Environment*, Springer Berlin Heidelberg: **2015**, 105-134.

sur la photosynthèse du phytoplancton qui est une nourriture essentielle pour la vie marine et qui est responsable de 50 % de la production de l'oxygène planétaire.³⁸

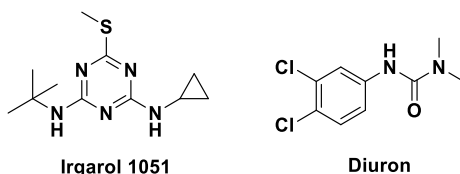
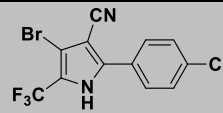
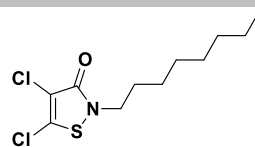
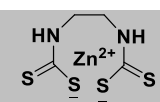
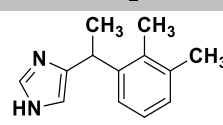
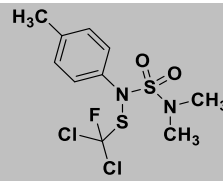
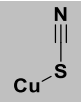
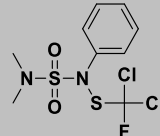


Schéma 1. 11 : Représentation des structures moléculaires de l'Irgarol 1051 et du Diuron.

Aujourd'hui, seulement 10 substances actives sont autorisées dans les peintures antisalissures dont une substance est en cours d'évaluation. Elles ont donc une chimie plus respectueuse de l'environnement dont la dégradation conduit à des produits moins toxiques pour la faune et la flore marines. Ces substances actives sont décrites dans le Tableau 1. 1.

Biocide	Structure moléculaire	Statut
2-(<i>p</i> -chlorophényl)-3-cyano-4-bromo-5-trifluorométhyl pyrrole (Tralopyrile)		Approuvé
4,5-dichloro-2- <i>n</i> -octyl-3-(2H)-isothiazolin-3-one (DCOIT ou SeaNine 211)		Approuvé
zinc éthylène bisdithiocarbamate (Zinèbe)		Approuvé
4-[1-(2,3-diméthylphényl)éthyl]-3H-imidazole (Médétomidine)		Approuvé
<i>N</i> -[dichloro(fluoro)méthyl]sulfanyl- <i>N</i> -(diméthylsulfamoyl)-4-méthylaniline (Tolyfluamide)		Approuvé
Cuivre	Cu	Approuvé
Thiocyanate de cuivre		Approuvé
Oxyde de dicuivre	Cu ₂ O	Approuvé
<i>N</i> -dichlorofluorométhylthio- <i>N'</i> , <i>N'</i> -diméthyl- <i>N</i> -phénylsulfamide (Dichlofluamide)		Approuvé

³⁸ http://atvbv.fr/sites/default/files/media/note_biocides.pdf

1,1'-dioxide de bis(2-pyridylthio)cuivre (Pyrithione de cuivre)		Approuvé
1,1'-dioxide de bis(2-pyridylthio)zinc (Pyrithione de zinc)		À l'étude

Tableau 1. 1 : Liste des substances actives autorisées et en cours d'évaluation dans les peintures antifouling.³⁹

Face aux problèmes environnementaux causés par l'utilisation des biocides et leur réglementation qui est devenue stricte, la recherche se focalise de plus en plus sur le développement de revêtements anti-adhésifs, sans relargage de substances toxiques dans l'environnement marin.

2.3 Les revêtements à faible énergie de surface FRC (« Fouling Release Coating »)

Les revêtements FR représentent une alternative écologique sans biocide. Ils ont vu le jour au début des années 1970 mais ils n'ont pas connu le même succès que les peintures autopolissantes développées à la même période.

Les performances des revêtements FR reposent sur les propriétés anti-adhésives et sur un comportement autonettoyant. L'objectif des FRC est donc de fournir une surface lisse (rugosité inférieure à 2 µm), hydrophobe et de faible énergie, de façon à affaiblir l'accroche de l'organisme marin sur le substrat et à minimiser l'adhésion. Cette interaction de faible énergie entre le substrat et l'organisme marin est détruite par un stress hydrodynamique lors de l'avancement du navire à partir d'une certaine vitesse de navigation (Schéma 1. 12) ou lors d'un simple nettoyage mécanique.

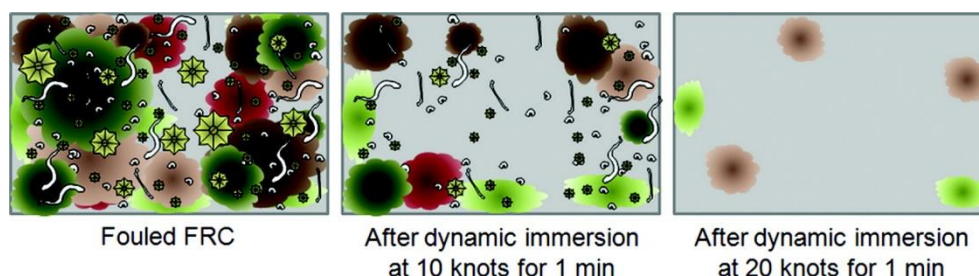


Schéma 1. 12 : Illustration de l'autonettoyage pour des revêtements à faible énergie de surface.⁶

Par exemple, une algue peut être supprimée de la coque du bateau à partir d'une vitesse de 18 nœuds tandis que les diatomées continuent d'adhérer à la surface hydrophobe pour une vitesse supérieure à 30 nœuds. Ce type de revêtement est plus adapté aux navires côtiers et réguliers navigant à une vitesse élevée. Par contre, pendant la période d'inactivité du navire, l'efficacité de ces revêtements FR est fortement réduite.

Le caractère lisse de ces revêtements FR permet de réduire la trainée des navires lors de leur avancement ce qui diminue la consommation de carburant et des émissions de gaz à effet de serre.

Les propriétés des revêtements FR (hydrophobe et faible énergie de surface) dépendent de la rugosité de la surface, du module élastique et de l'épaisseur du revêtement.

³⁹ https://professionnels.ofb.fr/sites/default/files/pdf/documentation/Rapport_Antifouling-environnement2019.pdf

Les FRC sont constitués d'un système duplex, avec une couche de finition FR et une couche de liaison, qui est disposé sur un apprêt anticorrosif à base d'une résine époxy (Schéma 1. 13). La couche de finition est basée sur des élastomères de polydiméthylsiloxane (PDMS) réticulés et contient une huile pour améliorer la nature glissante. La couche de liaison est nécessaire pour favoriser l'adhésion entre la couche non adhésive et l'apprêt en résine époxy.

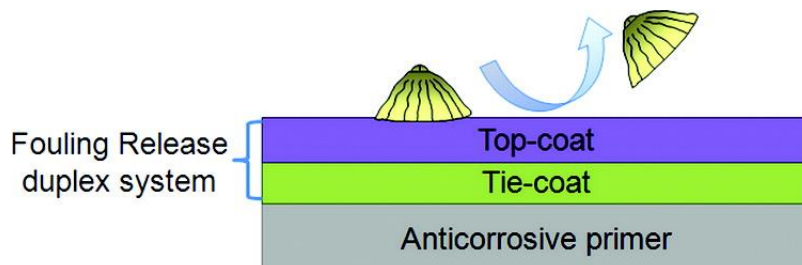


Schéma 1. 13 : Illustration du système de revêtement à faible énergie de surface.⁶

Ainsi, les deux familles de matériaux qui possèdent les propriétés d'un revêtement FR sont les silicones et les fluoropolymères.

2.3.1.1 Les silicones

Les élastomères de silicone⁴⁰, et particulièrement le PDMS, sont plus efficaces que les fluoropolymères pour les applications antifouling en raison de la flexibilité du réseau réticulé, de la faible énergie de surface (23,0 mN/m pour le PDMS), et du faible module élastique (2 MPa pour le PDMS). En effet, une faible énergie de surface décourage l'attachement initial du biofouling tandis qu'un faible module d'élasticité favorise le décrochage des salissures marines via le pelage de la surface. Une épaisseur suffisante permet de minimiser la force nécessaire pour retirer les salissures marines.

Cependant, il est nécessaire d'améliorer la tenue mécanique de ces réseaux silicones pour éviter son endommagement dans le milieu marin. Ainsi, les revêtements commerciaux à base de PDMS (résine de silicone élastomère réticulée, voir Schéma 1. 14) sont renforcés par l'ajout de charges minérales tel que le carbonate de calcium.

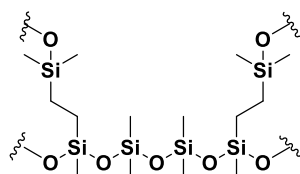


Schéma 1. 14 : Représentation du PDMS réticulé.

2.3.1.2 Les fluoropolymères

Les fluoropolymères (Schéma 1. 15) sont des matériaux vitreux et non-poreux connus pour leur nature non polaire, leur profil hydrophobe et leur énergie de surface très faible (de l'ordre de 19 mJ/m²). Ils sont appliqués en couche mince (75 µm) pour former des revêtements anti-adhésifs.

⁴⁰ (a) Brady, R.; Singer, I., *Biofouling* **2000**, *15*, 73-81. (b) Brady, R. F., *Progress in Organic Coatings* **2001**, *43*, 188-192.

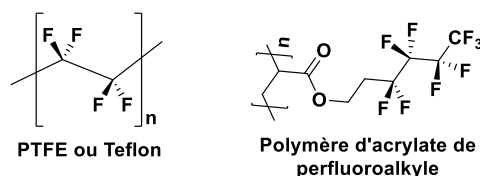


Schéma 1. 15 : Représentation de deux fluoropolymères classiques.

L'organisation du fluoropolymère sur la surface permet de limiter la liaison initiale entre les organismes marins et le substrat. En effet, la réticulation du polymère et l'orientation des perfluoroalkyles sur la surface de façon à exposer les groupements CF_3 permettent de minimiser la diffusion ou le réarrangement moléculaire qui pourrait créer un microvide par lequel l'organisme marin s'infiltrerait.⁴¹

Le poly (tétrafluoroéthylène) (PTFE ou Teflon) a été le premier fluoropolymère à être utilisé en tant que revêtement FR pour la protection des coques de bateaux. Le PTFE était considéré comme un bon candidat grâce à sa faible énergie de surface (18,6 mN/m). Cependant, il a montré certaines défaillances face aux organismes marins. Ces revêtements peuvent être endommagés par la coque des balanes qui rendent la surface rugueuse. Or, lorsqu'une surface est rugueuse et poreuse, les bio-adhésifs peuvent s'attacher même en l'absence de compatibilité chimique en pénétrant les cavités de la surface et en s'y bloquant. Les balanes adhèrent fortement aux surfaces fluorées, dû à la polarité localisée de la liaison C-F créée qui attire les groupements polaires du ciment des balanes. Ce mécanisme de verrouillage peut être évité en créant des surfaces lisses et impénétrables.⁶

Finalement, les revêtements FR ont une durée de vie de 3 ans environ mais ils sont très onéreux, présentent une mauvaise adhésion sur la coque et ont des propriétés mécaniques faibles. Le mode d'action des FRC peut être élargi à de faibles vitesses de navigation ou pendant la période d'inactivité du navire en utilisant des copolymères amphiphiles contenant des unités hydrophobes telles que le PDMS ou des fluoropolymères avec des unités hydrophiles comme le poly (éthylène glycol) (PEG).⁴²

Aujourd'hui, au niveau du marché mondial des systèmes antifouling, il n'existe pas de revêtements alternatifs dont le mode d'action soit efficace et respectueux de l'environnement.

3 Développement de revêtement antifouling à l'échelle du laboratoire

3.1 Traitement chimique : immobilisation d'un polymère hydrophile ou zwitterionique sur un substrat

La fonctionnalisation de surface par du poly (éthylène glycol) (PEG) (Schéma 1. 16) a été largement rapportée dans la littérature pour des applications biomédicales. Le PEG est connu pour son côté bon marché, sa non-toxicité, son électroneutralité, et sa nature hydrophile qui a un rôle important dans les performances antifouling. Le PEG est principalement utilisé pour réduire l'adsorption non spécifique des protéines sur la

⁴¹ (a) Yebra, D. M.; Kiil, S.; Dam-Johansen, K., *Progress in Organic Coatings* **2004**, *50*, 75-104. (b) Brady, R. F.; Bonafede, S. J.; Schmidt, D. L., *Surface Coatings International* **1999**, *82*, 582-585.

⁴² (a) Bressy, C.; Lejars, M., *Journal of Ocean Technology* **2014**, *9*, 19-28. (b) Galli, G.; Martinelli, E., *Macromolecular Rapid Communications* **2017**, *38*, 1600704.

surface. Cependant, en présence d'oxygène, le PEG devient instable et s'oxyde pour donner des aldéhydes et des éthers conduisant à la décomposition du revêtement.⁴³

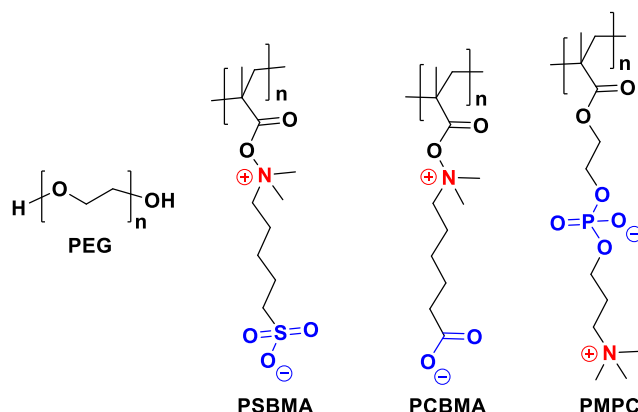


Schéma 1. 16 : Représentation du poly (éthylène glycol) (PEG), du poly (méthacrylate) de sulfobetaine (PSBMA), du poly (méthacrylate) de carboxybétaine (PCBMA) et du poly (2-méthacryloyloxyéthyl phosphorylcholine) (PMPC).

Quant aux polymères zwitterioniques, ils ont démontré d'excellentes activités antifouling contre les protéines, les bactéries et les cellules. Ils sont stables chimiquement contrairement au PEG et sont composés de groupements anioniques et cationiques tels que la carboxybétaine (CB), la sulfobetaine (SB) et la phosphorylcholine (PC) (Schéma 1. 16).

Les propriétés antifouling des matériaux hydrophiles (PEG) et zwitterioniques sont dues à la formation d'une couche d'hydratation sur la surface. Les molécules d'eau se lient au polymère et forment une barrière physique et énergétique qui participe au mécanisme anti-adhésion non spécifique des protéines sur le substrat. L'interaction eau-polymère s'effectue par la formation de liaisons hydrogène pour les polymères hydrophiles alors qu'elle se réalise par solvatation des ions pour les polymères zwitterioniques.

Lorsqu'une protéine s'approche de la surface, elle provoque la compression des chaînes du polymère, ce qui mène à la formation de forces élastiques répulsives. De plus, lors de la compression, les molécules d'eau associées aux chaînes du polymère se libèrent de la surface, ce qui crée une contrainte osmotique. Ainsi, l'ensemble de ces deux contraintes défavorables, élastiques et osmotiques, conduit à la formation d'une force de répulsion dont la magnitude dépend de la densité de surface et de la longueur des chaînes du polymère (Schéma 1. 17). En effet, une longueur de chaînes plus importante et une densité de greffage plus élevée conduiront à de meilleures performances antifouling.⁴⁴

Thermodynamiquement, une déshydratation de la chaîne de polymère provoque une augmentation de l'enthalpie tandis que la compression entraîne une diminution de l'entropie pour le polymère.

⁴³ Selim, M. S.; Shenashen, M. A.; El-Safty, S. A.; Higazy, S. A.; Selim, M. M.; Isago, H.; Elmarakbi, A., *Progress in Materials Science* **2017**, *87*, 1-32.

⁴⁴ (a) Banerjee, I.; Pangule, R. C.; Kane, R. S., *Advanced Materials* **2011**, *23*, 690-718. (b) Jeon, S. I.; Lee, J. H.; Andrade, J. D.; De Gennes, P. G., *Journal of Colloid and Interface Science* **1991**, *142*, 149-158.

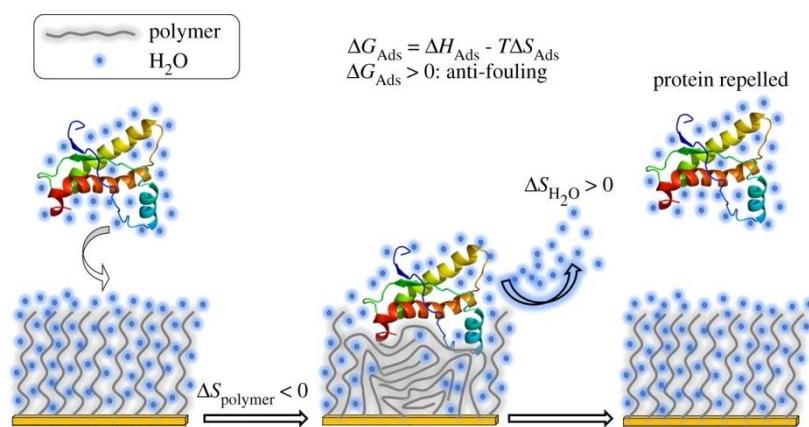


Schéma 1. 17 : Mécanisme de répulsion des protéines pour un polymère hydrophile greffé sur un substrat.⁴⁵

D'après le scientifique Whiteside⁴⁶, un matériau capable de résister à l'adsorption des protéines doit présenter un groupement fonctionnel polaire, être électriquement neutre et posséder uniquement un accepteur de liaison hydrogène.

Les liaisons hydrogène entre les molécules d'eau et les groupements fonctionnels d'une molécule fixée sur une surface perturbent la structure tridimensionnelle de l'eau et augmentent l'énergie libre du système, ce qui peut causer l'adsorption des protéines. Ces interactions hydrogène sont gouvernées par la présence des groupements électron-donneur et électron-accepteur. Certains rapports indiquent que les liaisons hydrogène entre les molécules d'eau et un polymère hydrosoluble sont de nature électrostatique, ce qui va altérer le réseau tridimensionnel de l'eau. Au contraire, des polymères neutres comme le PEG et les zwitterioniques ne causent aucune perturbation de l'eau environnante.⁴⁷

3.2 Traitement physique : application d'un potentiel ou courant électrique sur la surface

Depuis l'interdiction du TBT, différents types de radiations ont montré des propriétés antifouling comme par exemple, l'onde acoustique qui fait vibrer un matériau piézoélectrique capable de se déformer mécaniquement perturbant ainsi l'adhésion des organismes marins, l'application d'un champ magnétique qui a un effet temporaire sur les micro-organismes, l'utilisation des rayons ultraviolets pour la stérilisation de l'eau de mer dans les systèmes de canalisations ou un revêtement radio-actif avec le thallium 204 qui est très efficace mais uniquement à des niveaux qui ne sont pas sains pour l'humain. Néanmoins, la méthode la plus courante est l'utilisation du courant électrique qui a commencé à être étudié à partir de la fin du 19^{ème} siècle. Effectivement, de nombreuses techniques ont été développées en électrochimie pour lutter contre la formation du biofilm qui est difficile à éradiquer une fois qu'il est développé sur la surface. De plus, agir contre les étapes initiales de la formation du biofilm permettrait de réduire l'adhésion des micro et macro-organismes.

⁴⁵ Halvey, A. K.; Macdonald, B.; Dhyani, A.; Tuteja, A., *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* **2019**, 377, 20180266.

⁴⁶ (a) Deng, L.; Mrksich, M.; Whitesides, G. M., *Journal of the American Chemical Society* **1996**, 118, 5136-5137. (b) Chapman, R. G.; Ostuni, E.; Takayama, S.; Holmlin, R. E.; Yan, L.; Whitesides, G. M., *Journal of the American Chemical Society* **2000**, 122, 8303-8304.

⁴⁷ (a) Martwiset, S.; Koh, A. E.; Chen, W., *Langmuir* **2006**, 22, 8192-8196. (b) Kitano, H.; Imai, M.; Mori, T.; Gemmei-Ide, M.; Yokoyama, Y.; Ishihara, K., *Langmuir* **2003**, 19, 10260-10266.

Ainsi, l'une des stratégies est de placer une électrode au voisinage du matériau à protéger et d'appliquer un potentiel électrique (polarisation anodique) afin d'oxyder les anions halogénures (Cl^- et Br^-) présents dans l'eau pour former les molécules biocides comme l'acide hypobromeux (HBrO) ou l'acide hypochloreux (HClO). D'autre part, une polarisation cathodique conduit à la réduction du dioxygène pour donner le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).⁴⁸ Certains de ces systèmes, et particulièrement ceux impliquant des hautes tensions, perdent leur efficacité en raison de la chute de tension électrique sur la surface, de la pollution locale par la formation d'organochlorés et du phénomène de corrosion des métaux qui peut être évité en utilisant une anode sacrificielle pour la protection cathodique.

Récemment, il a été démontré que les bulles d'hydrogène peuvent empêcher la colonisation bactérienne d'une surface humide. Par exemple, la polarisation d'un substrat en acier inoxydable à $-1,5 \text{ V}$ (vs Ag/AgCl) a permis la réduction de l'eau entraînant la formation de bulles d'hydrogène capable d'éliminer le biofilm bactérien en quelques secondes.⁴⁹ La couche de bulles d'hydrogène reste à la surface et agit comme une barrière de séparation sèche due à la faible solubilité de l'hydrogène dans l'eau (Schéma 1. 18). De plus, la production d'hydrogène conduit à un environnement aride qui contribue à tuer les bactéries pré-adhérées à la surface en raison du stress hydrique.

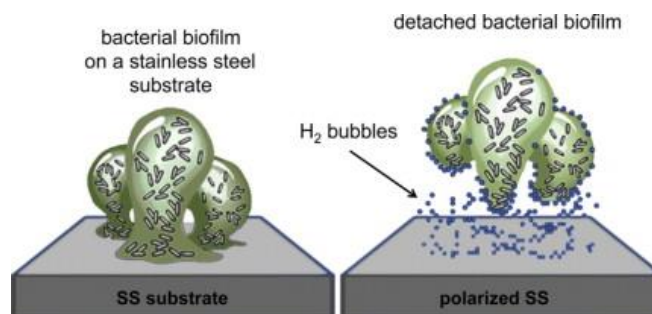


Schéma 1. 18 : Illustration schématique de la suppression du biofilm par la formation d'hydrogène.⁴⁹

De son côté, Matsunaga a développé une méthode de stérilisation électrochimique basée sur un transfert électronique entre l'électrode et les cellules bactériennes. Cette procédure repose sur l'oxydation électrochimique du coenzyme A (Schéma 1. 19) présent dans le périplasma de la bactérie pour donner le dimère. Cette oxydation décline l'activité respiratoire de la cellule car le coenzyme A est impliqué dans le cycle de Krebs et l'oxydation des acides gras. Ainsi, la perte de l'activité respiratoire provoque la mort de la cellule microbienne. Cette méthode a l'avantage de ne pas produire de substances toxiques comme le chlore ou le peroxyde d'hydrogène et ne change pas le pH. Ainsi, lors de l'une de ses premières expériences, Matsunaga a montré que l'activité respiratoire des micro-organismes *Saccharomyces cerevisiae* a diminué de 75 % en appliquant un potentiel électrique constant égal à $+0,74 \text{ V}$ (vs ECS) sur l'électrode de graphite pendant 7 min.⁵⁰ Il a d'ailleurs poursuivi son étude en utilisant d'autres types de substrats comme l'électrode en carbone et en caoutchouc de chloroprène⁵¹ employée pour les surfaces internes des tuyaux de refroidissement ou une électrode de peinture conductrice⁵² (mélange d'une résine polyuréthane avec du graphite et du carbone déposé sur une plaque de nylon) utilisée pour lutter contre l'encrassement biologique

⁴⁸ Debiemme-Chouvy, C.; Cachet, H., *Current Opinion in Electrochemistry* **2018**, *11*, 48-54.

⁴⁹ Dargahi, M.; Hosseinidoust, Z.; Tufenkji, N.; Omanovic, S., *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2014**, *117*, 152-157.

⁵⁰ Matsunaga, T.; Namba, Y.; Nakajima, T., *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* **1984**, *13*, 393-400.

⁵¹ Nakasono, S.; Burgess, J. G.; Takahashi, K.; Koike, M.; Murayama, C.; Nakamura, S.; Matsunaga, T., *Applied and Environmental Microbiology* **1993**, *59*, 3757-3762.

⁵² Matsunaga, T.; Nakayama, T.; Wake, H.; Takahashi, M.; Okochi, M.; Nakamura, N., *Biotechnology and Bioengineering* **1998**, *59*, 374-378.

des filets de pêche ou encore une électrode constituée de graphite et de caoutchouc de silicone⁵³ qui peut être appliquée sur des surfaces larges comme la coque des bateaux.

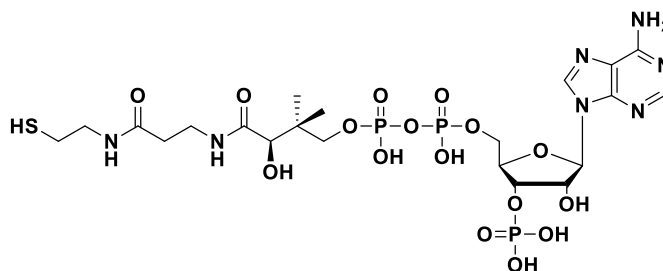


Schéma 1. 19 : Structure du coenzyme A.

Lorsqu'un champ électrique est appliqué sur la cellule, le courant provoque une accumulation de charges électriques dans la membrane cellulaire, ce qui crée une tension aux bornes de la membrane. Si la tension dépasse la valeur critique, la structure de la membrane évolue vers la formation de pores et l'augmentation de la perméabilité. Ce processus est connu sous le nom d'électroporation. Au contraire, si la tension n'est pas excessive et que la durée du pulse est courte, alors la perméabilité de la membrane augmente mais elle peut être réversible. Dans ce cas, la cellule reste viable.⁵⁴

La polarisation électrochimique d'un métal peut influencer l'adhésion des bactéries. Par exemple, la polarisation cathodique du cuivre favorise l'adhésion alors qu'une polarisation anodique du cuivre la réduit. Le platine est moins efficace que le cuivre car il nécessite des potentiels plus élevés pour produire le même effet. De plus, les variations du pH à l'interface métal-eau de mer peuvent influencer l'adhésion des bactéries sur la surface polarisée. La charge à la surface de la bactérie dépend du pH qui détermine à la fois le degré de protonation des groupements ionogènes associés à la paroi cellulaire ainsi que l'interaction de la bactérie avec la surface.⁵⁵

La lyse de l'érythrocyte a été réalisée sur une électrode d'oxyde d'indium (In_2O_3) modifiée par un film de polypyrrole via un balayage de potentiel électrique de -0,6 V à +0,4 V (vs Ag/AgCl) (Schéma 1. 20). Lorsque le potentiel est égal à -0,6 V (vs Ag/AgCl), les protons sont adsorbés sur la surface de l'électrode tandis que la solution avoisinant le polypyrrole et l'érythrocyte devient basique dû aux ions hydroxyles restants. Puis, à des potentiels situés entre -0,4 V et +0,4 V (vs Ag/AgCl), les anions Cl^- de l'électrolyte s'introduisent dans le film du polypyrrole oxydé afin d'équilibrer la charge nette. Enfin, pour des potentiels supérieurs à +0,4 V (vs Ag/AgCl), l'oxydation du polypyrrole se poursuit, puis les ions hydroxyles finissent par s'introduire dans le film chargé positivement en laissant les protons au contact des érythrocytes adsorbés sur le film, induisant un changement brutal du pH à l'état acide. Ainsi, la rupture de la membrane de l'érythrocyte est due à une variation dynamique du pH au voisinage de l'électrode In_2O_3 revêtue de polypyrrole. Par contre, la lyse de l'érythrocyte sur une électrode non modifiée qui est soumise à un balayage de potentiel de -0,6 V à +1,4 V (vs Ag/AgCl) est attribuée à l'électrolyse de l'eau qui produit le dioxygène entraînant une diminution drastique du pH.⁵⁶

⁵³ Nakasono, S.; Nakamura, N.; Sode, K.; Matsunaga, T., *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* **1992**, *27*, 191-198.

⁵⁴ Deng, J.; Schoenbach, K. H.; Buescher, E. S.; Hair, P. S.; Fox, P. M.; Beebe, S. J., *Biophysical Journal* **2003**, *84*, 2709-2714.

⁵⁵ Gordon, A. S.; Gerchakov, S. M.; Udey, L. R., *Canadian Journal of Microbiology* **1981**, *27*, 698-703.

⁵⁶ Shinohara, H.; Kojima, J.; Yaoita, M.; Aizawa, M., *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* **1989**, *22*, 23-35.

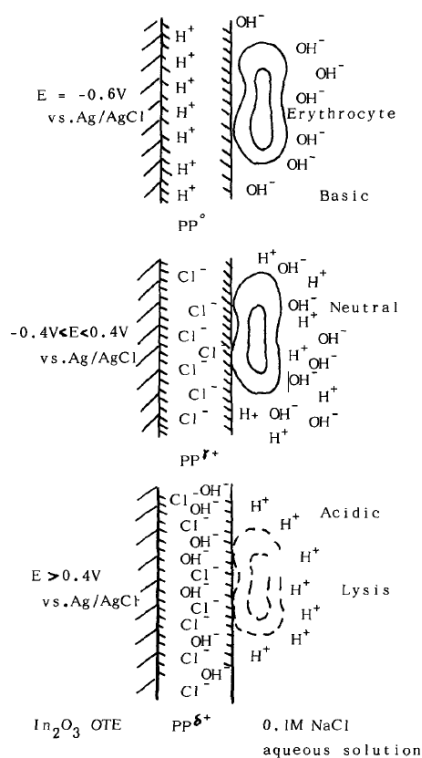


Schéma 1. 20 : Illustration schématique de la variation du pH et de la lyse de l'érythrocyte sur une électrode In_2O_3 recouverte de polypyrrole.⁵⁶

Une électrode conductrice à base d'oxyde d'indium-étain (ITO) recouvrant une surface de verre a été utilisée pour évaluer le rôle spécifique des courants électriques dans le détachement et l'inactivation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. Tout d'abord, lorsqu'un courant est appliqué sur une surface conductrice, l'adhésion bactérienne est gouvernée par la force électrostatique, la force électrophorétique et la force électro-osmotique. L'application d'un courant cathodique permet le détachement des bactéries par des répulsions électrostatiques entre la cathode et la surface de la bactérie chargées négativement. Cependant, les bactéries restent toujours viables et peuvent de nouveau s'accumuler sur la surface, ce qui ne résout pas le problème de l'adhésion bactérienne. Ensuite, lors de l'application d'un courant anodique, la bactérie présente sur la surface de l'électrode devient inactive avec le temps et a tendance à rester sur le substrat. Dans ce cas, ces bactéries inactives peuvent devenir un germe pour l'adhésion bactérienne. Cependant, le courant anodique génère un mouvement des bactéries, ce qui affaiblit l'énergie de liaison entre le substrat et les micro-organismes. Or, si le mouvement bactérien est contrôlé par cisaillement, il est possible d'obtenir un détachement des bactéries à ce courant. Ainsi, la stratégie optimale pour lutter efficacement contre l'adhésion bactérienne est d'appliquer un courant alternatif qui prendrait les avantages des courants cathodiques et anodiques en surmontant leurs limitations.⁵⁷

La volonté des scientifiques à vouloir se tourner vers des alternatives encore plus écologiques a permis de développer une nouvelle discipline qui est le biomimétisme ou bio-inspiration. En effet, les chercheurs s'inspirent des mécanismes de défense de certains organismes marins afin de trouver un revêtement naturel de faible toxicité avec un large spectre d'action et facile à produire.

⁵⁷ Hong, S. H.; Jeong, J.; Shim, S.; Kang, H.; Kwon, S.; Ahn, K. H.; Yoon, J., *Biotechnology and Bioengineering* **2008**, *100*, 379-386.

4 La bio-inspiration en plein essor

4.1 Surfaces micro- ou nano-texturées⁵⁸

Le self-cleaning ou l'autonettoyage est l'habilité qu'ont certains substrats superhydrophobes à rester propres grâce aux gouttelettes d'eau qui roulent sur la surface en captant les particules de contaminations. Un exemple typique de la nature qui possède ses propriétés est la feuille de lotus.

L'épiderme de la feuille de lotus est constitué de papilles à l'échelle micrométrique sur lesquelles repose de la cire épicuticulaire à l'échelle nanométrique. La cire fournit une surface de faible énergie car elle est hydrophobe tandis que l'espacement des papilles permet d'emprisonner une colonne d'air sur laquelle repose en grande partie la goutte d'eau (Figure 1. 3). Ce phénomène est appelé l'effet Fakir. De plus, la tension superficielle tend à rétrécir la surface des gouttelettes d'eau afin de minimiser le contact jusqu'à atteindre une forme sphérique. Ainsi, la microrugosité doublée d'une nanorugosité de nature hydrophobe donne une surface superhydrophobe de la feuille de lotus qui est définie par un angle de contact à l'eau supérieur à 150 °.

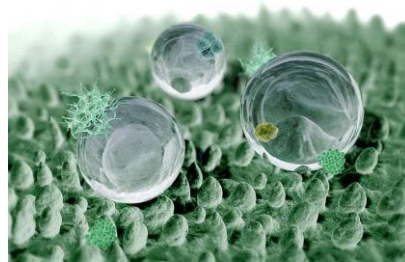


Figure 1. 3 : Image générée par un ordinateur présentant des gouttelettes d'eau qui reposent sur les micro- et nano-textures de la feuille de lotus.

En s'inspirant de la surface superhydrophile des plantes carnivores du genre *Nepenthes*, une équipe de recherche a créé un revêtement nano-ridé extrêmement glissant qui a révélé des qualités antifouling indéniables.⁵⁹ L'objectif est d'emprisonner une fine couche de liquide dans des minuscules structures pour développer une surface glissante, qui déstabilise l'accroche des organismes (Schéma 1. 21).

⁵⁸ (a) Bunet, R., In *L'agriculture durable. Tome 3, Environnement, nutrition et santé*, 2020, 293-312 (b) Carve, M.; Scardino, A.; Shimeta, J., *Biofouling* 2019, 35, 597-617.

⁵⁹ Epstein, A.; Wong, T. S.; Belisle, R.; Boggs, E.; Aizenberg, J., *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2012, 109, 13182-7.

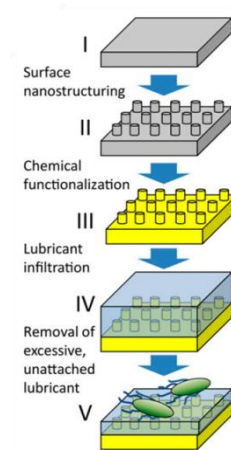


Schéma 1. 21 : Représentation schématique d'un substrat en Téflon poreux infusé dans des lubrifiants perfluorés (SLIPS : Slippery Liquid-Infused Porous Surfaces). Surface glissante contenant un liquide non-miscible aux bactéries.⁵⁹

Un autre exemple dans le milieu marin est la peau de requin qui montre une surface corporelle totalement dépourvue de colonisateurs. Elle est constituée d'un alignement ordonné de petits denticules cutanés (ou écailles placoïdes), ce qui donne cet aspect rugueux à la peau. Ces écailles sont orientées vers l'arrière du requin pour l'hydrodynamisme et présentent à leur surface des rainures horizontales (Figure 1. 4). Les denticules créent des micro-turbulences ou vortex pour attirer l'eau dans les rainures dans lesquelles l'écoulement est ralenti et devient laminaire ce qui réduit les forces de frottements lors de l'avancée du requin. Ce phénomène est appelé l'effet Riblet. De plus, les écailles placoïdes sont censées empêcher l'adhésion des micro- et macro-organismes grâce à cette microtexturation faite de creux et de bosses.

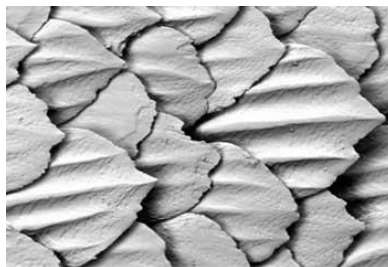


Figure 1. 4 : Image représentant les écailles placoïdes de la peau du requin.

En 2006, une équipe de recherche a développé un revêtement qui mime la texture de la peau du requin. Celui-ci a été breveté sous le nom de Sharklet AF et il a démontré des capacités antifouling envers les micro-organismes.⁶⁰

4.2 Les substances naturelles contre le biofouling

4.2.1 Présentation de diverses substances naturelles ayant des propriétés antifouling

La recherche s'inspire également de certaines espèces marines sessiles qui ont développé un système de défense chimique en excréant des molécules capables de dissuader l'accumulation d'épibiontes sur leur

⁶⁰ Carman, M.; Estes, T.; Feinberg, A.; Schumacher, J.; Wilkerson, W.; Wilson, L.; Callow, M.; Callow, J.; Brennan, A., *Biofouling* **2006**, *22*, 11-21.

surface. L'utilisation de ces substances naturelles permettrait de remplacer les biocides conventionnels afin d'obtenir des peintures antisalissures plus écologiques.

Ces substances naturelles peuvent intervenir dans différents types de mécanismes antifouling.⁶¹ Certaines d'entre elles peuvent modifier l'expression de la protéine tandis que d'autres peuvent bloquer le site de fixation des bactéries pour éviter la formation du biofilm ou encore empêcher la production et la libération des composés adhésifs. De plus, elles peuvent également bloquer la neurotransmission ou induire un stress oxydatif sur les biofilms marins.

Ces molécules actives appartiennent à différentes familles de composés aux structures variées comme les acides gras, les lipoprotéines, les alcaloïdes, les lactones, les stéroïdes, les terpénoïdes, les anthraquinones ou encore les pyrroles (Schéma 1. 22).⁶² Elles se trouvent principalement dans les algues marines (brunes, vertes et rouges), les invertébrés, les micro-organismes, les champignons ou les éponges marines. Leur spectre d'activité est divers permettant un avenir prometteur quant à leur utilisation dans des peintures antifouling. Cependant, l'approvisionnement de ces substances naturelles pour développer des peintures reste problématique car les structures sont complexes et difficiles à synthétiser à grande échelle. Actuellement, il n'existe pas de peintures antisalissures à base de biocides naturels produits en quantité industrielle.

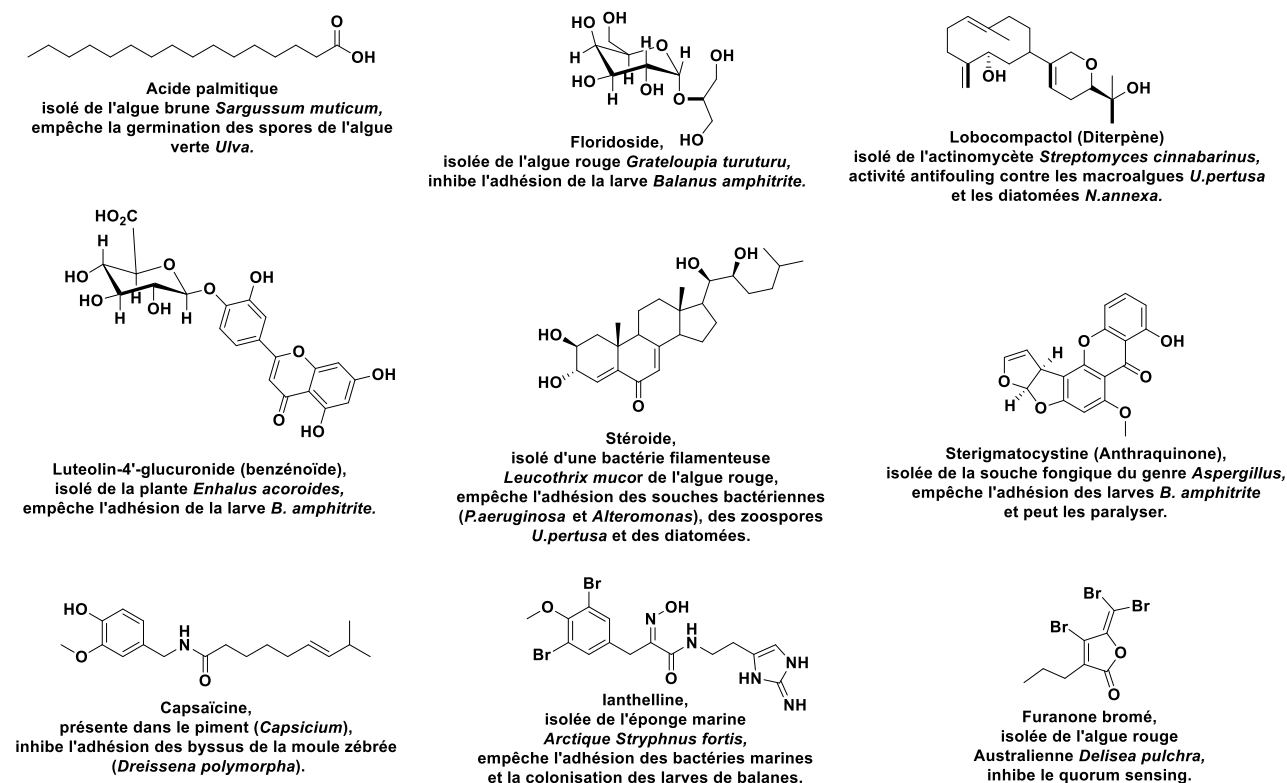


Schéma 1. 22 : Exemples de substances naturelles issues d'organismes marins et présentant des propriétés antifouling.⁶³

⁶¹ Bovio, E.; Fauchon, M.; Toueix, Y.; Mehiri, M.; Varese, G. C.; Hellio, C., *Marine Biotechnology* **2019**, *21*, 743-752.

⁶² Dahms, H.-U.; Dobretsov, S., *Marine Drugs* **2017**, *15*, 265.

⁶³ (a) Wang, K.-L.; Wu, Z.-H.; Wang, Y.; Wang, C.-Y.; Xu, Y., *Marine drugs* **2017**, *15*, 266. (b) Fusetani, N., *Natural product reports* **2010**, *28*, 400-10. (c) Hanssen, K. Ø.; Cervin, G.; Trepos, R.; Petitbois, J.; Haug, T.; Hansen, E.; Andersen, J. H.;

4.2.2 Les enzymes

Les enzymes telles que la protéase, l'amylase, la lignine réductase et la cellulase sont largement utilisées dans la production de carburant, dans l'industrie du papier et la biologie moléculaire. Ainsi, l'idée d'utiliser des enzymes dans les peintures antifouling a émergé dans les années 1980 et le concept a reçu un intérêt grandissant ces dernières années puisque les enzymes sont des protéines omniprésentes dans la nature, biodégradables et dotées de propriétés catalytiques. Elles devraient donc être respectueuses de l'environnement.

Oslén a classé les enzymes en deux catégories selon leur activité microbiocide⁶⁴ (Schéma 1. 23). D'un côté, l'enzyme peut utiliser des réactifs présents dans l'eau de mer ou dans le revêtement antisalissure pour produire un agent antimicrobien par une réaction enzymatique. Et d'un autre côté, l'enzyme peut agir comme un bactéricide en attaquant directement l'organisme ou en dégradant son polymère adhésif.

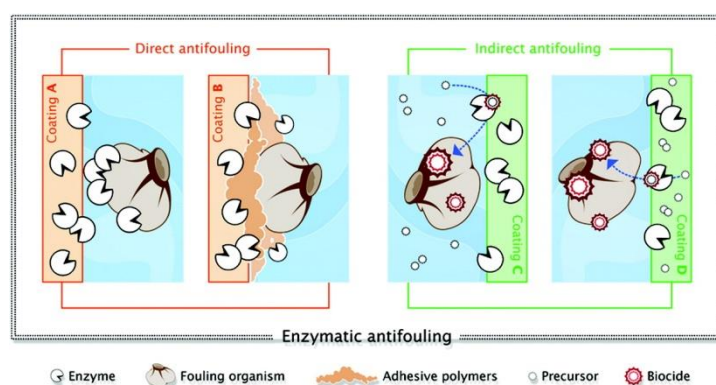


Schéma 1. 23 : Représentation schématique des activités antifouling des enzymes. Dans le revêtement A, l'enzyme agit comme un biocide qui attaque directement le micro-organisme. Dans le revêtement B, l'enzyme est un biocide qui attaque l'adhésif du micro-organisme. Génération enzymatique de biocides à partir de réactifs présents dans l'environnement marin (dans le revêtement C) ou dans le revêtement antisalissure (dans le revêtement D).⁶⁴

D'après Oslén⁶⁵, les systèmes antifouling à base d'enzyme sont définis par quatre conditions :

- Les enzymes doivent conserver leur activité lorsqu'elles sont mélangées aux autres composants du revêtement,
- Elles ne doivent pas détériorer les performances du revêtement,
- Elles doivent avoir un large spectre d'action,
- Et l'activité enzymatique doit être stable dans le revêtement et après l'immersion dans l'eau de mer.

Le système basé sur la dégradation de l'adhésif est le plus employé et il utilise des protéases et des glycosylases capables d'hydrolyser les composés protéiques et polysaccharidiques présents dans le bioadhésif. Par exemple, certaines protéases et carbohydrases ont démontré qu'elles pouvaient empêcher l'installation de larves *Bugula neritina*, des larves *A. amphitrite*, des spores *Ulva linza* et des diatomées *Navicula perminuta*.

Pavia, H.; Hellio, C.; Svenson, J., *Marine Biotechnology* **2014**, *16*, 684-694. (d) Angarano, M.-B.; McMahon, R.; Hawkins, D.; Schetz, J., *Biofouling* **2007**, *23*, 295-305.

⁶⁴ Olsen, S. M.; Pedersen, L. T.; Hermann, M. H.; Kiil, S.; Dam-Johansen, S., In *Advances in Marine Antifouling Coatings and Technologies*, Woodhead Publishing: **2009**, 623-643.

⁶⁵ Olsen, S.; Pedersen, L.; Laursen, M.; Kiil, S.; Dam-Johansen, K., *Biofouling* **2007**, *23*, 369-83.

Enfin, les performances de ces systèmes à base d'enzymes ont été prouvées à court terme en laboratoire mais elles restent à déterminer sur le long terme *in situ*. De plus, l'enregistrement d'une enzyme sera soumis à la même réglementation qu'un biocide conventionnel.

4.2.3 Les glucides

Les glucides sont omniprésents dans la nature : ils peuvent se présenter sous forme de simples molécules ou de structures extrêmement complexes que seule la nature peut produire. D'ailleurs, certains d'entre eux possèdent des propriétés antibiosalissures.

Par exemple, le premier polysaccharide bactérien à posséder une activité antibiofilm a été identifié dans une souche uropathogène *Escherichia coli*. Ces polysaccharides sont généralement capables d'agir sur un large spectre de bactéries et peuvent avoir un rôle dans le principe d'exclusion compétitive. En effet, un polysaccharide peut contrôler l'architecture du biofilm de la souche productrice par un processus d'autorégulation ou bien il peut inhiber la formation du biofilm de la souche concurrente et favoriser le biofilm de la souche productrice.⁶⁶

D'autres polysaccharides issus des algues, des plantes, des animaux peuvent également présenter des propriétés antibiofilm. L'utilisation du funorane, un polysaccharide sulfaté extrait de l'algue marine *Gloiopeltis furcata*, a permis d'empêcher le développement de la plaque dentaire chez les humains lorsqu'il est administré sous forme de chewing-gum.⁶⁷ Certains polysaccharides issus de plantes (gombo⁶⁸, Aloe vera) ou de micro-algues, *Chlorella* et *Spirulina*, sont capables d'inhiber la liaison de la bactérie *Helicobacter pylori* aux cellules gastriques.

En plus d'être des ressources renouvelables, les polysaccharides représentent une alternative prometteuse au poly (éthylène glycol) (PEG) car ils donnent un revêtement inerte et hydrophile capable de se lier étroitement aux molécules d'eau sans développer une activité biocide qui pourrait engendrer l'émergence de la résistance des bactéries. Ainsi, certains glucides ont pu être utilisés à des fins antibiosalissures dans diverses applications.

4.2.3.1 Les polysaccharides en tant qu'agent anti-adhésif⁶⁹

❖ L'acide hyaluronique et l'acide alginique

L'acide hyaluronique est un glycosaminoglycane essentiel à la matrice extracellulaire, synthétisé au niveau de la membrane plasmique des cellules. Ce polysaccharide est constitué d'acide D-glucuronique et de N-acétylglucosamine reliés entre eux par des liaisons β -(1→3) et β -(1→4) (Schéma 1. 24 ; à gauche). Il assure la régulation de la réponse immunitaire de l'angiogénèse, de l'inflammation et de la cicatrisation des tissus.

L'acide alginique est un polysaccharide extrait de la paroi cellulaire des algues brunes *Phaeophyceae*, constitué d'acide α -D-mannuronique et d'acide β -L-guluronique en proportions variables, reliés entre eux par une liaison β -(1→4) (Schéma 1. 24 ; à droite).

⁶⁶ Bernal, P.; Llamas, M. A., *Microb Biotechnol* **2012**, *5*, 670-673.

⁶⁷ Sato, S.; Yoshinuma, N.; Ito, K.; Tokumoto, T.; Takiguchi, T.; Suzuki, Y.; Murai, S., *Journal of oral science* **1998**, *40*, 115-117.

⁶⁸ Lengsfeld, C.; Titgemeyer, F.; Faller, G.; Hensel, A., *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2004**, *52*, 1495-1503.

⁶⁹ Junter, G.-A.; Thébault, P.; Lebrun, L., *Acta Biomaterialia* **2016**, *30*, 13-25.

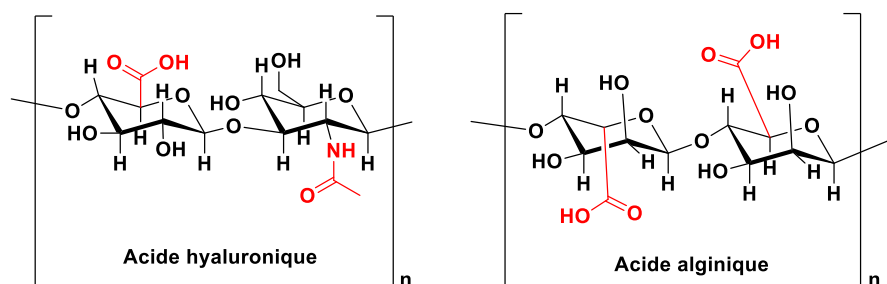


Schéma 1. 24 : Représentation de l'acide hyaluronique et de l'acide alginique.

Morra et Cassineli ont montré que l'association de polysaccharides hautement hydratés, comme l'acide hyaluronique et l'acide alginique, était capable d'empêcher l'adhésion de cellules de mammifères mais aussi de réduire l'adhésion bactérienne *in vitro* et dans plusieurs applications *in vivo*.⁷⁰ Cependant, lorsque ce type de revêtement est utilisé dans l'eau de mer, l'adhésion des protéines et des cellules est facilitée, conduisant à la colonisation des zoospores et des cyprides.⁷¹ Ce changement de comportement est dû à la complexation des acides carboxyliques avec les cations bivalents (Ca^{2+}), connus dans le processus de gélification des alginate. Cette complexation modifie la structure du film et réduit la capacité du polysaccharide à se lier aux molécules d'eau. Ainsi, ces polysaccharides sont généralement post-modifiés par des 2,2,2-trifluoroéthylamine (TFEA) afin de bloquer les acides carboxyliques et rendre les surfaces amphiphiles. Le TFEA a eu un impact positif sur la performance du revêtement en réduisant la densité de fixation et en améliorant le décrochage d'une large gamme d'organismes marins (protéines, diatomées, zoospores d'algues...)⁷²

❖ L'héparine

L'héparine standard est un polysaccharide anionique, produit par les cellules mastocytaires de la cavité péritonéale et des poumons, qui est constitué d'un enchainement d'hexasaccharides contenant de l'acide iduronique 2-sulfate, du glucosamine 2,6-disulfate et de l'acide glucuronique non sulfaté.⁷³ Elle est souvent utilisée en tant que revêtement de surface dans les dispositifs biomédicaux pour ses propriétés anticoagulantes et anti-adhésives.

Effectivement, l'héparine agit indirectement en stimulant un anticoagulant physiologique, l'antithrombine. Ainsi, lorsque l'héparine se fixe à l'antithrombine, elle va découpler son pouvoir inhibiteur et enrayer la formation de caillot.⁷⁴

L'équipe de Sung Min Kang a développé un revêtement bioconjugué, à base d'héparine reliée à une unité catéchol par un lien amide, qui a été utilisé pour modifier un substrat d'acier inoxydable (Schéma 1. 25). Ce dérivé d'héparine a démontré qu'il pouvait réduire l'adhésion de deux espèces de diatomées, *Amphora*

⁷⁰ Morra, M.; Cassineli, C., *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* **1999**, *10*, 1107-1124.

⁷¹ Cao, X.; Pettit, M. E.; Conlan, S. L.; Wagner, W.; Ho, A. D.; Clare, A. S.; Callow, J. A.; Callow, M. E.; Grunze, M.; Rosenhahn, A., *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 907-915.

⁷² (a) Jakobi, V.; Schwarze, J.; Finlay, J. A.; Nolte, K. A.; Spöllmann, S.; Becker, H.-W.; Clare, A. S.; Rosenhahn, A., *Biomacromolecules* **2018**, *19*, 402-408. (b) Bauer, S.; Alles, M.; Arpa-Sancet, M. P.; Ralston, E.; Swain, G. W.; Aldred, N.; Clare, A. S.; Finlay, J. A.; Callow, M. E.; Callow, J. A.; Rosenhahn, A., *Biomacromolecules* **2016**, *17*, 897-904. (c) Bauer, S.; Arpa-Sancet, M. P.; Finlay, J. A.; Callow, M. E.; Callow, J. A.; Rosenhahn, A., *Langmuir* **2013**, *29*, 4039-4047.

⁷³ Elalamy, I., *EMC - Hématologie* **2010**, *5*.

⁷⁴ Andersson, J.; Sanchez, J.; Ekdahl, K. N.; Elgue, G.; Nilsson, B.; Larsson, R., *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **2003**, *67A*, 458-466.

coffaeiformis et *Navicula perminuta*, d'environ 75 % comparé à un substrat d'acier inoxydable vierge. Le mécanisme du revêtement bioconjugué est non-élucidé mais les auteurs suspectent la formation d'une couche d'hydratation et de répulsions électrostatiques entre les héparines et les parois cellulaires des diatomées, toutes deux chargées négativement.⁷⁵

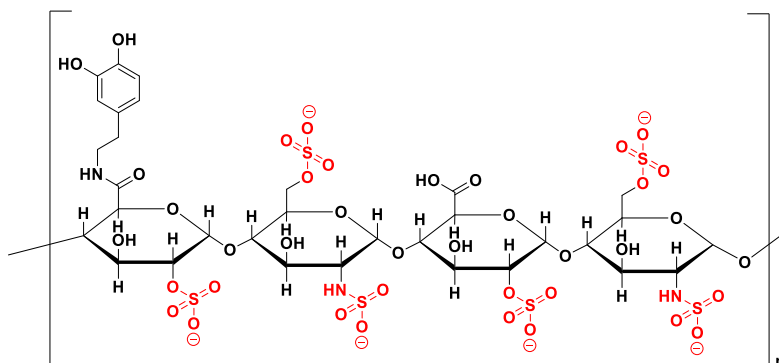


Schéma 1. 25 : Représentation de l'héparine liée à une unité catéchol par un lien amide.

❖ Le dextrane

Le dextrane est un polysaccharide constitué d'un enchainement de α -D-glucose relié entre eux par une liaison α -(1 \rightarrow 6). Cette chaîne principale est ramifiée par une liaison α -(1 \rightarrow 3) avec une unité glucose (Schéma 1. 26). La fabrication industrielle du dextrane se fait en fermentation discontinue à partir de saccharose qui alimente des cultures de *Leuconostoc mesenteroides*.

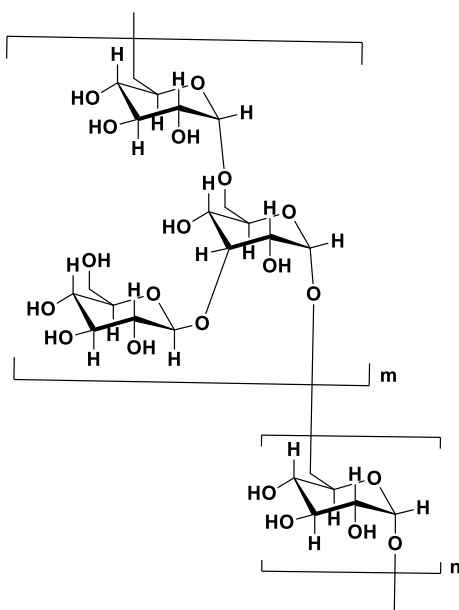


Schéma 1. 26 : Représentation du dextrane.

Les effets du poids moléculaire et de la structure chimique de deux types de dextrans (dextrans simples et dextrans oxydés à différents taux de conversion contenant des unités alcools et aldéhydes) greffés sur une surface de silicium ont été évalués par l'équipe de Wei Chen⁷⁶. Ainsi, l'effet du poids moléculaire sur

⁷⁵ Kim, S.; Ko, S.; Kang, S. M., *Macromolecular Research* **2016**, 24, 645-649.

⁷⁶ Martwiset, S.; Koh, A. E.; Chen, W., *Langmuir* **2006**, 22, 8192-8196.

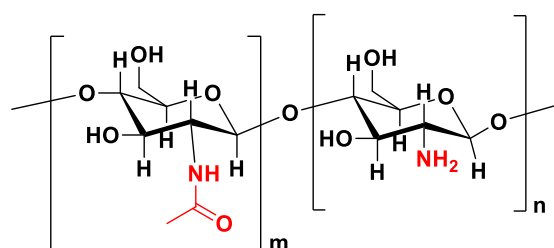
l'adsorption des protéines n'est pas significatif mais des dextrans oxydés à 25 % ont montré une bonne résistance aux protéines et peuvent être des alternatives potentielles au PEG pour les applications antifouling. En fait, l'oxydation du dextrane modifie l'équilibre donneur/accepteur sur la surface et les interactions hydrogène avec l'eau environnante. En effet, les unités alcools -OH sont à la fois des donneurs et des accepteurs de liaisons hydrogène, ce qui favorise les interactions hydrogène intramoléculaires entre les alcools et donc la réduction des chaînes du dextrane. Au contraire, les unités aldéhydes -CHO sont uniquement des accepteurs de liaisons hydrogène, ce qui facilite les interactions hydrogène intermoléculaires avec les molécules d'eau et donc l'allongement des chaînes du dextrane. Cependant, une quantité trop importante d'aldéhydes pourrait rendre la surface plus hydrophobe et engendrerait des réactions entre l'amine de la protéine et l'aldéhyde de la surface.

Des dextrans-phénoxy et des dextrans-phénoxy-poly (oxyde d'éthylène) (PEO) ont été adsorbés sur une surface de particules de latex de polystyrène afin de comparer l'efficacité de la densité de greffage des chaînes PEO à la concentration interfaciale des fonctions d'ancrage phénoxy pour empêcher l'adsorption des protéines. Les auteurs ont démontré que la protéine, l'albumine de sérum bovin (ASB), pouvait déformer et pénétrer la couche épaisse de PEO pour atteindre la surface malgré une densité de greffage élevée. Au contraire, une forte attraction entre les fonctions d'ancrage phénoxy et la surface a permis de limiter l'adsorption non spécifique des protéines.⁷⁷

Le dextrane peut être introduit sur plusieurs types de substrats via la polymérisation de la dopamine. Cette méthode est utilisée pour la préparation de surface antialissure et peut être appliquée à des dispositifs biomédicaux.⁷⁸

4.2.3.2 Le chitosane en tant qu'agent bactéricide

Le chitosane est un copolymère linéaire composé d'unités β -(1 \rightarrow 4)-glucosamine majoritaires et de β -(1 \rightarrow 4)-*N*-acétyl-D-glucosamine (Schéma 1. 27). Ce polysaccharide est issu de la désacétylation en milieu basique à haute température de la chitine, le second biopolymère le plus abondant dans la nature après la cellulose. La chitine se trouve dans les parois cellulaires de champignons et d'algues, dans les exosquelettes d'arthropodes et d'insectes mais aussi, dans les céphalopodes, les mollusques...



Chitosane

Schéma 1. 27 : Représentation du chitosane.

Le chitosane est un biopolymère biodégradable, biocompatible et non-toxique capable d'empêcher la croissance ainsi que la reproduction des bactéries et des champignons. Ainsi, différents modes d'action ont été proposés dans la littérature pour le mécanisme antibactérien du chitosane.

⁷⁷ De Sousa Delgado, A.; Léonard, M.; Dellacherie, E., *Langmuir* **2001**, *17*, 4386-4391.

⁷⁸ Liu, Y.; Chang, C.-P.; Sun, T., *Langmuir* **2014**, *30*, 3118-3126.

L'interaction entre un chitosane chargé positivement via les unités NH_3^+ et la cellule microbienne chargée négativement peut altérer la morphologie de la surface bactérienne en augmentant la perméabilité de la membrane conduisant à une fuite des substances intracellulaires.⁷⁹

Le mécanisme bactéricide dépend de la masse molaire du chitosane.⁸⁰ En effet, les chitosanes de faibles masses molaires pénètrent dans les cellules microbiennes et se lient à l'ADN cellulaire. L'interaction chitosane-ADN affecte la réplication de l'ADN, ce qui bloque la transcription de l'ADN en ARN messager ainsi que la traduction de l'ARN messager en protéine. Au contraire, les macromolécules de chitosane s'attachent à la surface des micro-organismes pour former une couche de polymères capable de bloquer le transport en nutriments. Le chitosane est un agent chélatant qui se lie aux métaux empêchant la production de toxine ainsi que la croissance bactérienne.⁸¹

4.2.3.3 Les monosaccharides, les disaccharides et les trisaccharides

Ces glucides de plus petites tailles sont beaucoup plus solubles en milieu aqueux que les polysaccharides. Un certain nombre de travaux ont pu démontrer les activités antiprotéiques des glucides attachés de façon covalente sur la surface.

L'immobilisation de phénylglycosides (Schéma 1. 28) sur une surface de carbone via la réduction spontanée de sels de diazonium préserve la densité de charge de la surface et augmente le profil hydrophile ainsi que la basicité de Lewis du substrat, ce qui réduit l'adsorption non spécifique des protéines telles que l'albumine de sérum bovin, le lysozyme et le fibrinogène. De plus, la résistance aux protéines sur la surface s'est accrue lors de l'utilisation de disaccharides par rapport aux monosaccharides.⁸²

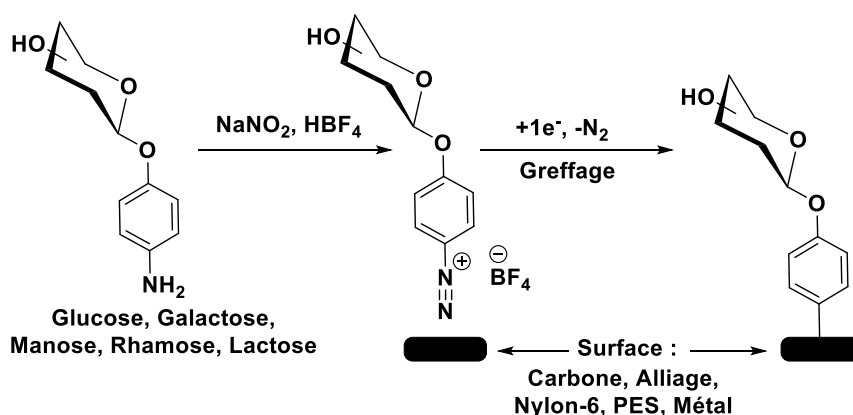


Schéma 1. 28 : Immobilisation de glucides sur une surface par réduction des sels de diazonium.

L'utilisation des sels de diazonium conduit à la formation d'une couche robuste (stabilité chimique et thermique) via la liaison covalente C-C entre le phényle et le carbone du substrat. Cette procédure de greffage spontané peut être effectuée en solution aqueuse (idéale pour la solubilité des glucides) et elle peut

⁷⁹ Li, B.; Shan, C. L.; Ge, M. Y.; Wang, L.; Fang, Y.; Wang, Y. L.; Xie, G.-L.; Sun, G. C., *Asian Journal of Chemistry* **2013**, *25*, 10033-10036.

⁸⁰ Zheng, L.-Y.; Zhu, J.-F., *Carbohydrate Polymers* **2003**, *54*, 527-530.

⁸¹ Rabea, E. I.; Badawy, M. E. T.; Stevens, C. V.; Smagghe, G.; Steurbaut, W., *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 1457-1465.

⁸² Zen, F.; Angione, M. D.; Behan, J. A.; Cullen, R. J.; Duff, T.; Vasconcelos, J. M.; Scanlan, E. M.; Colavita, P. E., *Scientific Reports* **2016**, *6*, 24840.

s'appliquer sur d'autres substrats que le carbone comme le poly (éther sulfone)⁸³ (PES : composant des membranes dans les applications médicales et la purification de l'eau), les métaux⁸⁴, mais aussi l'acier inoxydable et le nylon-6 qui doivent subir un prétraitement oxydatif avant le greffage. Ces fonctionnalisations de surface sont caractérisées par des analyses XPS, des mesures d'angle de contact mais également en évaluant la capacité des saccharides à réaliser des interactions spécifiques avec les lectines pour savoir s'ils conservent les propriétés de reconnaissance biologique des monosaccharides parents.

Le greffage par réduction spontanée des sels de diazonium donne une monocouche qui conserve l'électroperméabilité alors qu'un greffage par voie électrochimique fournit une multicouche qui empêche le transfert de charge entre l'électrode et la sonde redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ (1 mM), démontré par le phénomène de passivation à l'électrode. Ces deux procédures de greffage donnent deux couches organiques capables de minimiser l'adsorption non spécifique de l'albumine de sérum bovin avec la même efficacité malgré leur différence de taux de recouvrement électrochimique.⁸⁵

L'immersion d'un substrat phényl- β -D-lactoside dans l'eau de mer pendant 20 jours a montré une surface recouverte d'organismes marins, indiquant que le revêtement n'affecte pas la formation du biofilm. Cependant, le simple rinçage du substrat a laissé une surface relativement propre signifiant que le biofilm s'est détaché efficacement de la surface grâce au revêtement qui a permis de réduire l'énergie de liaison entre les micro-organismes et le substrat contrairement à un support vierge.⁸⁶

Les propriétés de résistance aux protéines ont également été testées sur des monocouches auto-assemblées (SAM : self-assembled monolayer) d'alcanethiols constitués d'une unité galactose comme groupement terminal. Le galactose a été monométhylé en position 6 et comparé à un galactose non protégé, à un galactose complètement méthylé et à des chaînes où le galactose n'est pas présent. Le composé partiellement méthylé est plus résistant à l'adsorption non spécifique des protéines qu'un composé totalement méthylé ou entièrement hydroxylé. Cependant, le revêtement à base de galactosides monométhylés est moins efficace envers l'adhésion des micro- et macro-organismes tels que les bactéries (*Cobetia marina* et *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*), les larves cypris de balanes (*Balanus amphitrite*) et les zoospores d'algues (*Ulva linza*). Pourtant, le galactoside monométhylé donne une structure aux molécules d'eau qui permet d'obtenir une meilleure activité antifouling qu'un alcanethiol avec des groupements terminaux hydroxyles ou méthyles ayant la même chimie de surface et la même mouillabilité. Ainsi, cette procédure est intéressante mais n'est pas efficace à l'échelle complète de l'encrassement biologique (Schéma 1. 29).⁸⁷

⁸³ Angione, M. D.; Duff, T.; Bell, A. P.; Stamatini, S. N.; Fay, C.; Diamond, D.; Scanlan, E. M.; Colavita, P. E., *ACS Applied Materials & Interfaces* **2015**, *7*, 17238-17246.

⁸⁴ Jayasundara, D. R.; Duff, T.; Angione, M. D.; Bourke, J.; Murphy, D. M.; Scanlan, E. M.; Colavita, P. E., *Chemistry of Materials* **2013**, *25*, 4122-4128.

⁸⁵ Behan, J. A.; Myles, A.; Iannaci, A.; Whelan, É.; Scanlan, E. M.; Colavita, P. E., *Carbon* **2020**, *158*, 519-526.

⁸⁶ Myles, A.; Haberlin, D.; Esteban-Tejeda, L.; Angione, M. D.; Browne, M. P.; Hoque, M. K.; Doyle, T. K.; Scanlan, E. M.; Colavita, P. E., *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* **2018**, *6*, 1141-1151.

⁸⁷ Ederth, T.; Ekblad, T.; Pettitt, M. E.; Conlan, S. L.; Du, C.-X.; Callow, M. E.; Callow, J. A.; Mutton, R.; Clare, A. S.; D'Souza, F.; Donnelly, G.; Bruin, A.; Willemsen, P. R.; Su, X. J.; Wang, S.; Zhao, Q.; Hederos, M.; Konradsson, P.; Liedberg, B., *ACS Applied Materials & Interfaces* **2011**, *3*, 3890-3901.

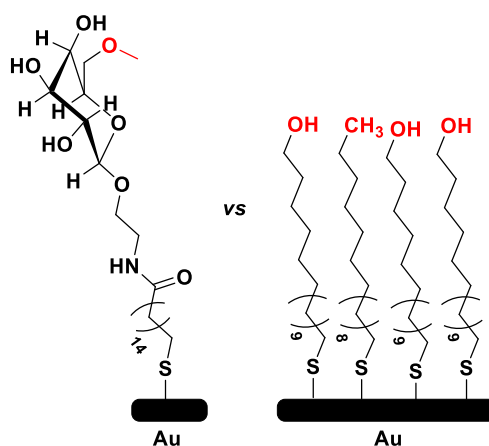


Schéma 1. 29 : SAM à base d'alcanethiol à terminaison galactoside monométhylée contre SAM à base d'alcanethiol avec des groupements terminaux hydroxyles/méthyles.

Il est également possible d'immobiliser des glucides sur des peptides. Ainsi, des auteurs ont évalué les propriétés antiprotéiniques et antibactériennes de polymères peptidomimétiques incorporant des groupements terminaux saccharidiques adsorbés sur une surface de TiO_2 (Schéma 1. 30). Contrairement aux peptoïdes sans saccharides, les glycopeptoïdes forment un plus grand nombre de liaisons hydrogène grâce aux hydroxyles des glucides, entraînant la formation d'une couche d'hydratation qui contribue à la résistance de l'encrassement biologique, aidée par la répulsion stérique des polymères.⁸⁸

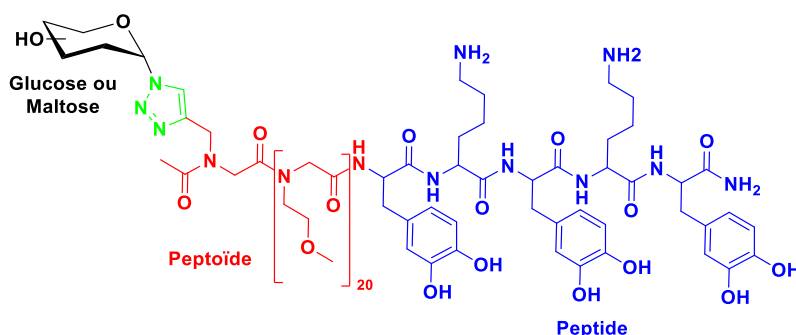


Schéma 1. 30 : Représentation d'un glycopeptoïde ayant des propriétés antiprotéiniques et antibactériennes.

5 Conclusion

Bien que l'encrassement biologique soit un phénomène naturel, il devient problématique pour les structures créées par l'homme et immergées dans l'eau de mer, d'un point de vue économique, environnemental et matériel. Depuis l'Antiquité, les hommes ont développé un large panel de revêtements qui offrent différentes stratégies d'approches pour lutter contre le biofouling et qui sont des compromis entre l'efficacité, le coût et la toxicité. Les recherches en laboratoires évoluent et tendent vers des revêtements plus durables et plus respectueux de l'environnement. La solution serait de s'inspirer de la nature au travers des mécanismes de défense de certains organismes contre les salissures marines ou au travers de molécules biologiques. Cependant, le processus de développement d'un nouveau système antifouling à base de produits naturels

⁸⁸ Ham, H. O.; Park, S. H.; Kurutz, J. W.; Szleifer, I. G.; Messersmith, P. B., *Journal of the American Chemical Society* **2013**, *135*, 13015-13022.

s'étale sur une dizaine d'années avant d'être commercialisé et cela coûte excessivement cher (des millions d'euros) pour les études environnementales, de formulation, de toxicité de la substance active et des expertises en évaluation de risques etc....

Ainsi, l'idée du projet de thèse est de synthétiser un revêtement anti-adhésif en alliant une molécule naturelle comme le glucide afin d'apporter une couche d'hydratation sur la surface et un système conjugué linéaire via lequel un courant électrique est appliqué par un balayage de potentiel afin de faire varier l'état de charge de la surface, ce qui perturbera l'adhésion bactérienne.

CHAPITRE 2

Chapitre 2 : Électrogreffage de glucides simples sur une surface de carbone vitreux

1 Introduction

Dans ce chapitre, nous avons présenté une procédure d'électrogreffage de glucides simples sur une surface de carbone vitreux (CV) dans les milieux organiques et aqueux. L'objectif est d'établir un lien covalent entre la couche organique et le substrat à partir d'un transfert électronique entre le matériau de l'électrode et la molécule en solution possédant une fonction d'ancrage.⁸⁹

Précédemment, Scanlan et Colavita ont immobilisé des glucides simples par réduction de sels de diazonium sur différents substrats pour des applications antifouling.⁹⁰ En s'inspirant de leurs travaux, nous avons développé une technique alternative d'électrogreffage pour les glucides (Schéma 2. 1).

Tout d'abord, notre étude a débuté par la synthèse du 4-aminophényl-β-D-glucopyranoside **5** constitué d'une unité glucose pour les propriétés de surface (hydrophile, polaire) et de l'aniline comme fonction d'ancrage pour réaliser le greffage. Au cours de la première étude électrochimique, nous avons étudié l'électrogreffage du glucose phénylamine **5** sur une surface de carbone vitreux par réduction des sels de diazonium *in situ* en milieu aqueux. Nos travaux ont découlé par la suite sur le greffage du β-D-glucopyranoside **5** par oxydation de l'amine aromatique en milieu organique où certaines étapes du mécanisme de greffage sont discutées à l'aide de la littérature pour une meilleure compréhension. La surface fonctionnalisée par le β-glucoside **5** a été analysée par différentes méthodes de caractérisation de surface telles que la microscopie à force atomique (AFM), la spectroscopie photo-électronique à rayons X (XPS), les mesures d'angle de contact à l'eau et la voltammétrie cyclique. Enfin, nous avons déterminé les conditions expérimentales pour que l'électrogreffage du β-glucoside **5** soit possible en milieu aqueux.

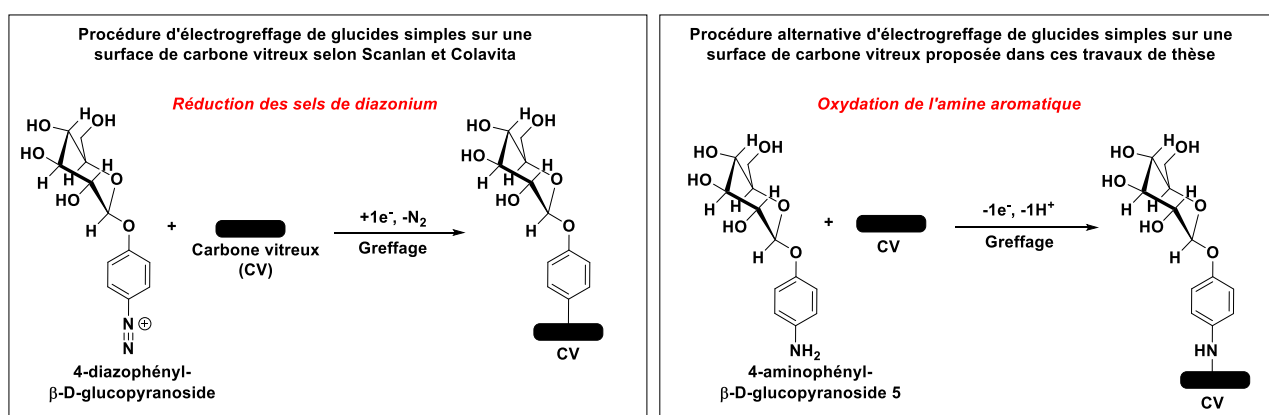


Schéma 2. 1 : Procédures d'électrogreffage de glucides simples sur des surfaces de carbone vitreux par réduction de sels de diazonium ou par oxydation de l'amine aromatique.

⁸⁹ Bélanger, D.; Pinson, J., *Chemical Society Reviews* **2011**, *40*, 3995-4048.

⁹⁰ (a) Angione, M. D.; Duff, T.; Bell, A. P.; Stamatin, S. N.; Fay, C.; Diamond, D.; Scanlan, E. M.; Colavita, P. E., *ACS Applied Materials & Interfaces* **2015**, *7*, 17238-17246. (b) Jayasundara, D. R.; Duff, T.; Angione, M. D.; Bourke, J.; Murphy, D. M.; Scanlan, E. M.; Colavita, P. E., *Chemistry of Materials* **2013**, *25*, 4122-4128.

2 Synthèse du 4-aminophényl-β-D-glucopyranoside 5

Bien que la synthèse du 4-aminophényl-β-D-glucopyranoside **5** soit relativement bien décrite dans la littérature en 4 ou 5 étapes, l'insertion du nitrophénol en position anomérique du glucose s'est révélée être une procédure plutôt complexe (Schéma 2. 2).

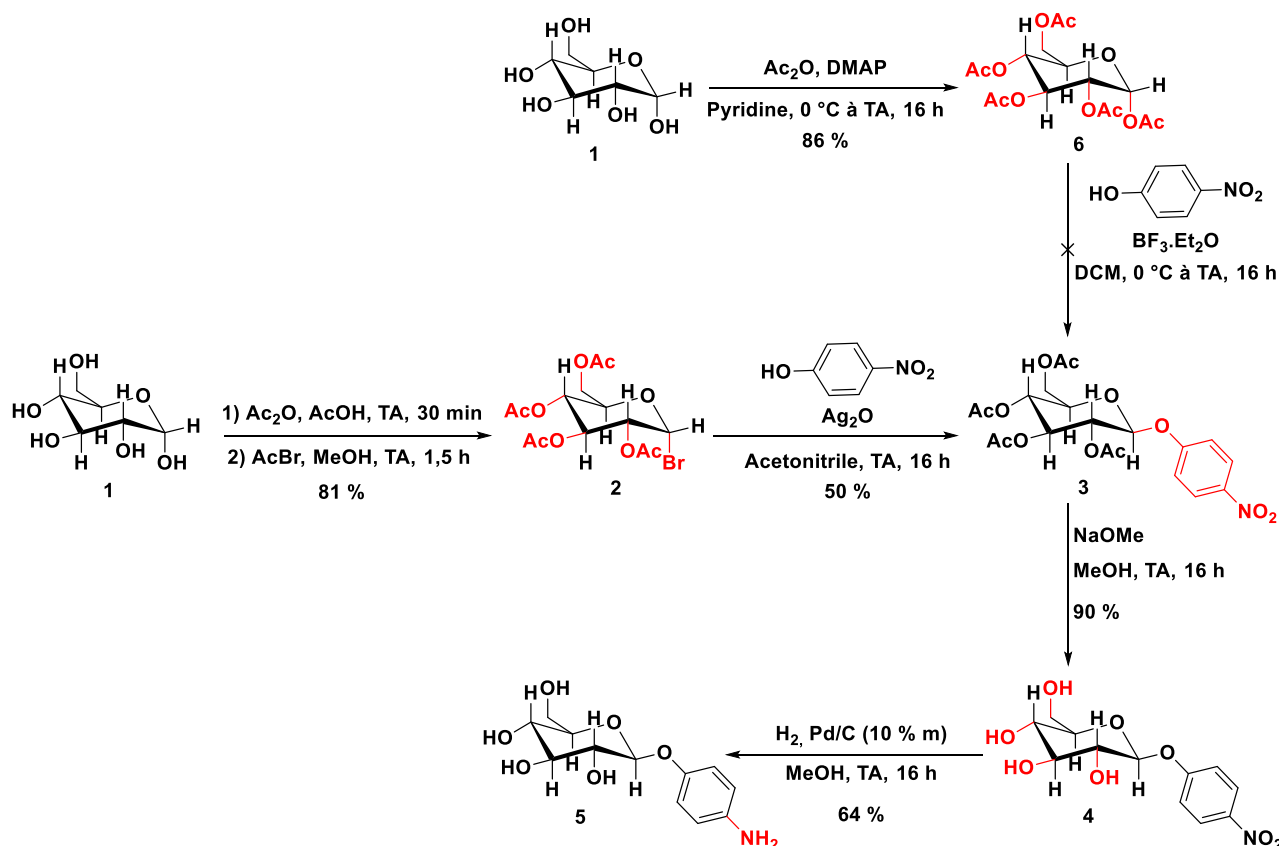


Schéma 2. 2 : Synthèse du 4-aminophényl-β-D-glucopyranoside 5.

Tout d'abord, le D-Glucose est peracétylé à l'aide de l'anhydride acétique dans la pyridine avec un rendement de 86 %. La seconde étape consiste à effectuer une glycosylation afin d'insérer le nitrophénol (le nucléophile ou l'accepteur) en position anomérique du glucose peracétylé (le glycosyle donneur). Ce couplage est réalisable si le groupement partant (la fonction acétyle) de la position anomérique du glucose est activé par un acide de Lewis comme le $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ facilitant le départ du nucléofuge et conduisant à la formation d'un ion oxocarbenium. L'assistance d'un groupe participant en position 2 du glucose comme la fonction acétyle permet la formation d'un ion acétoxonium favorisant l'attaque nucléophile de l'accepteur en position β du glucose. Ainsi, la glycosylation a été réalisée sous atmosphère inerte dans le dichlorométhane (DCM) anhydre en présence du glucose peracétylé **6**, du nitrophénol et de l'acide de Lewis $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ préalablement distillé.⁹¹ Malgré ces précautions, la glycosylation n'a montré aucun résultat concluant car seul le réactif de départ a été récupéré.

⁹¹ (a) Speciale, G.; Farren-Dai, M.; Shidmoosavee, F. S.; Williams, S. J.; Bennet, A. J., *Journal of the American Chemical Society* **2016**, *138*, 14012-14019. (b) Burke, H. M.; Gunnlaugsson, T.; Scanlan, E. M., *Organic & Biomolecular Chemistry* **2016**, *14*, 9133-9145.

Nous nous sommes donc intéressés à la réaction de Koenigs-Knorr qui utilise un glucose peracétylé avec un brome en position anomérique comme glycosyle donneur. Ainsi, la première étape consiste à effectuer une peracétylation suivie d'une monobromation en présence du bromure d'acétyle et du méthanol.⁹² L'addition nucléophile du méthanol sur le bromure d'acétyle génère le bromure d'hydrogène qui réagit ensuite avec le glucose peracétylé par catalyse acide et substitution nucléophile pour donner uniquement le glucose peracétylé bromé **2** avec un rendement de 81 %.

La réaction de Koenigs-Knorr passe par la formation de l'ion oxocarbénium grâce à la présence d'oxyde d'argent qui active le brome de la position anomérique afin de libérer le bromure d'argent ainsi que des ions d'oxydes d'argent en solution. La formation de l'ion acétoxonium par l'assistance du groupe participant permet au nitrophénol d'attaquer par la position équatoriale qui est moins encombrée, via une substitution nucléophile, afin de produire uniquement le β -glucopyranoside **3** avec un rendement de 50 % (Schéma 2. 3).⁹³

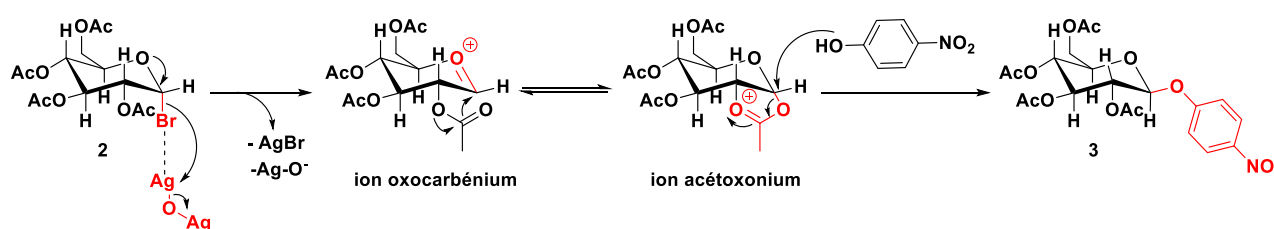


Schéma 2. 3 : Mécanisme de la réaction de Koenigs-Knorr entre le glucose peracétylé bromé **2** et le nitrophénol avec un groupe participant.

Ensuite, le méthanolate de sodium permet de déprotéger toutes les fonctions hydroxyles du β -glucopyranoside **3** pour donner lieu au β -glucopyranoside **4** avec un rendement de 90 %. Enfin, ce dernier a été réduit par hydrogénation en présence du palladium sur charbon (10 % m), utilisé comme catalyseur hétérogène, afin de produire le β -glucoside **5** sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 64 %.

Dans les parties suivantes, nous discuterons alors de l'électrogreffage du β -glucoside **5** sur une surface de carbone vitreux via la réduction de sels de diazonium ou via l'oxydation de l'amine aromatique.

3 Greffage du 4-aminophényl- β -D-glucopyranoside **5** sur une surface de carbone vitreux par réduction de sels de diazonium

Dans un premier temps, nous ferons un point bibliographique sur l'électrogreffage de composés par réduction de sels de diazonium. Puis, cette méthode électrochimique sera utilisée pour l'électrogreffage du β -glucoside **5** sur une surface de carbone vitreux et les résultats obtenus seront discutés.

⁹² Hunsen, M.; Long, D. A.; D'Ardenne, C. R.; Smith, A. L., *Carbohydrate research* **2005**, *340*, 2670-2674.

⁹³ Kamal, A.; Tekumalla, V.; Krishnan, A.; Pal-Bhadra, M.; Bhadra, U., *ChemMedChem* **2008**, *3*, 794-802.

3.1 Étude bibliographique sur l'électrogreffage par réduction de sels de diazonium sur une surface de carbone vitreux

La méthode d'électrogreffage par réduction de sels de diazonium a été introduite par Jean Pinson et son équipe en 1992. Cette procédure permet d'éviter les conditions d'oxydation de tout type de carbone qui conduisent à la formation de groupements carboxyliques, quinoniques, cétoniques ou hydroxyliques capables de réagir avec la molécule à greffer.⁹⁴

Le sel de diazonium est généralement synthétisé en milieu acide à partir de l'amine aromatique correspondante en présence de nitrite de sodium (NaNO_2) ou il peut être généré dans un milieu aprotique comme l'acétonitrile en présence de nitrite de *tert*-butyle (*t*-BuONO). De plus, la littérature montre qu'il est également possible de synthétiser le sel de diazonium *in situ* à partir d'une amine aromatique dans une cellule électrochimique en milieu aqueux ou organique en présence d'agent de diazotation afin d'effectuer directement le greffage sur l'électrode.⁹⁵ L'avantage de cette procédure est de pouvoir utiliser les sels de diazonium avant qu'ils ne se dégradent. En effet, les sels de diazonium sont plutôt stables en milieu acide mais lorsque le pH est neutre ou basique, ils ont tendance à se dégrader et à évoluer vers la formation de diazohydroxydes Ar-N=N-OH qui se transforment par la suite en diazoate Ar-N=N-O^- .

Par voltammétrie cyclique, la réduction du sel de diazonium est décrite par une large vague irréversible mono-électronique à des potentiels cathodiques. La diminution de l'intensité de la vague de réduction au cours des balayages successifs du potentiel jusqu'à atteindre la passivation de l'électrode indique la formation d'une couche organique sur la surface. D'un point de vue mécanistique, la fonctionnalisation de la surface est due à l'attaque d'un radical aryle produit par un transfert électronique concerté de l'électrode vers le sel de diazonium avec la libération du diazote N_2 . Très généralement, la couche organique a tendance à croître dû à la grande réactivité de l'espèce radicalaire pour former une couche de polyphénylène. En effet, le phényle déjà fonctionnalisé sur la surface subit une substitution homolytique aromatique S_H par l'attaque d'un autre radical aryle pour donner le radical cyclohexadiényle. Pour retrouver son aromaticité, ce radical est oxydé via un transfert électronique vers l'électrode ou vers un autre sel de diazonium afin de libérer un proton et un électron (Schéma 2. 4).⁹⁶

⁹⁴ Delamar, M.; Hitmi, R.; Pinson, J.; Saveant, J. M., *Journal of the American Chemical Society* **1992**, *114*, 5883-5884.

⁹⁵ (a) Baranton, S.; Bélanger, D., *Electrochimica Acta* **2008**, *53*, 6961-6967. (b) Cougnon, C.; Nguyen, N. H.; Dabos-Seignon, S.; Mauzeroll, J.; Bélanger, D., *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2011**, *661*, 13-19.

⁹⁶ (a) Pinson, J.; Podvorica, F., *Chemical Society Reviews* **2005**, *34*, 429-439. (b) Adenier, A.; Combellas, C.; Kanoufi, F.; Pinson, J.; Podvorica, F. I., *Chemistry of Materials* **2006**, *18*, 2021-2029.

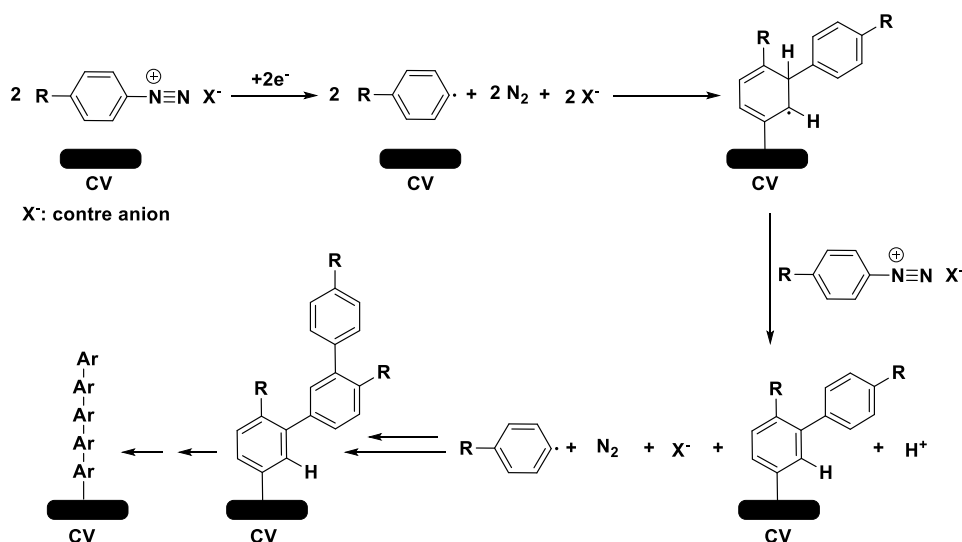


Schéma 2. 4 : Mécanisme de formation de multicouches par voie radicalaire.

Des analyses XPS, infrarouge (IR) et de masse des ions secondaires à temps de vol (TOF-SIMS) ont également montré l'existence de ponts azo dans le polyphénylène. En effet, cela commence par l'attaque d'un sel de diazonium sur le radical cyclohexadiényle pour donner le radical cation d'un dérivé diimide qui est ensuite réduit par l'électrode. Ce dérivé diimide doit retrouver son aromaticité par oxydation en perdant deux hydrogènes (Schéma 2. 5).⁹⁷

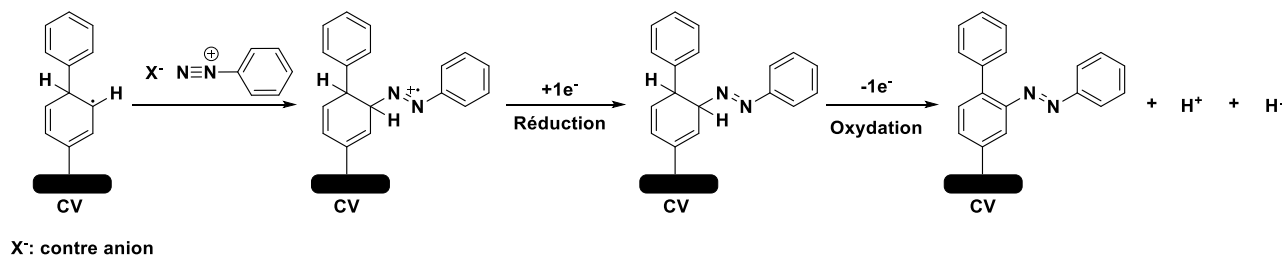


Schéma 2. 5 : Mécanisme de formation de ponts azo dans la chaîne de polyphénylène.

Le greffage peut également s'effectuer de façon spontanée en plongeant l'électrode dans une solution contenant le sel de diazonium. Le mécanisme de formation de la couche organique est similaire à celui produit pour un greffage électro-induit.

Plusieurs paramètres peuvent influencer l'épaisseur de la couche comme par exemple, la concentration du sel de diazonium, le temps de l'électrolyse et le potentiel de greffage utilisé. Afin de contrôler l'épaisseur de la couche, certains scientifiques ont étudié l'influence de l'encombrement stérique des groupements sur le sel d'aryle diazonium. Par exemple, des sels d'aryle diazonium avec des groupements en position 3 et 5 (par rapport au sel de diazonium) comme les *tert*-butyles peuvent défavoriser une attaque en position 4.⁹⁸ Sur le même principe, une autre équipe a utilisé la fonctionnalité triisopropylsilyle (TIPS) comme groupement encombrant et protecteur de la fonction acétylène en position 4. Ce TIPS a donc évité la formation de multicouches en position 3 et 5 : il a donné une meilleure organisation du film avec une bonne densité de

⁹⁷ Doppelt, P.; Hallais, G.; Pinson, J.; Podvorica, F.; Verneyre, S., *Chemistry of Materials* **2007**, *19*, 4570-4575.

⁹⁸ (a) Combellas, C.; Kanoufi, F.; Pinson, J.; Podvorica, F. I., *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 8576-8577. (b) Combellas, C.; Jiang, D.-e.; Kanoufi, F.; Pinson, J.; Podvorica, F. I., *Langmuir* **2009**, *25*, 286-293.

greffage après sa déprotection par le fluorure de tétra-*n*-butylammonium (TBAF).⁹⁹ De même, lorsque les positions 2 et 6 du sel de diazonium sont fonctionnalisées par des groupements méthyles, le greffage ne peut pas se produire. Enfin, l'équipe ERDySS du laboratoire a démontré que le greffage effectué par réduction de sels de diazonium en présence de dioxygène permettait de produire des revêtements de faible épaisseur.¹⁰⁰

3.2 Greffage du 4-aminophényl- β -D-glucopyranoside **5** par réduction de sels de diazonium

L'objectif de cette étude est d'effectuer le greffage de l'amine aromatique du β -glucoside **5** par réduction du sel de diazonium correspondant généré *in situ*. Tout d'abord, l'amine aromatique du β -glucoside **5** (2 mM) est diazotée par le nitrite de sodium (3 eq) dans une cellule électrochimique contenant une solution d'acide chlorhydrique (1 M), dont l'agitation est maintenue pendant 5 min. Puis, le diazonium correspondant au β -glucoside **5** est réduit par voltammétrie cyclique en balayant le potentiel de +0,4 V à -0,6 V à 100 mV/s pendant 5 cycles (Figure 2. 1).

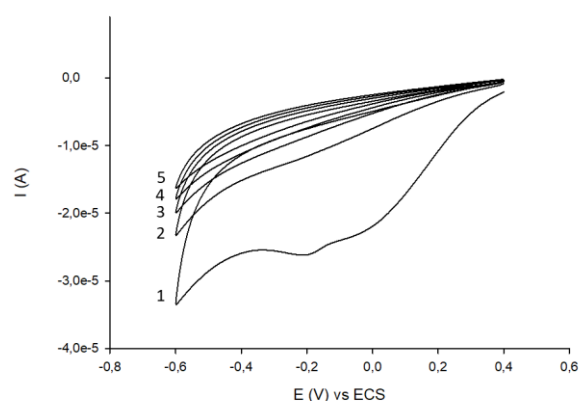


Figure 2. 1 : Réf : ECS ; ET : CV ; CE : Pt. Greffage du diazonium correspondant au β -glucoside **5** (2 mM) sur une surface de carbone vitreux par voltammétrie cyclique (5 cycles) de +0,4 V à -0,6 V dans une solution aqueuse de HCl (1 M), $\nu = 100$ mV/s.

Le premier balayage du potentiel montre une large vague de réduction irréversible vers -0,2 V (vs ECS) représentant la réduction du sel de diazonium. Dès le second cycle, l'électrode est totalement passivée indiquant qu'une couche organique s'est déposée sur la surface de l'électrode. Puis, l'électrode modifiée est rincée et nettoyée aux ultrasons dans l'eau ultra pure pendant 10 min pour éliminer toutes les espèces physisorbées sur la surface. Ensuite, elle a été étudiée dans une solution d'eau ultra pure contenant l'électrolyte KCl (0,1 M) et la sonde redox $K_3[Fe(CN)_6]$ (5 mM)/ $K_4[Fe(CN)_6]$ (5 mM), par voltammétrie cyclique en balayant le potentiel de -0,3 V à +0,7 V à 100 mV/s pendant 3 cycles. La réponse de l'électrode modifiée est comparée à celle d'une électrode fraîchement polie (Figure 2. 2).

⁹⁹ Leroux, Y. R.; Fei, H.; Noël, J.-M.; Roux, C.; Hapiot, P., *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132*, 14039-14041.

¹⁰⁰ Pichereau, L.; López, I.; Cesbron, M.; Dabos-Seignon, S.; Gautier, C.; Breton, T., *Chemical Communications* **2019**, *55*, 455-457.

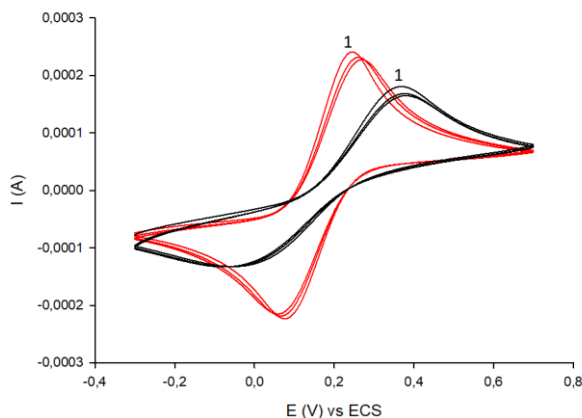


Figure 2. 2 : Réf : ECS ; ET : CV ; CE : Pt. Réponse de l'électrode modifiée (courbe noire) comparée à une électrode fraîchement polie (courbe rouge) par voltammétrie cyclique de -0,3 V à +0,7 V (3 cycles) dans une solution d'eau ultra pure contenant l'électrolyte KCl (0,1 M) en présence de $K_3[Fe(CN)_6]$ (5 mM) et $K_4[Fe(CN)_6]$ (5 mM), $\nu = 100$ mV/s.

Le voltampérogramme représentant l'électrode fraîchement polie (Figure 2. 2 ; courbe rouge) montre que le système réversible du couple redox $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ est obtenu à +0,160 V (vs ECS) avec un écart pic à pic de $\Delta E = 193$ mV . Au contraire, la réponse de l'électrode modifiée (Figure 2. 2 ; courbe noire) indique que le système réversible attribué au couple redox $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ est situé à +0,155 V (vs ECS) avec un écart pic à pic de $\Delta E = 441$ mV. De plus, nous pouvons observer une diminution de l'intensité du système réversible et un élargissement des vagues d'oxydation et de réduction qui conduisent à l'aplatissement partiel du système. Cette description de la Figure 2. 2 indique une augmentation de la résistance du transfert de charge entre l'électrode modifiée et la sonde redox, ce qui justifie la présence d'une couche organique sur la surface.

L'épaisseur de la couche n'a pas été mesurée par AFM, cependant il est probable qu'une multicouche soit obtenue d'après les mécanismes évoqués dans la partie précédente.

Nous avons constaté par voltammétrie cyclique que la solution contenant le sel de diazonium se décompose car l'intensité de la vague de réduction du sel de diazonium a diminué d'un facteur 2 au bout de 1 h. D'après la littérature, lorsque le sel de diazonium est présent dans une solution alcoolique dans des conditions acides en présence de dioxygène, il se décompose majoritairement sous la forme d'un éther d'aryle. Au contraire, l'utilisation des conditions basiques sous atmosphère inerte facilite la réaction en chaîne pour former le produit de réduction et des sous-produits comme le biaryle.¹⁰¹ L'éther d'aryle provient de la substitution du sel de diazonium par l'alcool présent dans le milieu alors que le produit de réduction est obtenu en remplaçant le sel de diazonium par un hydrogène (Schéma 2. 6).

¹⁰¹ (a) DeTar, D. F.; Kosuge, T., *Journal of the American Chemical Society* **1958**, *80*, 6072-6077. (b) Kornblum, N.; Kelley, A. E., *Science* **1953**, *117*, 379-380.

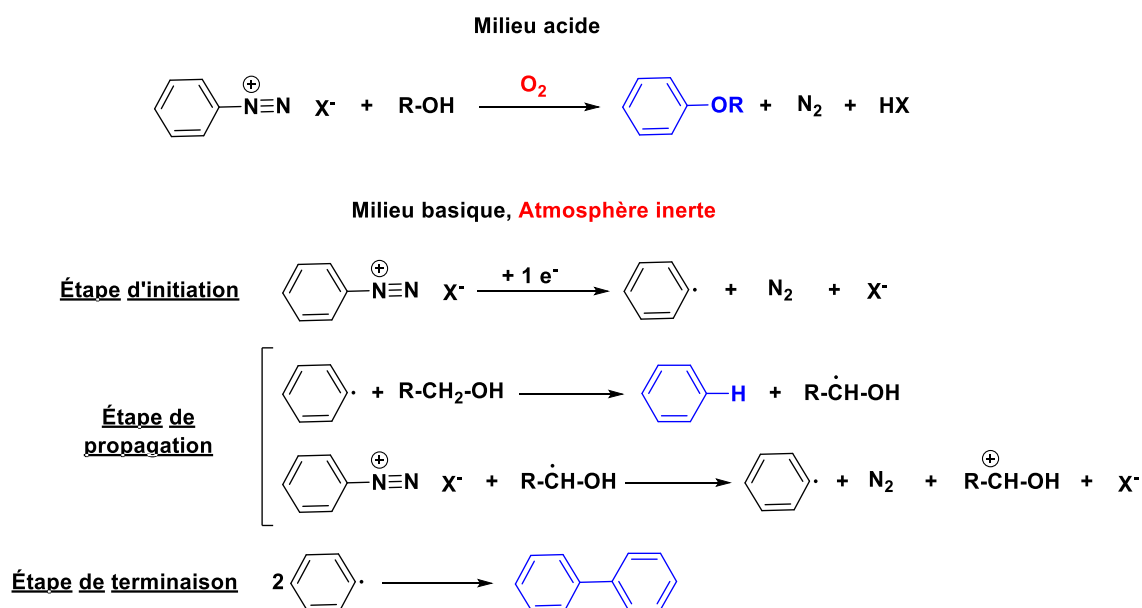


Schéma 2. 6 : Formation des sous-produits issus de la décomposition d'un sel de diazonium en présence d'alcool.

Dans le cas de notre étude, il est possible que les alcools du glucose réagissent avec le sel de diazonium pour former majoritairement des éthers d'aryle en raison des conditions utilisées en milieu acide et en présence de dioxygène.

D'après les études électrochimiques, cette procédure a permis d'immobiliser le β -glucoside **5** sur la surface de carbone vitreux. Cependant, le sel de diazonium formé *in situ* est instable dans les conditions de greffage utilisées. Notre travail s'est donc orienté vers le greffage du β -glucoside **5** sur une surface de carbone vitreux par oxydation directe de l'amine aromatique.

4 Étude électrochimique du greffage du 4-aminophényl- β -D-glucopyranoside **5** par oxydation de l'amine aromatique en milieu organique

4.1 Étude électrochimique du β -glucopyranoside **5** en solution organique

Le comportement électrochimique du β -glucopyranoside **5** (2 mM) a été étudié à l'aide d'une électrode de carbone vitreux par voltammétrie cyclique en balayant les potentiels de -0,3 V à +2,2 V pendant 3 cycles dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M) (Figure 2. 3).

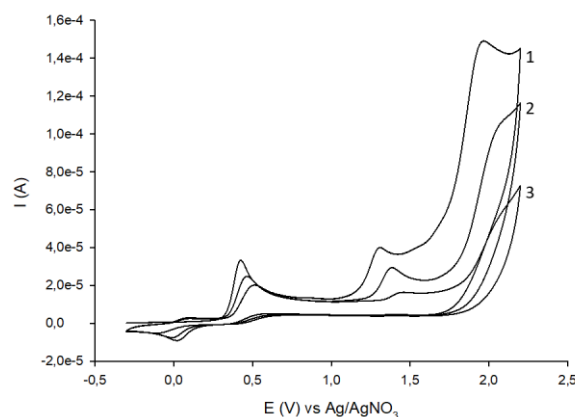


Figure 2. 3 : Réf : Ag/AgNO₃ ; ET : CV ; CE : Pt. Étude électrochimique du β-glucopyranoside **5** (2 mM) dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M), réalisée par voltammétrie cyclique (3 cycles) de -0,3 V à +2,2 V, $\nu = 100$ mV/s.

Lors du premier cycle, le voltampérogramme de la Figure 2. 3 décrit un système mono-électronique irréversible à +0,42 V (vs Ag/AgNO₃) qui est attribué à l'oxydation de l'amine aromatique conduisant à la formation du radical cation. L'oxydation de l'amine s'effectue à faible potentiel en raison de la délocalisation de la charge du radical cation de l'amine qui est facilitée par la conjugaison du noyau aromatique ainsi que par l'effet mésomère donneur de l'oxygène situé en para de l'aniline. Puis, un second pic d'oxydation mono-électronique irréversible apparaît à +1,30 V (vs Ag/AgNO₃) et correspond à l'oxydation de la fonction acétal qui entraîne la coupure de la position anomérique du glucose libérant le cation glycosyle et le radical de l'aminophénol en solution. Une troisième vague d'oxydation irréversible est obtenue à +1,98 V (vs Ag/AgNO₃) : elle représente un système à plusieurs électrons qui est attribué à l'oxydation du glucose générant la gluconolactone.

Lors du balayage retour, un système réversible apparaît à +0,053 V (vs Ag/AgNO₃). Il semble caractériser la formation d'un produit de couplage issu de l'oxydation de l'amine aromatique.

En effet, Bacon et Adams¹⁰² ont démontré que les oxydations de l'aniline et de ses dérivés non-*para*-substitués en milieu acide aqueux conduisent à la formation de deux produits de couplage. D'un côté, la benzidine est issue du couplage queue-à-queue tandis que la *para*-aminodiphénylamine est produite à partir d'un couplage tête-à-queue. Par contre, l'oxydation des dérivés de l'aniline *para*-substitués fournit majoritairement le dimère *para*-aminodiphénylamine.

De plus, la formation du produit de couplage dépend fortement du pH. En effet, la quantité de benzidine augmente avec l'acidité. Lorsque le pH est supérieur à 4, la *para*-aminodiphénylamine devient majoritaire et seulement des traces de benzidine sont observées. En milieu neutre comme l'acétonitrile, le composé principal est également la *para*-aminodiphénylamine. Par contre, lorsque l'acétonitrile est en présence de base comme la pyridine, la formation d'un azobenzène est favorisée d'après Wawzonek et McIntyre¹⁰³ (Schéma 2. 7).

¹⁰² (a) Bacon, J.; Adams, R. N., *Journal of the American Chemical Society* **1968**, *90*, 6596-6599. (b) Geniès, E. M.; Boyle, A.; Lapkowski, M.; Tsintavis, C., *Synthetic Metals* **1990**, *36*, 139-182.

¹⁰³ (a) Wawzonek, S.; McIntyre, T. W., *Journal of The Electrochemical Society* **1967**, *114*, 1025. (b) Wawzonek, S.; McIntyre, T. W., *Journal of The Electrochemical Society* **1972**, *119*, 1350.

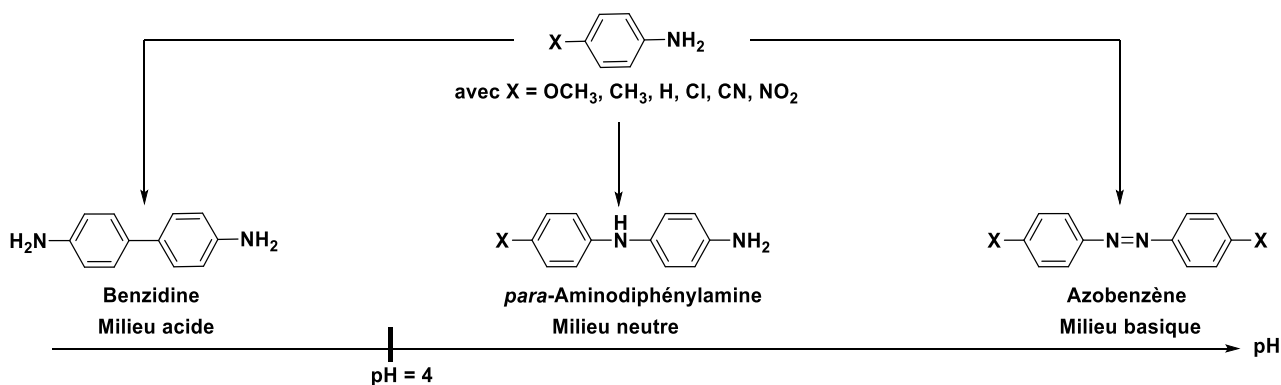


Schéma 2. 7 : Présentation des différents réactifs de couplage des dérivés *para*-substitués de l'aniline en fonction du pH.

Amatore et al¹⁰⁴ ont étudié l'évolution du radical cation de la *para*-anisidine dans une solution de DMF. À l'aide d'une étude cinétique menée sur l'oxydation de l'amine de la *para*-anisidine par voltammétrie cyclique à des vitesses de balayages élevées (de l'ordre de 10-100 kV/s) et conventionnelles, ils ont démontré que le radical cation est impliqué avec la *para*-anisidine neutre dans une étape cinétiquement déterminante conduisant à la formation du produit de dimérisation qui est la *para*-aminodiphénylamine sous sa forme oxydée à un seul électron. D'après la littérature, la réaction entre le radical cation et la *para*-anisidine neutre peut être représentée par un mécanisme radicalaire (Schéma 2. 8) ou bien par un mécanisme ionique impliquant une substitution nucléophile aromatique du radical cation par la *para*-anisidine neutre (Schéma 2. 9). Quel que soit le mécanisme, la réaction passe par l'élimination du méthanol.

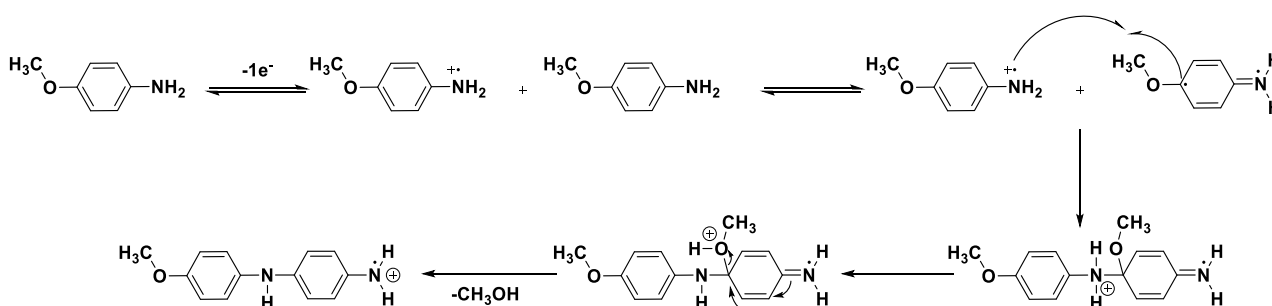


Schéma 2. 8 : Mécanisme radicalaire proposé par Amatore pour la formation de la *para*-aminodiphénylamine dans sa forme oxydée à un électron issue de l'oxydation de la *para*-anisidine.¹⁰⁴

¹⁰⁴ Simon, P.; Farsang, G.; Amatore, C., *Journal of Electroanalytical Chemistry* **1997**, 435, 165-171.

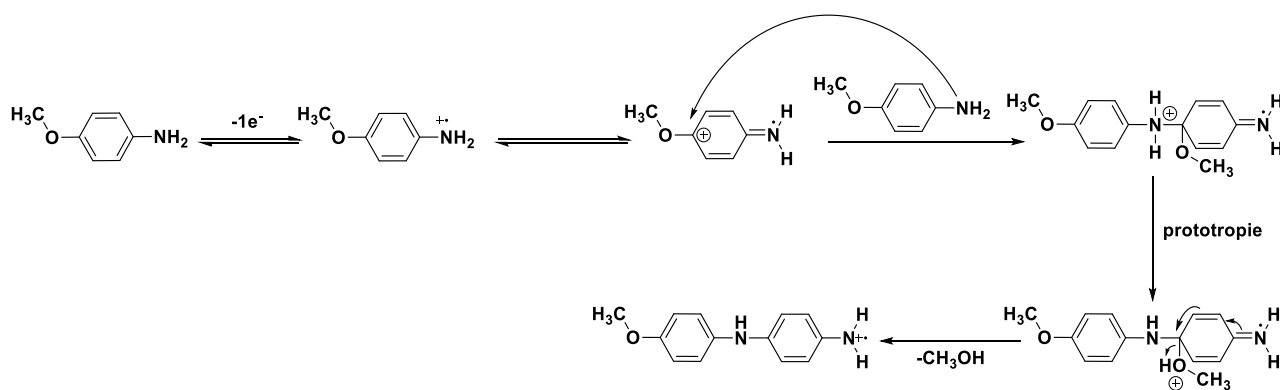


Schéma 2. 9 : Mécanisme ionique énoncé par Amatore pour la formation de la *para*-aminodiphénylamine dans sa forme oxydée à un électron issue de l'oxydation de la *para*-anisidine.¹⁰⁵

Puis, lors du balayage retour, la forme oxydée à un seul électron de la *para*-aminodiphénylamine est réduite pour donner la *para*-aminodiphénylamine neutre. Cette dernière est représentée par un système réversible à deux électrons, décrit dans le Schéma 2. 10.

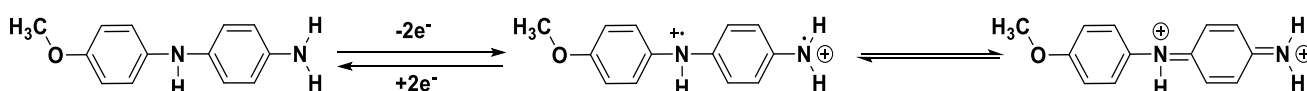


Schéma 2. 10 : Oxydation de la *para*-aminodiphénylamine.

Par contre, un radical cation issu de l'oxydation d'une *para*-halogénoaniline ne suit pas la même étape cinétiquement déterminante que la *para*-anisidine conduisant à la *para*-aminodiphénylamine correspondante. L'effet inductif de l'halogène accentue les propriétés acido-basiques de l'aniline neutre ainsi que de son radical cation. Ainsi, la *para*-halogénoaniline neutre est capable de déprotoner le radical cation qui est plus acide dû à l'effet inductif de l'halogène pour donner le radical aminyle. Cette déprotonation réversible et rapide est suivie de l'étape cinétiquement déterminante entre le radical aminyle formé et son radical cation.¹⁰⁵ La réaction de couplage génère la forme oxydée à deux électrons de la *para*-aminodiphénylamine correspondante et son mécanisme radicalaire est décrit dans le Schéma 2. 11. L'électrodimerisation entre le radical aminyle et l'aniline neutre peut également se produire pour donner la forme oxydée à un électron de la *para*-aminodiphénylamine mais le processus est beaucoup plus lent que le premier qui a lieu entre deux espèces instables.¹⁰⁶ Son mécanisme radicalaire est également décrit dans le Schéma 2. 11.

¹⁰⁵ Amatore, C.; Farsang, G.; Maisonhaute, E.; Simon, P., *Journal of Electroanalytical Chemistry* **1999**, 462, 55-62.

¹⁰⁶ Streeter, I.; Wain, A. J.; Thompson, M.; Compton, R. G., *The Journal of Physical Chemistry B* **2005**, 109, 12636-12649.

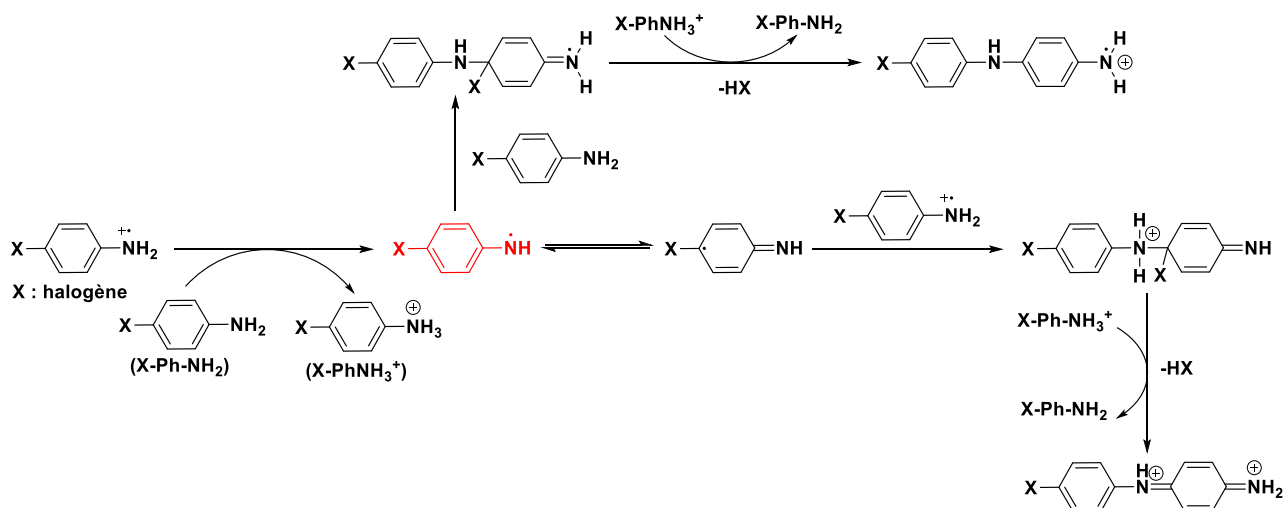


Schéma 2. 11 : Mécanisme radicalaire proposé par Amatore pour la formation des radicaux cations de la para-aminodiphénylamine décrivant un transfert de proton réversible entre le radical cation et la para-halogénoaniline neutre.¹⁰⁴

Dans le cas de notre étude, les expériences sont réalisées dans l'acétonitrile qui est un milieu neutre. De plus, le produit de couplage issu de l'oxydation de l'amine est représenté par un système réversible à bas potentiel et pourrait donc correspondre à un dérivé de la para-aminodiphénylamine voire à des oligomères d'un peu plus haut rang restant solubles dans l'acétonitrile (Schéma 2. 12). Étant donné que le glucose est un groupement électrodonneur mésomère par l'oxygène, l'acidité du radical cation devrait être plutôt faible, comme pour la para-anisidine. Il est donc plus probable que la réaction de dimérisation implique le radical cation et l'aniline neutre. La formation de ce dimère est problématique dans le sens où il consomme les radicaux cations à l'électrode.

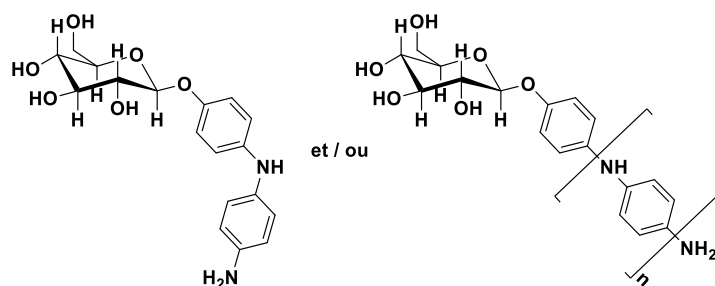


Schéma 2. 12 : Représentation d'un dérivé de la para-aminodiphénylamine et de son oligomère issu de l'oxydation de l'amine aromatique du β-glucopyranoside 5.

4.2 Greffage du β-glucopyranoside 5 sur une surface de carbone vitreux par oxydation de l'amine aromatique en milieu organique

Le greffage du β-glucopyranoside 5 (2 mM) sur une surface de carbone vitreux a été suivi par voltammétrie cyclique en balayant le potentiel de -0,3 V à +0,8 V pendant 10 cycles à 100 mV/s dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte *n*Bu₄NPF₆ (0,1 M) (Figure 2. 4).

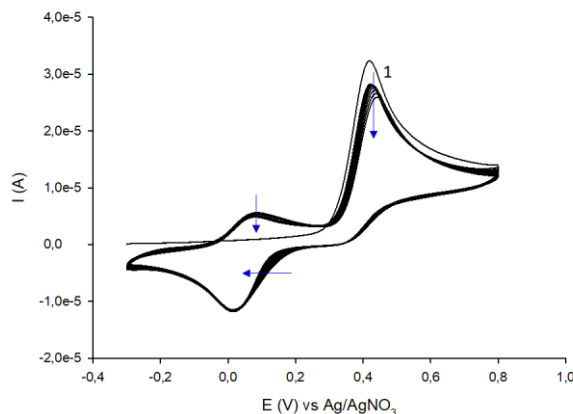


Figure 2. 4 : Réf : Ag/AgNO₃ ; ET : CV ; CE : Pt. Greffage du β-glucopyranoside **5** (2 mM) sur une surface de carbone vitreux par voltammétrie cyclique (10 cycles) de -0,3 V à +0,8 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M), $\nu = 100$ mV/s.

Le voltampérogramme de la Figure 2. 4 ne montre pas de passivation à l'électrode au niveau de la vague d'oxydation de l'amine située à +0,42 V (vs Ag/AgNO₃) qui pourrait nous indiquer la formation d'une couche organique sur la surface. En effet, l'intensité de la vague d'oxydation de l'amine diminue légèrement et son allure reste similaire au cours des cycles. De plus, l'intensité du système réversible du produit de couplage, qui est situé à +0,045 V (vs Ag/AgNO₃), diminue faiblement avec les cycles. Cette expérience conduit uniquement à de la physisorption du composé **15** et du produit de couplage sur la surface de carbone vitreux.

Les premiers travaux réalisés sur une surface carbonée pour l'électrogreffage d'un composé par oxydation d'une amine ont été rapportés par Blandine Barbier et Jean Pinson en 1990.¹⁰⁷ À l'époque, ils étudiaient la modification d'une surface de fibres de carbone par oxydation de diamines dans un milieu aprotique. Le voltampérogramme d'une diamine monosubstituée montrait, au premier balayage de potentiel, une vague d'oxydation irréversible mono-électronique à des potentiels anodiques (vers +1,6 V vs ECS) conduisant à la formation d'un radical cation. Ils ont indiqué que lorsqu'une couche organique commence à se lier à la surface, le transfert électronique entre l'électrode et la molécule en solution est ralenti. Ceci est démontré par une déformation de la vague d'oxydation accompagnée d'une diminution progressive du courant au cours des balayages successifs de potentiel allant jusqu'à la passivation de l'électrode marquée par un effet bloquant. Cette étude confirme bel et bien que le greffage du composé **5** n'a pas eu lieu car aucune passivation à l'électrode n'a été observée. Mais alors, pourquoi le greffage n'a pas fonctionné ? Quelle est la fonction chimique responsable de la liaison covalente entre le substrat et le composé **5** ?

Tout d'abord, le mécanisme de greffage des amines aliphatiques a longuement été étudié et discuté pour comprendre comment l'amine se lie de façon covalente avec la surface. Les scientifiques ont, dans un premier temps, suggéré que le radical cation formé par oxydation de l'amine était l'espèce capable de réagir avec la surface. Mais cette proposition a été contredite par des analyses électrochimiques et infrarouges prouvant que le radical aminyle est la fonction clé pour permettre une accroche sur la surface. Ainsi, il a été démontré que l'oxydation des amines suit le mécanisme EC (électrochimique-chimique) établi par un transfert électronique suivi d'une réaction chimique. L'oxydation de l'amine conduit alors à la formation d'un radical

¹⁰⁷ Barbier, B.; Pinson, J.; Desarmot, G.; Sanchez, M., *Journal of The Electrochemical Society* **1990**, *137*, 1757-1764.

cation qui subit une déprotonation en α du groupement amine pour donner un radical carboné capable de se transformer en radical aminyle par tautomérisation (Schéma 2. 13).¹⁰⁸

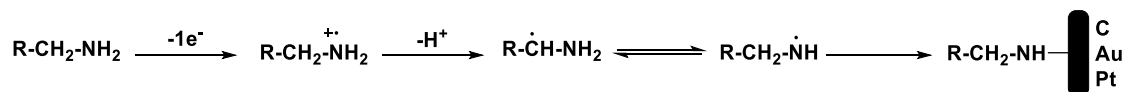


Schéma 2. 13 : Mécanisme proposé pour l'électrogreffage d'une amine aliphatique primaire.

Ce mécanisme d'oxydation peut également s'appliquer aux amines aromatiques mais cette fois-ci, la déprotonation a lieu sur la fonction radical cation de l'amine (Schéma 2. 14).

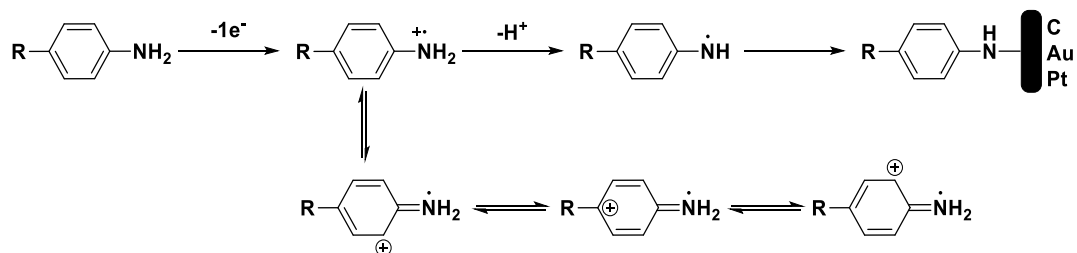


Schéma 2. 14 : Mécanisme proposé pour l'électrogreffage d'une amine aromatique primaire et représentation des différentes formes mésomères du radical cation.

Les amines aromatiques s'oxydent plus facilement que les amines aliphatiques en raison de la stabilité du radical cation qui est plus importante grâce à la délocalisation de la charge sur le noyau aromatique par mésomérie. Pour les amines aliphatiques, le radical cation est plus instable. Il se déprotonne facilement en raison de son acidité pour donner le radical aminyle. Ce dernier est instable et s'oxyde en iminium qui, par hydrolyse, libère une molécule d'ammoniac, un aldéhyde et un proton (Schéma 2. 15).

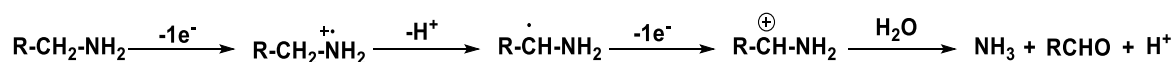


Schéma 2. 15 : Formation de produits secondaires lors de l'oxydation d'une amine aliphatique primaire.

La génération d'un radical cation s'effectue plus facilement pour les amines aliphatiques secondaires et tertiaires que pour les amines aliphatiques primaires.¹⁰⁹ Le potentiel de la vague d'oxydation d'une amine secondaire ou tertiaire est en effet plus faible dû à la stabilisation du radical cation par les groupements alkyles. Cependant, l'immobilisation d'une amine aliphatique sur une surface va dépendre de l'accessibilité du radical aminyle. Ainsi, pour les amines aliphatiques tertiaires, le radical aminyle est incapable d'accéder aux sites actifs de la surface à cause de l'encombrement stérique induit par ses différents substituants.

La modification de surface par oxydation des amines aromatiques est souvent restreinte en raison de la délocalisation de la charge du radical cation sur le noyau aromatique qui le stabilise. Elle est également limitée par la faible acidité du radical cation ce qui empêche sa déprotonation par l'aniline neutre correspondante, conduisant à la formation de produits de couplage et dans certaines conditions, à des produits de couplage hautement condensés comme la polyaniline.¹¹⁰

¹⁰⁸ Adenier, A.; Chehimi, M. M.; Gallardo, I.; Pinson, J.; Vilà, N., *Langmuir* **2004**, *20*, 8243-8253.

¹⁰⁹ Deinhammer, R. S.; Ho, M.; Anderegg, J. W.; Porter, M. D., *Langmuir* **1994**, *10*, 1306-1313.

¹¹⁰ (a) Genies, E. M.; Lapkowski, M., *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry* **1987**, *236*, 189-197. (b) Yang, H.; Bard, A. J., *Journal of Electroanalytical Chemistry* **1992**, *339*, 423-449.

Pour conclure sur cette étude bibliographique, la déprotonation du radical cation en radical aminyle est la condition sine qua non pour que le greffage se réalise. Dans notre étude, il est possible que la formation du radical aminyle n'ait pas lieu. Il est donc nécessaire d'ajouter une base dans la solution pour favoriser le greffage.

4.3 Greffage du β -D-glucopyranoside 5 sur une surface de carbone vitreux par oxydation de l'amine aromatique en milieu organique en présence de base

4.3.1 Choix de la base et résultats

Comme nous l'avons vu précédemment dans les réactions de dimérisation, les groupements fonctionnels en para de l'aniline influent sur l'acidité du radical cation par leurs effets électroniques. En effet, un groupement électro-attracteur en para de l'aniline augmente l'acidité du radical cation ce qui facilite sa déprotonation alors qu'un groupement électrodonneur stabilise la charge du radical cation et diminue son acidité, il sera donc plus difficile à déprotoner. De façon empirique, un coefficient dit de Hammett (σ_p) peut être attribué à ces groupements afin d'évaluer leur effet électronique sur différentes positions d'un composé aromatique. Ce coefficient est négatif pour les substituants électrodonneurs et positif pour les substituants électro-attracteurs (Tableau 2. 1). Dans la littérature, il a été démontré que le potentiel d'oxydation du couple $XPhNH_2^+/XPhNH_2$ et l'énergie de dissociation de la liaison N-H sont proportionnels au coefficient de Hammett alors que le pKa du radical cation de l'amine est inversement proportionnel au coefficient de Hammett.

Pour les amines aliphatiques primaires, la déprotonation du radical cation en radical aminyle est effectuée par l'amine neutre au contact de la surface de l'électrode. Or, pour les amines aromatiques primaires, la déprotonation du radical cation par l'amine aromatique neutre est réalisable si et seulement si le pKa du couple $XPhNH_3^+/XPhNH_2$ est largement supérieur au pKa du couple $XPhNH_2^+/XPhNH$ (Tableau 2. 1). Dans le cas contraire, une base non électro-active dans les fenêtres de potentiels utilisées doit être ajoutée au milieu pour que le greffage soit réalisable, tel est le cas pour la *para*-anisidine.

Substituants	ΔE_{onset} (mV) (a)	pKa ($XPhNH_3^+$) (b)	pKa ($XPhNH_2^+$) (c)	σ_p (d)
OMe	-23	11,86	14,37	-0,27
Me	-49	11,45	9,26	-0,17
Br	-155	9,43	4,19	0,23
NO ₂	-328	6,22	-2,90	0,78

Tableau 2. 1 : (a) Déplacement du potentiel du pic d'oxydation de l'amine des dérivés de l'aniline *para*-substituée (1 mM) par voltammétrie cyclique à 100 mV/s après l'ajout de 5 équivalents de collidine. (b) Présentation des valeurs de pKa pour la forme protonée des dérivés de l'aniline *para*-substituée dans l'acétonitrile. (c) Présentation des valeurs de pKa pour le radical cation des dérivés de l'aniline *para*-substituée dans l'acétonitrile. (d) Coefficient de Hammett.¹¹¹

Tout d'abord, en présence d'une base, l'oxydation de l'amine est facilitée car elle s'effectue à un plus bas potentiel. La concentration de la base et sa basicité augmentent le déplacement du potentiel du pic d'oxydation de l'amine par rapport à un milieu sans base. De plus, une relation de linéarité entre la variation du potentiel ΔE et le pKa de l'acide conjugué de la base a été démontrée (Tableau 2. 2).

¹¹¹ Hansch, C.; Leo, A.; Taft, R. W., *Chemical Reviews* **1991**, *91*, 165-195.

Base (B)	pKa (BH ⁺) (a)	ΔE _{onset} (mV) (b)
Pyridine	12,60	-55
2,4,6-triméthylpyridine (collidine)	14,77	-155
Morpholine	16,09	-255
Piperidine	18,92	-421
1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène (DBU)	24,13	-622

Tableau 2. 2 : (a) Présentation de la valeur de pKa de l'acide conjugué BH⁺ de la base B dans l'acétonitrile. (b) Déplacement du potentiel du pic d'oxydation de l'amine de la 4-bromoaniline (1 mM) par voltammétrie cyclique à 100 mV/s après l'ajout de 5 équivalents de base B.

Lorsque les paramètres de la base sont fixés (choix de la base et de la concentration), nous pouvons également observer les dépendances des variations du potentiel (ΔE) en fonction des substituants en para de l'aniline (Tableau 2. 1). Une aniline *para*-substituée par un groupement électro-attracteur aura un déplacement de potentiel plus conséquent dû à l'acidité du radical cation contrairement à un groupement électrodonneur où la variation sera plus restreinte.

Ainsi, pour que le greffage ait lieu, il est nécessaire que le pKa de l'acide conjugué de la base soit strictement supérieur au pKa du radical cation de l'aniline *para*-substituée.

Au moment de réaliser notre étude, les auteurs utilisent généralement de la pyridine ou de la 2,3,6-triméthylpyridine (collidine) pour effectuer l'électrogreffage de leur composé par oxydation de l'amine aromatique. Ensuite, le pKa du radical cation du β-glucopyranoside **5** n'est pas connu mais il a été identifié à celui de la *para*-anisidine dont les propriétés acido-basiques devraient être plus ou moins similaires en raison de leur groupement électrodonneur mésomère. Or, le pKa de l'acide conjugué de la pyridine (pKa = 12,60) est nettement inférieur au pKa du radical cation de la *para*-anisidine. La pyridine est donc dans l'incapacité de déprotoner le radical cation (pKa = 14,37). Notre choix s'est donc porté sur la collidine dont le pKa de l'acide conjugué (pKa = 14,77) est tout juste supérieur à celui du radical cation de la *para*-anisidine.

Le nombre d'équivalents de collidine nécessaire pour effectuer le greffage a été déterminé en étudiant le comportement électrochimique de la 4-bromoaniline (1 mM) à l'aide d'une électrode de carbone vitreux par voltammétrie cyclique en présence de différentes concentrations de collidine dans l'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M).¹¹² Pour deux équivalents de collidine, il a été démontré que la vague d'oxydation de l'amine s'est déplacée vers des potentiels inférieurs par rapport à la vague d'oxydation initiale située à +0,66 V (vs Fc⁺/Fc) et que l'intensité du courant a quasiment doublé. De plus, le système réversible du produit de couplage qui, est normalement situé à +0,15 V (vs Fc⁺/Fc), a totalement disparu. Lorsque cinq équivalents de collidine sont ajoutés au milieu, le voltampérogramme reste inchangé par rapport à celui réalisé avec deux équivalents. Ainsi, pour notre étude, nous avons décidé de se placer en large excès avec cinq équivalents de collidine même si deux équivalents semblaient être suffisants pour la 4-bromoaniline. En effet, le radical cation du β-glucopyranoside **5** est beaucoup moins acide que celui de la 4-bromoaniline, il est donc nécessaire que la concentration de la base soit suffisamment élevée pour favoriser la déprotonation.

¹¹² Anex, C.; Touzé, E.; Curet, L.; Gohier, F.; Cougnon, C., *ChemElectroChem* **2019**, *6*, 4963-4969.

Ainsi, le greffage du β -glucopyranoside **5** (2 mM) sur une électrode de carbone vitreux a été réalisé par voltammétrie cyclique de -0,3 V à +0,8 V à 100 mV/s pendant 5 cycles en présence de cinq équivalents de collidine dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M) (Figure 2. 5).

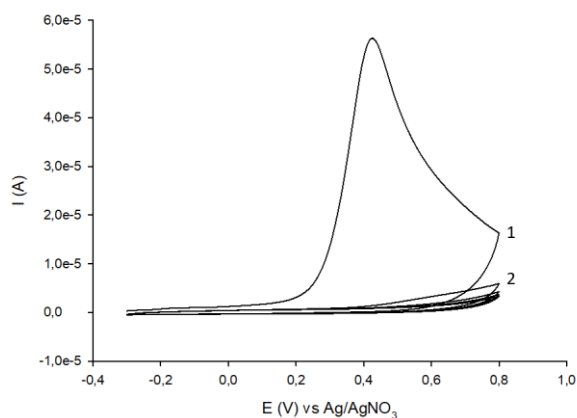


Figure 2. 5 : Réf : Ag/AgNO₃ ; ET : CV ; CE : Pt. Greffage du β -glucopyranoside **5** (2 mM) sur une surface de carbone vitreux par voltammétrie cyclique (5 cycles) de -0,3 V à +0,8 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M) en présence de collidine (5 eq), $v = 100$ mV/s.

Lors du premier balayage de potentiel, l'intensité de la vague d'oxydation de l'amine aromatique située à +0,42 V (vs Ag/AgNO₃) a pratiquement doublé en présence de la collidine comparée à l'intensité de la vague d'oxydation initiale. De plus, lors du balayage retour, le système réversible attribué à la formation du produit de couplage, qui est normalement situé à +0,045 V (vs Ag/AgNO₃), a totalement disparu, indiquant que la réaction de dimérisation n'a pas eu lieu. Ainsi, en présence de base, la concentration en aniline oxydée est optimisée, ce qui explique l'augmentation du courant de crête. En effet, les anilines neutres qui participaient à la réaction de couplage avec les radicaux cations peuvent désormais s'oxyder car la formation du produit de couplage est défavorisée dans ces nouvelles conditions expérimentales.

La variation de potentiel a été évaluée sur le premier cycle en comparant les potentiels de demi-vague en présence de cinq équivalents de collidine (Figure 2. 5) et en l'absence de base (Figure 2. 4). Il a donc été démontré que le pic d'oxydation de l'amine s'est déplacé de 15 mV vers les potentiels cathodiques.

Lors du deuxième balayage, l'intensité du courant devient nulle signifiant qu'aucun transfert électronique n'est possible entre l'électrode et la molécule en solution. Cet effet bloquant est dû à la passivation de l'électrode par l'immobilisation du β -glucopyranoside **5** sur la surface de carbone vitreux. En effet, la déprotonation du radical cation par la base azotée produit le radical aminyle au contact de la surface de l'électrode : il peut donc créer une liaison covalente avec la surface.

4.3.2 Mécanisme de l'électrogreffage

D'un point de vue mécanistique, certains auteurs ont démontré l'existence d'une liaison hydrogène entre l'aniline neutre et la base azotée. Par exemple, l'équipe de Soloveichik¹¹³ a étudié l'oxydation électrochimique de l'indoline en présence de différentes bases azotées (Schéma 2. 16). Ils ont constaté que la formation de liaisons hydrogène entre l'indoline et la base azotée devancerait l'oxydation électrochimique

¹¹³ Rainka, M. P.; Peters, A.; Soloveichik, G., *International Journal of Hydrogen Energy* **2013**, *38*, 3773-3777.

de l'indoline. Cette liaison hydrogène augmenterait la densité électronique sur l'azote de l'indoline ce qui abaisserait la barrière énergétique de l'oxydation pouvant désormais s'effectuer à un plus bas potentiel. Pour prouver ce mécanisme, les auteurs ont remplacé l'indoline par la *N*-méthylindoline en présence ou en absence de base azotée. Ce composé a été choisi car il ne présente pas d'hydrogène sur l'azote ce qui élimine les interactions hydrogène avec la base. Ainsi, en présence d'un excès de base, la *N*-méthylindoline ne montre aucun déplacement cathodique du potentiel par contre l'intensité du pic d'oxydation de l'amine atteint son maximum après l'ajout d'un équivalent de base. Cette étude suggère donc que l'interaction de l'indoline avec la base azotée tient un rôle important dans le déplacement cathodique de l'oxydation électrochimique de l'indoline.

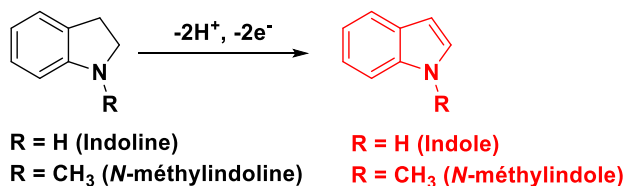


Schéma 2. 16 : Oxydation électrochimique d'indolines en indoles.¹¹³

Cette liaison hydrogène entre l'indoline et la 2,6-lutidine a également été étudiée par RMN¹H en modifiant la concentration de la base azotée (Figure 2. 6). Ainsi, un déblindage de l'hydrogène de l'amine a été observé lors de l'addition croissante de la 2,6-lutidine. Ce déblindage provient sans doute des interactions hydrogène entre l'indoline et la 2,6-lutidine. De plus, les hydrogènes en α et β de l'amine montrent également un léger déblindage tandis que le déplacement chimique des hydrogènes aromatiques reste inchangé.

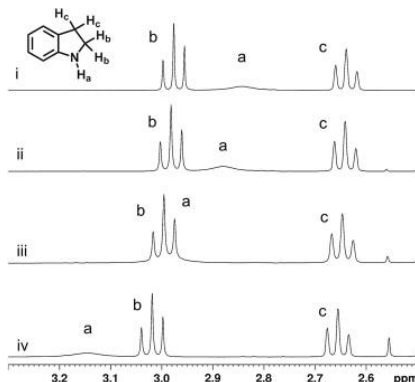


Figure 2. 6 : RMN¹H de l'indoline (50 mM) dans le benzène-*d*₆ en fonction de la concentration de la 2,6-lutidine. Indoline : 2,6-lutidine i) 1:0 ; ii) 1:1 ; iii) 1:4 ; iv) 1:10.¹¹³

De même, l'équipe de Charles Cougnon a étudié la 4-bromoaniline (50 mM) par RMN¹H en présence de différentes concentrations de collidine dans le benzène-*d*₆. Il a confirmé le déblindage des hydrogènes de l'amine et donc la formation de liaisons hydrogène entre la 4-bromoaniline et la collidine.¹¹²

Ainsi, dans notre étude, lorsque le β -glucopyranoside **5** est au contact de la collidine, des interactions hydrogène se créent entre l'hydrogène de l'aniline et l'azote de la collidine. Ainsi, la vague d'oxydation de la Figure 2. 5 devrait correspondre à l'oxydation du complexe [β -glucopyranoside **5** - collidine], suivie par la

déprotonation du radical cation via la collidine générant le radical aminyle capable de se greffer sur la surface de carbone vitreux (Schéma 2. 17).¹¹⁴

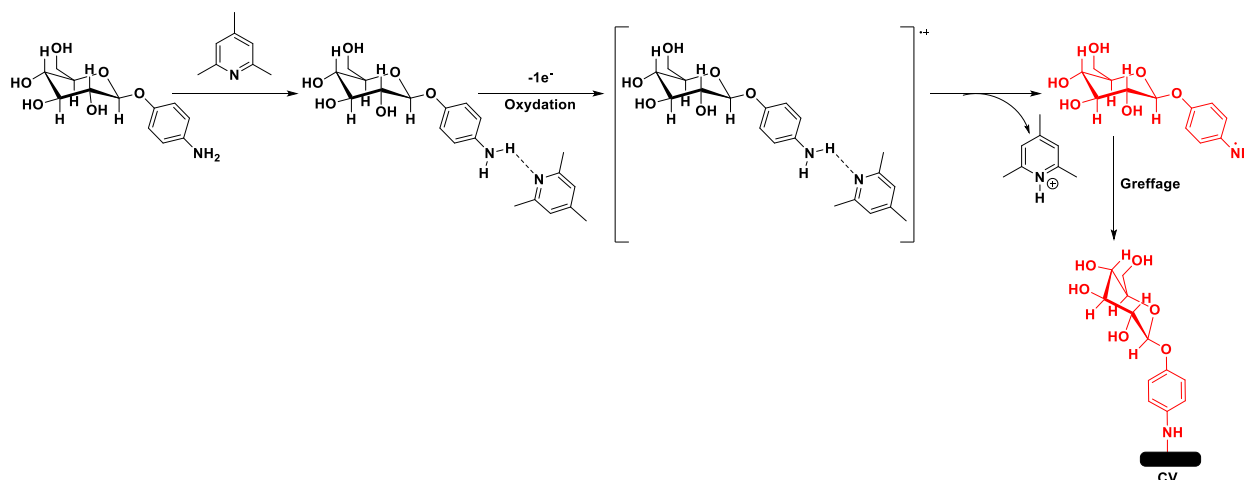


Schéma 2. 17 : Mécanisme par étapes de la formation du radical aminyle menant au greffage du β -glucoside **5** sur une surface de carbone vitreux par oxydation de l'amine aromatique primaire en présence de collidine.

Le mécanisme concerté peut également être envisagé de façon à ce que le transfert électronique et le transfert protonique s'effectuent en même temps conduisant directement au radical aminyle sans passer par le complexe [β -glucopyranoside **5** - collidine] oxydé (Schéma 2. 18).¹¹⁵

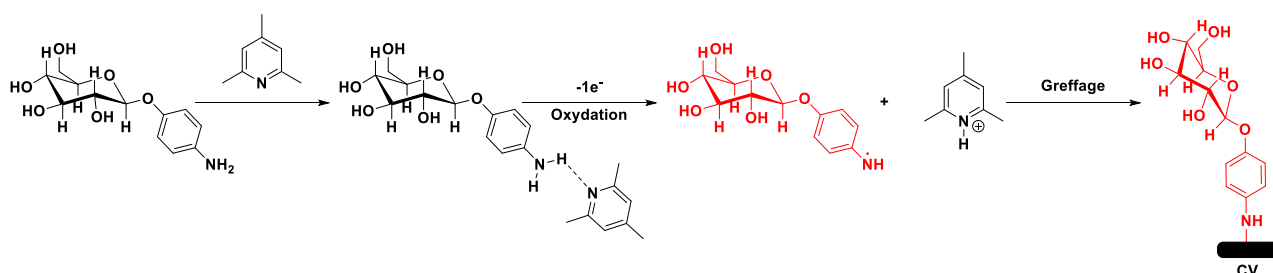


Schéma 2. 18 : Mécanisme concerté de la formation du radical aminyle menant au greffage du β -glucoside **5** sur une surface de carbone vitreux par oxydation de l'amine aromatique primaire en présence de collidine.

4.3.3 Caractérisation de la surface modifiée par AFM, XPS et mesures d'angles de contact avec l'eau

La surface du carbone vitreux modifiée par l'immobilisation du β -glucoside **5** a été analysée par différentes méthodes de caractérisation de surface telles que la microscopie à force atomique (AFM) pour visualiser la topographie de la surface et la spectroscopie photo-électronique par rayons X (XPS) pour déterminer la

¹¹⁴ (a) Peters, A. J.; Rainka, M. P.; Krishnan, L.; Laramie, S.; Dodd, M.; Reimer, J. A., *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2013**, 691, 57-65. (b) Masui, M.; Kaiho, Y.; Ueshima, T.; Ozaki, S., *CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN* **1982**, 30, 3225-3230.

¹¹⁵ Rhile, I. J.; Markle, T. F.; Nagao, H.; DiPasquale, A. G.; Lam, O. P.; Lockwood, M. A.; Rotter, K.; Mayer, J. M., *Journal of the American Chemical Society* **2006**, 128, 6075-6088.

composition de l'échantillon en élément atomique ainsi que l'environnement chimique de chaque atome. De plus, des mesures d'angles de contact à l'eau permettront d'analyser la mouillabilité de la surface.¹¹⁶

La topographie de la couche organique a été analysée sur un film de carbone photorésistant pyrolysé (PPF). Ce film présente la même réactivité que le carbone vitreux mais il est plus fiable pour les expériences AFM en raison de sa faible rugosité qui est de l'ordre de 0,5 nm. Ainsi, une plaque de PPF (1 cm x 1 cm) est immergée de moitié dans la solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M) et le β -glucoside **5** (1 mM) en présence de cinq équivalents de collidine. Le greffage a été effectué sur la plaque de PPF, qui est utilisée comme une électrode de travail, par voltammétrie cyclique en balayant le potentiel de -0,3 V à +0,8 V pendant 5 cycles à 100 mV/s. La plaque est ensuite rincée puis nettoyée aux ultrasons dans l'acétonitrile pendant 10 min. Elle a ensuite été séchée sous argon et placée dans un flacon sous atmosphère d'argon. L'épaisseur de la couche organique déposée sur la plaque de PPF a été évaluée en grattant la surface à l'aide d'une pointe AFM en mode contact. D'après les images obtenues, la couche organique aurait donc une épaisseur de $3,18 \text{ nm} \pm 0,15 \text{ nm}$ (Figure 2. 7). Or, la hauteur théorique de la molécule a été évaluée à 1 nm par le logiciel ChemBio3D Ultra 14.0 capable de mesurer la distance interatomique. À priori, l'immobilisation du β -glycoside **5** sur une surface de PPF correspond à la formation d'une fine couche sachant que l'épaisseur d'une monocouche d'un éthynylbenzène est de l'ordre de $0,65 \text{ nm} \pm 0,18 \text{ nm}$.⁹⁹ L'encombrement stérique du glucose est peut-être la cause de la formation de cette couche de faible épaisseur car il pourrait réduire les attaques des radicaux aminyles en position 3 et 5 de l'aniline. Les 2^{ème} et 3^{ème} couches pourraient être attribuées à des interactions hydrogène ou π -stacking entre les molécules greffées et celles qui sont physisorbées même si celles-ci devraient être éliminées aux ultrasons.

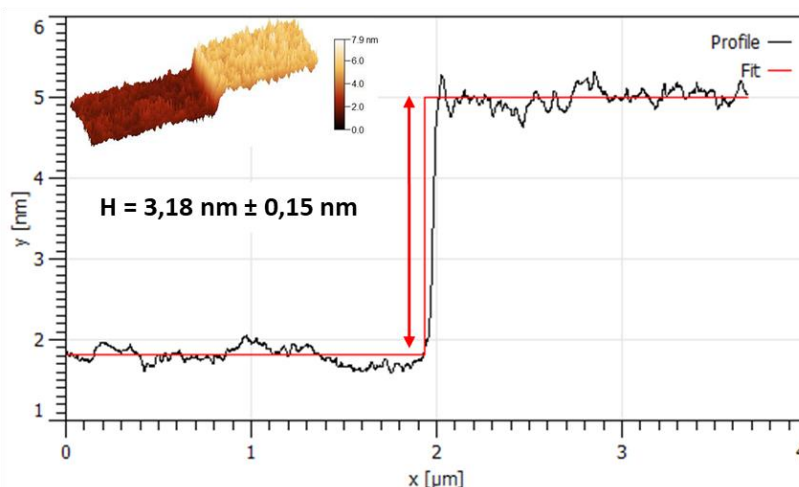


Figure 2. 7 : Détermination de l'épaisseur de la couche organique greffée sur une surface de PPF par AFM.¹¹⁶

Ensuite, les analyses XPS ont été réalisées sur une plaque de carbone vitreux préalablement modifiée afin de vérifier sa composition atomique (Figure 2. 8). Elle sera comparée à une plaque de carbone vitreux vierge. Le β -glucoside **5** a donc été déposé sur une plaque de carbone vitreux en utilisant la même procédure que le greffage sur une plaque de PPF. La seule différence est qu'après le séchage sous argon, la plaque de carbone vitreux a été mise sous vide.

¹¹⁶ Peigneguy, F.; Dabos-Seignon, S.; Frère, P.; Bressy, C.; Gohier, F.; Cougnon, C., *Electrochemistry Communications* **2018**, *93*, 175-179.

Tout d'abord, le spectre XPS C1s montre trois contributions pour le carbone dont le pic à 288,1 eV représentant la fonction acétal (O-C-O), puis le pic à 286,4 eV correspondant aux carbones reliés aux groupements hydroxyles (C-OH) et enfin, le pic à 284,5 eV désignant les carbones sp² de la surface du carbone vitreux.¹¹⁷ Pour le spectre XPS O1s, l'intensité du pic à 532,9 eV a fortement augmenté comparée à une surface de carbone vitreux vierge. L'intégration atomique montre que la fonction hydroxyle est présente à 67 % sur la surface contre 33 % pour la fonction acétal.

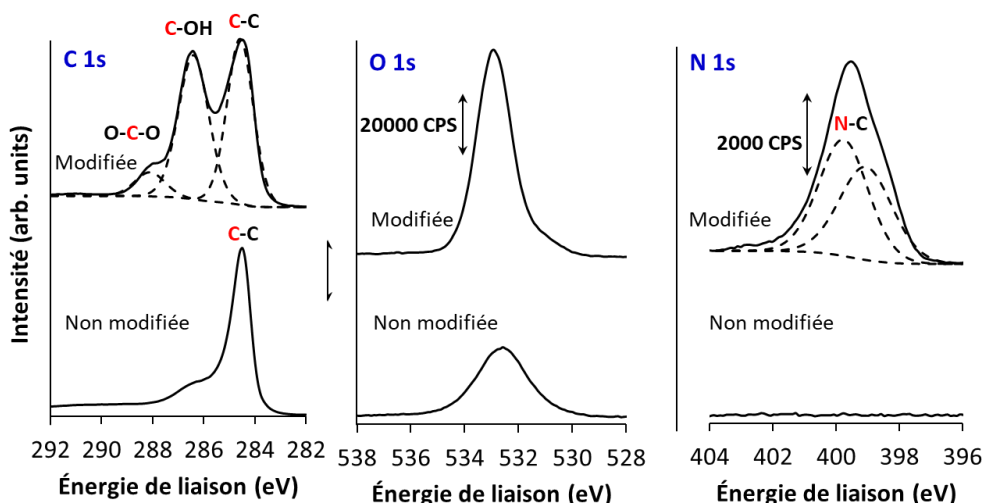


Figure 2. 8 : Spectres XPS C1s, O1s, N1s d'une surface de carbone vitreux modifiée et d'une surface de carbone vitreux vierge.¹¹⁶

Enfin, le spectre XPS N1s signale deux contributions pour l'azote dont la première à 399,7 eV correspond à la liaison covalente de l'azote avec un carbone de la surface confirmant l'accroche du β -glucoside **5** sur la surface. La seconde contribution à 399,0 eV représenterait la formation de liaison hydrogène entre la collidine et les groupements hydroxyles du β -glucoside **5** immobilisé sur la surface.¹¹⁸

La mouillabilité d'une plaque de carbone vitreux modifiée par l'immobilisation du β -glucoside **5** a été évaluée grâce à des mesures d'angles de contact (θ) à l'eau en comparaison avec une surface de carbone vitreux vierge (Figure 2. 9). Lorsqu'une goutte d'eau est déposée sur la surface modifiée, elle a tendance à s'étaler avec un angle de $21,9 \pm 2,7^\circ$ grâce à la formation de liaisons hydrogène entre les alcools du glucide et les molécules d'eau. La surface non modifiée présente un angle de contact à l'eau de $56,8 \pm 9,0^\circ$. De ce fait, le β -glucoside **5** améliore la mouillabilité de la surface du carbone vitreux en augmentant son caractère hydrophile.

¹¹⁷ Dietrich, P. M.; Horlacher, T.; Girard-Lauriault, P.-L.; Gross, T.; Lippitz, A.; Min, H.; Wirth, T.; Castelli, R.; Seeberger, P.; Unger, W. E. S., *Journal of Carbohydrate Chemistry* **2011**, *30*, 361-372.

¹¹⁸ Huang, H. L.; Goh, S. H.; Lai, D. M. Y.; Wee, A. T. S.; Huan, C. H. A., *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* **2004**, *42*, 1145-1154.

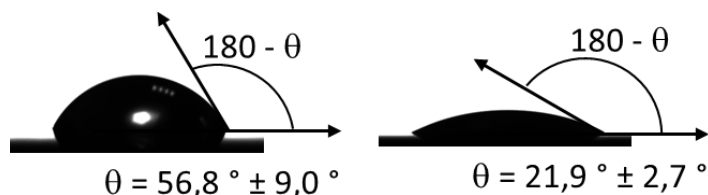


Figure 2. 9 : Mesures d'angles de contact à l'eau sur une surface de carbone vitreux vierge (à gauche) et sur une surface de carbone vitreux modifiée (à droite). Six mesures d'angles de contact ont été prises sur chacune des plaques pour estimer un angle moyen.¹¹⁶

Ainsi, les études AFM et XPS ainsi que les mesures d'angle de contact à l'eau confirment l'immobilisation du β -glucoside 5 sur une surface de carbone vitreux par voie électrochimique.

4.3.4 Libération du cation glycosyle par voie électrochimique

Bien que la surface modifiée de l'électrode ne possède pas d'espèces électro-actives, la stabilité de la couche organique a tout de même été étudiée par voltammétrie cyclique de -0,3 V à +1,6 V à 100 mV/s pendant 3 cycles dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M) (Figure 2. 10).

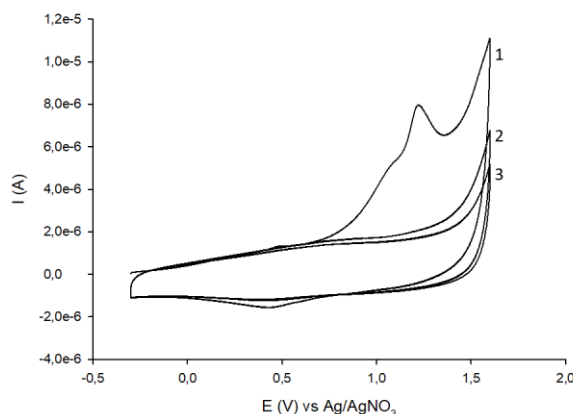


Figure 2. 10 : Réf : Ag/AgNO_3 ; ET : CV ; CE : Pt. Réponse de l'électrode modifiée par voltammétrie cyclique (3 cycles) de -0,3 V à +1,6 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M), $v = 100$ mV/s.

Tout d'abord, le voltampérogramme décrit une vague d'oxydation irréversible à +1,28 V (vs Ag/AgNO_3) lors du premier balayage de potentiel. Ce pic correspondrait à l'oxydation de la fonction acétal du glucide conduisant à la coupure de la position anomérique qui libère le cation glycosyle en solution tandis que le radical de l'aminophénol resterait accroché à la surface (Schéma 2. 19). Cette hypothèse est confirmée lors du second cycle du voltampérogramme où l'absence de la vague d'oxydation ne montre aucune liaison glycosidique sur la surface, signalant que la couche organique n'est pas stable à des potentiels supérieurs à +1,28 V (vs Ag/AgNO_3).

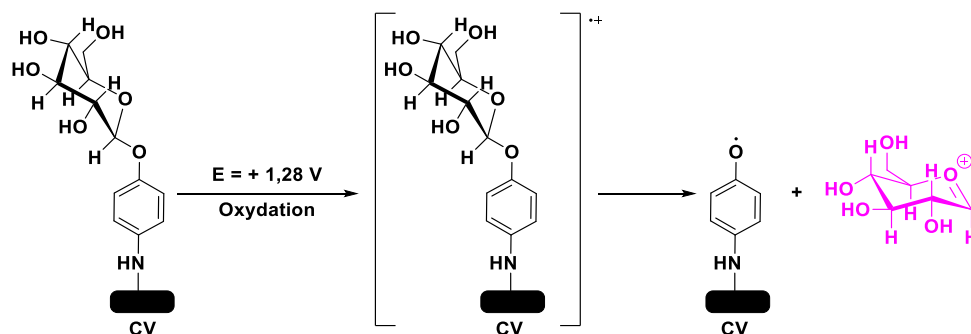


Schéma 2. 19 : Libération d'un cation glycosyle en solution par oxydation de la position anomérique du β -glucoside 5 immobilisé sur la surface de carbone vitreux.

Des analyses XPS ont donc été effectuées sur cette nouvelle surface. Ainsi, la plaque de carbone vitreux a été modifiée en utilisant la même procédure de greffage que précédemment. Puis, après l'électrogreffage, la plaque a été rincée et nettoyée aux ultrasons dans l'acétonitrile pendant 10 min avant d'être transférée dans une cellule d'étude contenant uniquement de l'acétonitrile avec l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M). Elle a donc été étudiée par voltammétrie cyclique de -0,3 V à +1,6 V pendant 3 cycles à 100 mV/s. La plaque a été de nouveau rincée et nettoyée aux ultrasons dans l'acétonitrile pendant 10 min avant d'être séchée sous argon et mise sous vide pour les analyses XPS.

Ainsi, les spectres XPS du carbone C1s et de l'oxygène O1s sont similaires à ceux obtenus sur une surface de carbone vitreux vierge, affirmant la perte du glucose sur la surface. Par contre, le spectre XPS de l'azote N1s signale que la composante à 399,7 eV, représentant le lien covalent entre un azote et un carbone sp^2 de la surface, est toujours apparente, ce qui confirme la présence d'un dérivé azoté sur la surface comme le radical de l'aminophénol (Figure 2. 11).

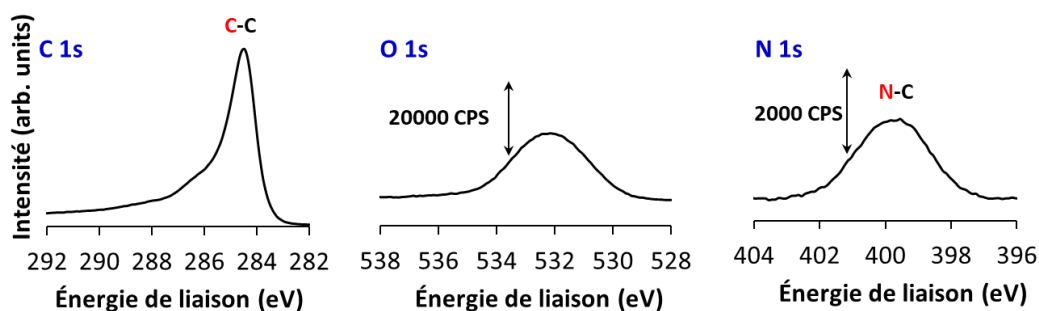


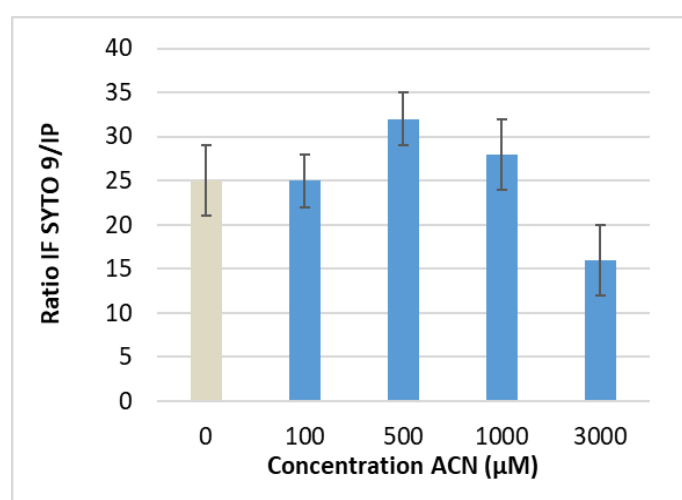
Figure 2. 11 : Spectres XPS de C1s, O1s et de N1s d'une surface modifiée après l'oxydation de la position anomérique du β -glucoside 5.¹¹⁶

5 Greffage du 4-aminophényl- β -D-glucopyranoside 5 par oxydation de l'amine aromatique en milieu aqueux

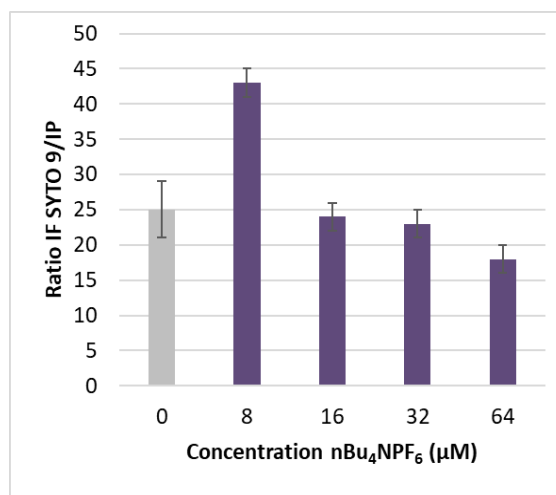
Le greffage du 4-aminophényl- β -D-glucopyranoside 5 sur une surface de carbone vitreux a été réalisé pour développer un revêtement antifouling capable de résister à la colonisation de macromolécules et de micro-organismes lorsque la surface est immergée dans l'eau de mer.

Cependant, lorsque le greffage est réalisé dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M), la couche organique déposée sur la surface n'est plus appropriée pour être étudiée lors d'un test

microbiologique. En effet, l'acétonitrile et le sel d'ammonium influencent la croissance bactérienne à cause de leur toxicité qui a été démontrée par un essai live/dead sur une souche de bactérie marine TC8 (Histogramme 2. 1 et Histogramme 2. 2). Si le ratio SYTO 9 (live)/IP (dead) est proche de zéro, cela signifie que la molécule est toxique pour les bactéries. Ainsi, l'acétonitrile devient toxique à partir d'une concentration de 3000 μM tandis que la toxicité des sels d'ammonium débute à une concentration de 64 μM . En fait, la couche organique déposée sur la surface peut piéger certaines de ces molécules lors du greffage et conduire à une activité antifouling par toxicité. Ainsi, la présence de ces éléments organiques ne permettrait pas d'évaluer correctement les propriétés antibactériennes du revêtement à base de glucide sur la surface de carbone vitreux. De plus, nous voulons développer un revêtement avec des propriétés anti-adhésives et non bactéricides.



Histogramme 2. 1 : Toxicité de l'acétonitrile démontrée par un essai live/dead (ratio intensité de fluorescence SYTO 9 (live)/IP (dead)) sur une souche de bactérie marine TC8 (données internes du laboratoire MAPIEM, Université de Toulon).¹¹⁹



Histogramme 2. 2 : Toxicité du nBu₄NPF₆ démontrée par un essai live/dead (ratio intensité de fluorescence SYTO 9 (live)/IP (dead)) sur une souche de bactérie marine TC8 (données internes du laboratoire MAPIEM, Université de Toulon).

¹¹⁹ Brisset, H.; Briand, J.-F.; Barry-Martinet, R.; Duong, T. H.; Frère, P.; Gohier, F.; Leriche, P.; Bressy, C., *Analytical Chemistry* **2018**, *90*, 4978-4981.

Enfin, les essais microbiologiques sont réalisés dans des microplaques de 96 puits. Au fond de chacun de ces puits, se trouve une cellule électrochimique qui est reliée à un circuit imprimé, collé à l'arrière de la plaque. Or, ce dernier ne supporte pas les solvants organiques ce qui génère des fuites dans la microplaque.

5.1 Étude bibliographique sur l'électrogreffage de composés par oxydation d'une amine en milieu aqueux

Tout d'abord, nous nous sommes renseignés sur les différentes conditions expérimentales qui sont utilisées dans la littérature pour effectuer l'électrogreffage d'un composé sur une surface de carbone par oxydation d'une amine en milieu aqueux.

L'acide 4-aminobenzènesulfonique (5 mM)¹²⁰ et l'acide 4-aminobenzoïque (1 mM)¹²¹ ont été immobilisés sur une surface de carbone vitreux par oxydation de l'amine aromatique dans une solution aqueuse contenant l'électrolyte KCl (0,1 M). Le greffage par voltampérométrie cyclique à 10 mV/s décrit une diminution de l'intensité de la vague d'oxydation de l'amine aromatique au fur et à mesure des cycles, indiquant la formation d'un revêtement sur la surface. L'effet bloquant de ces électrodes modifiées a été étudié par voltammétrie cyclique et par spectroscopie d'impédance dans des solutions tampons Clark-Lubs à différents pH contenant la sonde redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ (5 mM) avec l'électrolyte KCl (0,1 M) (Schéma 2. 20). L'état de charge du groupement terminal de la surface dépend du pH de la solution tampon. Ainsi, lorsque le pH est inférieur au pKa, l'espèce greffée est protonée et la surface reste accessible aux ions $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ décrivant un système redox bien défini. Au contraire, si le pH est supérieur au pKa, le groupe terminal est déprotoné et la surface se retrouve chargée négativement. Les réponses du couple redox montrent un effet bloquant avec une diminution de l'intensité du système réversible $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ à cause de la répulsion électrostatique entre la sonde redox et la surface modifiée, toutes deux chargées négativement. Ainsi, le transfert électronique entre la solution et l'électrode diminue avec l'augmentation du pH.

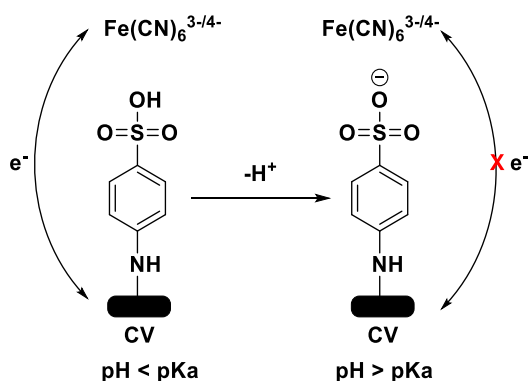


Schéma 2. 20 : Immobilisation de l'acide-1-aminobenzène-4-sulfonique sur une surface de carbone vitreux. Représentation du transfert électronique entre une sonde redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ et l'électrode en fonction du pH.¹²⁰

L'immobilisation de l'acide 4-aminobenzylphosphonique (0,75 mM)¹²² sur carbone vitreux dans une solution aqueuse contenant l'électrolyte KCl (0,1 M) se révèle plus complexe que celles des dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide benzènesulfonique. En effet, deux types de mécanismes ont été répertoriés, dont

¹²⁰ Li, X.; Wan, Y.; Sun, C., *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2004**, 569, 79-87.

¹²¹ Yang, G.; Shen, Y.; Wang, M.; Chen, H.; Liu, B.; Dong, S., *Talanta* **2006**, 68, 741-747.

¹²² (a) Yang, G.; Liu, B.; Dong, S., *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2005**, 585, 301-305. (b) Osssonon, B.; Weissmann, M.; Bélanger, D., *Electrochimica Acta* **2014**, 122, 210-217.

l'un se déroule par oxydation de l'amine aromatique et l'autre par une réaction de Kolbe. En effet, l'oxydation de l'amine conduit à la formation d'une liaison covalente C-N entre la surface de carbone vitreux et la molécule alors que l'oxydation de la position benzylique entraîne l'élimination de l'acide métaphosphorique et la formation d'une liaison covalente C-C entre la surface et la molécule (Schéma 2. 21). L'état de charge des groupements terminaux (l'acide phosphonique et l'amine) à la surface du carbone vitreux a été étudié dans une solution aqueuse contenant la sonde redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ (5 mM) et l'électrolyte KCl (0,1 M) à pH = 7. La sonde redox montre un effet bloquant dans les conditions utilisées car la charge totale de la surface est négative. D'un côté, l'amine se trouve sous la forme ammonium NH_3^+ , elle est donc incapable de compenser la double charge de la forme anionique PO_3^{2-} de l'acide phosphonique. De plus, les données XPS démontrent que le film est constitué de 20 % du composé ammonium et de 80 % du composé phosphonate.

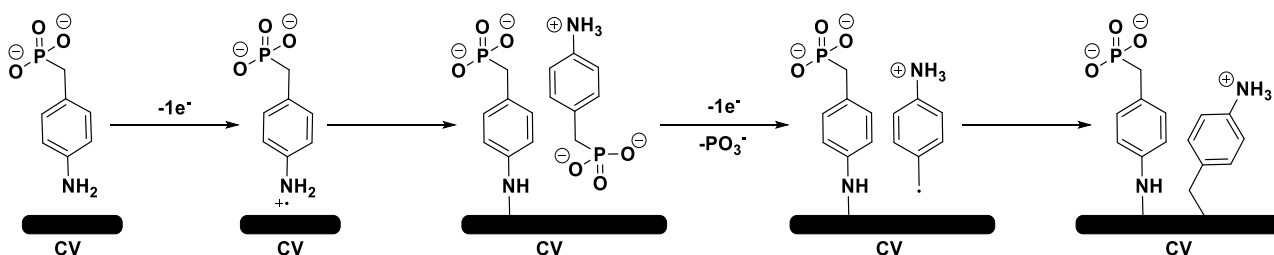


Schéma 2. 21 : Mécanisme de greffage de l'acide 1-amino-4-benzylphosphonique sur une surface de carbone vitreux par oxydation de l'amine et de la position benzylique.¹²²

Des amines aliphatiques peuvent également être immobilisées en milieu aqueux. Par exemple, Florence Geneste¹²³ et al ont réalisé la modification de la surface d'une électrode de feutre en graphite par oxydation anodique du 3-nitrobenzylamine (3,5 mM) (Schéma 2. 22 ; a) à courant constant égal à 1 A dans une solution tampon de phosphate à pH = 2,2 (NaH_2PO_4 0,25 M ; H_3PO_4 0,25 M). L'électrode modifiée a été caractérisée par voltammétrie cyclique dans une solution d'acide sulfurique (0,5 M) afin d'observer le système réversible du couple nitroso/hydroxylamine (NO/NHOH) situé à +0,33 V (vs ECS) après l'électroréduction du groupement nitro à -0,5 V (vs ECS) pour donner l'hydroxylamine sur la surface (Schéma 2. 22 ; b). Il a été démontré que le mécanisme implique soit une oxydation du graphite suivie d'une attaque nucléophile de l'amine (addition de Michael) sur une double liaison de la surface de carbone au voisinage d'un groupement électro-attracteur comme un carboxyle (Schéma 2. 22 ; c), soit un processus classique générant le radical cation par oxydation de l'amine.

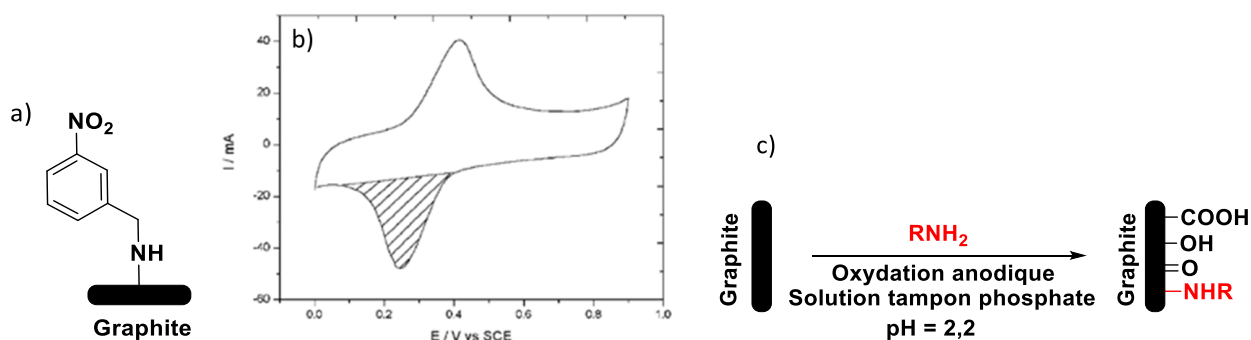


Schéma 2. 22 : a) Immobilisation du 3-nitrobenzylamine (3,5 mM) sur une surface de feutre en graphite. b) Réponse d'une électrode fonctionnalisée par le 3-nitrobenzylamine, réalisée par voltammétrie cyclique de +0 V à +0,9 V dans une solution de H_2SO_4 (0,5 M), $\nu = 100$ mV/s. Représentation du système réversible NO/NHOH après l'électroréduction

¹²³ Geneste, F.; Moinet, C., *New Journal of Chemistry* **2005**, 29, 269-271.

du groupement nitro à -0,5 V. c) Mécanisme impliquant une attaque nucléophile de l'amine sur une surface de feutre en graphite oxydé.¹²³

Geneste et al ont également immobilisé l' amino-TEMPO (5,8 mM)¹²³ (Schéma 2. 23 ; a) sur une surface de feutre en graphite par oxydation anodique dans les différentes solutions aqueuses présentées ci-dessous :

- La solution tampon de carbonate (0,5 M) à pH = 10,3 (Na₂CO₃ 0,25 M ; NaHCO₃ 0,25 M)
- Puis, la solution tampon de borate (0,5 M) à pH = 9,2 (H₃BO₃ 0,25 M ; H₂BO₃Na 0,25 M)
- Et enfin, une solution tampon de phosphate (0,5 M) à pH = 7,2 (NaH₂PO₄ 0,25 M ; Na₂HPO₄ 0,25 M)

L'oxydation anodique a été effectuée à un potentiel fixe choisi juste avant le système quasi-réversible du couple N=O⁺/NO· pour chaque solution aqueuse. La réponse de l'électrode modifiée indique un système plus réversible du couple N=O⁺/NO· par voltammétrie cyclique à 100 mV/s dans chacune des solutions aqueuses (Schéma 2. 23 ; c) comparé aux voltampérogrammes obtenus en solution montrant une faible intensité de la vague cathodique (Schéma 2. 23 ; b). L'irréversibilité du système serait due à l'oxydation de l'amine par les ions oxo-ammonium via un transfert intramoléculaire entre ces deux groupements. Contrairement au 3-nitrobenzylamine, le graphite n'a pas été oxydé durant le processus de greffage. Ainsi, l'addition nucléophile de l'amine n'est pas réalisable et seul le greffage conduisant à la formation du radical cation par l'oxydation de l'amine aromatique se produit.

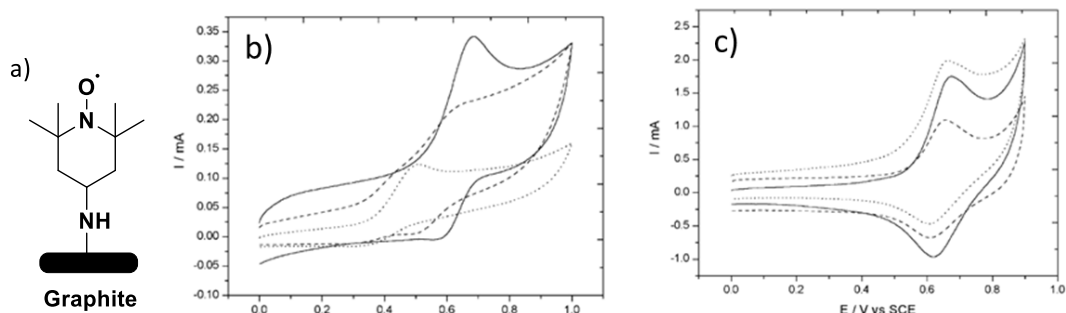


Schéma 2. 23 : a) Immobilisation de l' amino-TEMPO (5,8 mM) sur une surface de feutre en graphite. b) Étude électrochimique de l' amino-TEMPO par voltammétrie cyclique de +0 V à +1 V à pH = 7,2 (-), à pH = 10,3 (--), à pH = 9,2 (...), $v = 100$ mV/s. c) Réponse de l'électrode fonctionnalisée par l' amino-TEMPO, par voltammétrie cyclique de +0 V à +0,9 V à pH = 7,2 (-), à pH = 10,3 (--), à pH = 9,2 (...), $v = 100$ mV/s.¹²³

Le groupe de Geneste a proposé une autre expérience en milieu aqueux qui repose sur la modification d'une surface de PPF par oxydation anodique d'une amine aliphatique.¹²⁴ Cette fonctionnalisation de surface a été effectuée dans une solution tampon de carbonate (0,5 M) à pH = 10,3 (Na₂CO₃ 0,25 M ; NaHCO₃ 0,25 M) en réalisant deux électrolyses consécutives de 5 min et 30 min de l'acide 5-amino-pentanoïque (voie 1) et du méthyl-6-aminohexanoate qui a été saponifié après le greffage pour obtenir des groupements terminaux de type carboxylate (voie 2). La présence de ces linkers sur la surface a permis l'introduction d'un macrocycle azotée, le cyclame (Schéma 2. 24). Le taux de recouvrement de ces revêtements a été estimé par XPS et par voltammétrie cyclique montrant un maximum qui est atteint lors du greffage avec deux électrolyses consécutives ($T = 8 \times 10^{-12}$ mol/cm²) contrairement à l'électrolyse continue qui offre un faible taux de recouvrement ($T = 2 \times 10^{-12}$ mol/cm²). Ceci est dû à l'accumulation d'espèces physisorbées sur la surface qui empêchent le processus de greffage. Ils ont montré également que le greffage spontané de l'amine se produit

¹²⁴ Nasraoui, R.; Bergamini, J.-F.; Ababou-Girard, S.; Geneste, F., *Journal of Solid State Electrochemistry* **2011**, *15*, 139-146.

durant le processus électrochimique impliquant une addition de Michael¹²⁵ de l'amine sur la surface. Enfin, il a été démontré que le processus de greffage en milieu aqueux est moins efficace que celui réalisé en milieu organique car une trop faible quantité de radicaux aminyles sont électrogénérés à proximité de l'électrode.

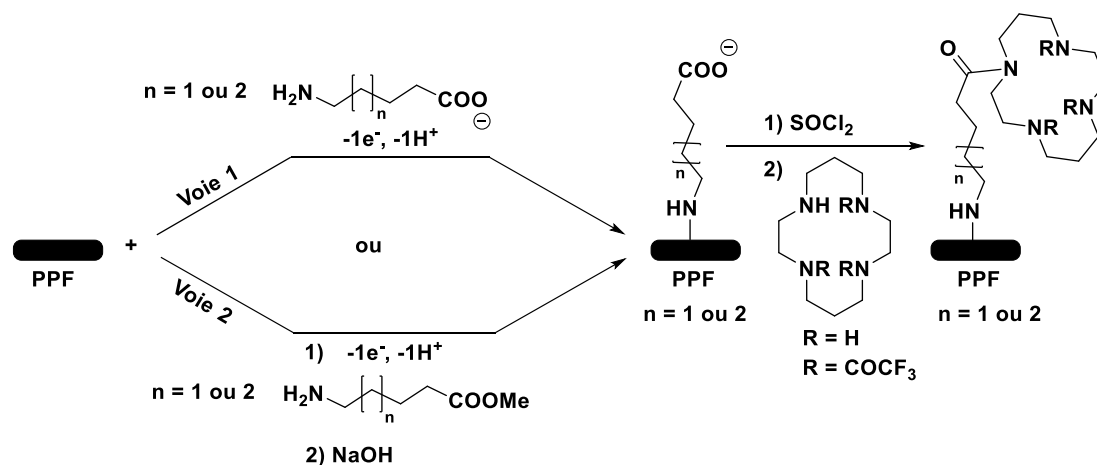


Schéma 2. 24 : Immobilisation d'un linker par oxydation d'une amine aliphatique sur une surface de PPF. Acylation de l'amine d'un macrocycle azoté par le chlorure d'acyle du linker greffé sur la surface de PPF.¹²⁴

L'équipe de Joohoon Ki¹²⁶ a étudié la fonctionnalisation d'une couche robuste d'un dendrimère poly (amidoamine) (PAMAM, 10 μM) sur une surface de carbone vitreux par oxydation électrochimique des fonctions amines terminales du dendrimère (Schéma 2. 25). Ainsi, la formation d'un revêtement de dendrimère a été suivie par voltammétrie cyclique à 10 mV/s dans une solution aqueuse contenant l'électrolyte LiClO₄ (0,1 M) décrivant une vague irréversible attribuée à l'oxydation de l'amine qui diminue dès le second balayage de potentiel. Les propriétés électrochimiques de ce revêtement ont été examinées en présence des sondes redox Ru(NH₃)₆^{2+/3+} et Fe(CN)₆^{3-/4-} dans l'acide sulfurique (0,1 M). Le dendrimère est alors chargé positivement dû à la protonation des amines en milieu acide empêchant la sonde redox Ru(NH₃)₆^{2+/3+} d'atteindre la surface de l'électrode en raison des répulsions électrostatiques. Ceci est caractérisé par l'effet bloquant obtenu par voltammétrie cyclique. Au contraire, le voltampérogramme de la sonde redox Fe(CN)₆^{3-/4-} reste inchangé par rapport à celui d'une électrode non modifiée. En effet, les charges de la sonde redox et du dendrimère sont opposées conduisant à des attractions électrostatiques permettant au couple redox Fe(CN)₆^{3-/4-} d'accéder à la surface de l'électrode.

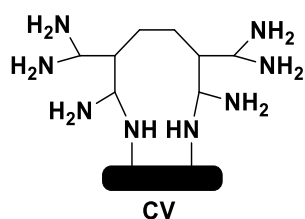


Schéma 2. 25 : Immobilisation d'un dendrimère poly (amidoamine) (PAMAM) sur une surface de carbone vitreux.¹²⁶

Claudia Yanez et al¹²⁷ ont présenté le greffage d'amino-β-cyclodextrine par oxydation de l'amine sur une surface de carbone vitreux en milieu aqueux. Tout d'abord, la surface du carbone vitreux a été soumise à un

¹²⁵ Buttry, D. A.; Peng, J. C. M.; Donnet, J.-B.; Rebouillat, S., *Carbon* **1999**, *37*, 1929-1940.

¹²⁶ Kim, T. H.; Choi, H. S.; Go, B. R.; Kim, J., *Electrochemistry Communications* **2010**, *12*, 788-791.

¹²⁷ Silva, K.; Marco, J. F.; Yañez, C., *Journal of The Electrochemical Society* **2019**, *166*, G75-G81.

prétraitement qui consiste à oxyder la surface par voltammétrie cyclique et par électrolyse, dans une solution d'acide sulfurique (0,5 M). Ensuite, le greffage électrochimique de l' amino- β -cyclodextrine (8 mM, avec une amine ou bien sept amines) a été effectué par voltammétrie cyclique à 50 mV/s dans une solution tampon de phosphate (0,1 M) à pH = 7. Le voltampérogramme montre une large vague irréversible correspondant à l'oxydation de l'amine au premier balayage de potentiel. Une diminution de l'intensité de la vague d'oxydation au deuxième balayage montre une passivation à l'électrode, caractéristique de la formation d'un revêtement sur la surface. Puis, l'électrode modifiée a été caractérisée dans une solution tampon de phosphate (0,1 M) à pH = 7 en présence du système redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$. Ainsi, ils ont démontré par voltammétrie cyclique que le transfert électronique entre la sonde redox et l'électrode était partiellement inhibé à cause de l'immobilisation de la cyclodextrine. La stabilité de la couche a été évaluée pour confirmer que l'attachement est dû à un greffage covalent et non à une physisorption. Les mesures XPS ont permis de caractériser la nature de la liaison entre l'amine et la surface de carbone oxydée, révélant que la cyclodextrine était liée à la surface par la formation d'une liaison amide (Schéma 2. 26).

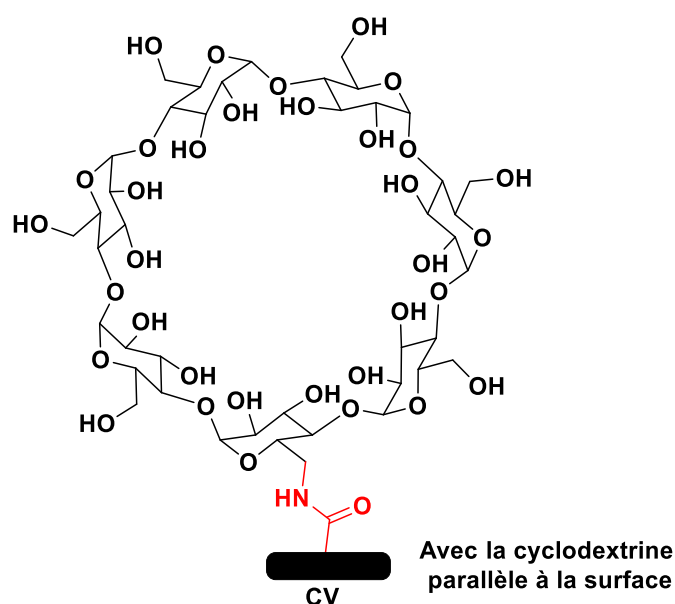


Schéma 2. 26 : Immobilisation d'une amino- β -cyclodextrine via la formation d'une liaison amide avec la surface de carbone vitreux oxydée.¹²⁷

Ainsi, la littérature a démontré qu'il était possible de greffer des amines aromatiques et aliphatiques sur une surface de carbone à partir d'une solution aqueuse. Pourtant, un électrogreffage réalisé en milieu aqueux est beaucoup plus complexe que s'il est effectué en milieu organique, même si les mécanismes semblent similaires.

5.2 Étude électrochimique du β -glucoside 5 en milieu aqueux

Par rapport à l'application antifouling, nous avons décidé de réaliser l'électrogreffage de nos composés dans un milieu qui se rapproche au maximum de l'environnement marin. Le choix de la solution de travail s'est donc porté sur l'eau de mer artificielle (ASW : Artificial Sea Water) à base de sels marins reconstitués (35 g/L) dissous dans l'eau ultra pure.

Le comportement électrochimique du β -glucoside 5 (1 mM) dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) a été étudié par voltammétrie cyclique de -0,3 V à +0,75 V à 100 mV/s pendant 3 cycles, à pH = 8,3 (Figure 2. 12).

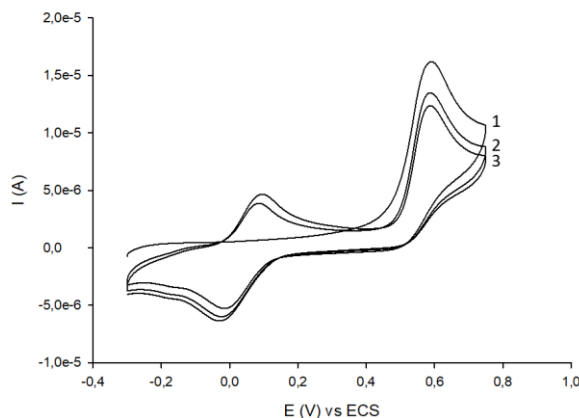


Figure 2. 12 : Réf : ECS ; ET : CV ; CE : Pt. Étude électrochimique du β -glucoside **5** (1 mM) par voltammétrie cyclique (3 cycles) de -0,3 V à +0,75 V dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), à pH = 8,3, $\nu = 100$ mV/s.

Lors du premier balayage du potentiel, le voltampérogramme (Figure 2. 12) montre une vague d'oxydation irréversible mono-électronique située à +0,59 V (vs ECS) correspondant à l'oxydation de l'amine aromatique. Lors du balayage retour et au deuxième balayage aller, un système réversible est obtenu à +0,035 V (vs ECS) et serait attribué à la *para*-aminodiphénylamine, un produit de couplage issu de l'oxydation de l'amine aromatique.

Un essai d'électrogreffage du β -glucoside **5** (1 mM) sur une surface de carbone vitreux a été effectué dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) à pH = 8,3 par voltammétrie cyclique de -0,3 V à +0,75 V pendant 10 cycles à 100 mV/s (Figure 2. 13).

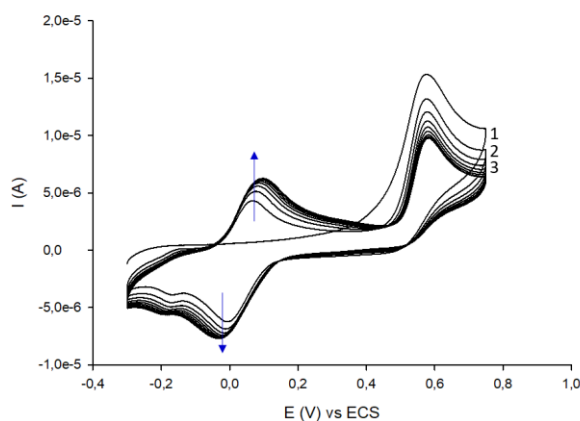


Figure 2. 13 : Réf : ECS ; ET : CV ; CE : Pt. Greffage du β -glucoside **5** (1 mM) sur une surface de carbone vitreux par voltammétrie cyclique (10 cycles) de -0,3 V à +0,75 V dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), à pH = 8,3, $\nu = 100$ mV/s.

Le voltampérogramme de la Figure 2. 13 ne montre pas de passivation à l'électrode au niveau de la vague d'oxydation de l'amine aromatique située à +0,58 V (vs ECS) bien que son intensité diminue avec le nombre de cycles. Au contraire, l'intensité du système réversible du produit de couplage situé à +0,03 V (vs ECS) augmente au cours des balayages successifs. Le produit de couplage devrait donc s'accumuler sur la surface de l'électrode, accompagné de la physisorption du β -glucoside **5**.

Ainsi, pour que le greffage puisse avoir lieu, les conditions expérimentales doivent être optimisées afin de réduire la quantité de produits de couplage et favoriser la formation du radical aminyle qui est la fonction chimique responsable d'un dépôt organique sur la surface.

5.3 Greffage du β -glucopyranoside 5 en milieu aqueux en présence de base

Dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), l'oxydation de l'amine aromatique conduit à la formation du produit de dimérisation (à +0,03 V vs ECS) qui provient de la réaction entre le radical cation et l'amine neutre correspondante. Or, la littérature a montré qu'il était possible de former le radical aminyle dans une solution aqueuse en se plaçant dans les conditions basiques.

À l'aide de la spectroscopie par résonance paramagnétique électronique (RPE), l'équipe de recherche de Ronald P. Mason¹²⁸ a étudié l'oxydation de la 4-éthoxyaniline catalysée par la peroxydase de Raifort et le peroxyde d'hydrogène dans une solution tampon de phosphate à pH = 7,5. La formation du radical cation de la 4-éthoxyaniline a été observée jusqu'à un pH = 8,5 et sa concentration est proportionnelle à la racine carrée de la concentration de la peroxydase. Cette dépendance peut être attribuée à la réaction de couplage entre deux radicaux cations pour donner le produit de dimérisation correspondant. Ainsi, au pH physiologique, la concentration du radical aminyle est très faible, voire inexistante. Par contre, lorsque la 4-éthoxyaniline est oxydée par du permanganate de potassium dans une solution tampon de phosphate/NaOH à pH = 12, l'espèce prédominante devient la base conjuguée du radical cation, c'est-à-dire le radical neutre 4-éthoxyphénazyle.

D'autre part, l'équipe de Gabor Merenyi¹²⁹ a effectué l'oxydation de différentes anilines *para*-substituées par une méthode de radiation chimique dans l'eau. Lors de cette étude, ils ont déterminé le potentiel de réduction du couple redox $XPhNH_2^+/XPhNH_2$ (vs ENH : électrode normale à hydrogène), le pKa du radical cation dans l'eau ainsi que l'énergie de dissociation de la liaison N-H. Ainsi, pour la *para*-anisidine dont la structure se rapproche de celle du β -glucoside 5, le pKa de son radical cation est de 9,6 dans l'eau et l'énergie de dissociation de la liaison N-H nécessaire à la déprotonation du radical cation en radical aminyle, calculée à partir du pKa et du potentiel de réduction, est de 365 kJ/mol. Étant donné que le pKa du radical cation de la *para*-anisidine est de 9,6 dans l'eau, cela signifie pour notre étude que l'espèce prédominante au pH = 8,3 est bien le radical cation du β -glucoside 5. Il est donc nécessaire d'augmenter le pH pour favoriser la formation du radical aminyle.

Ainsi, nous avons étudié le comportement électrochimique du β -glucoside 5 (1 mM) dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) en présence de différentes concentrations en hydroxyde de sodium (2 M), à l'aide d'une électrode de carbone vitreux par voltammétrie cyclique (représentation du 2^{ème} cycle) à 100 mV/s (Figure 2. 14).

¹²⁸ Fischer, V.; Harman, L. S.; West, P. R.; Mason, R. P., *Chemico-Biological Interactions* **1986**, 60, 115-127.

¹²⁹ Jonsson, M.; Lind, J.; Eriksen, T. E.; Merenyi, G., *Journal of the American Chemical Society* **1994**, 116, 1423-1427.

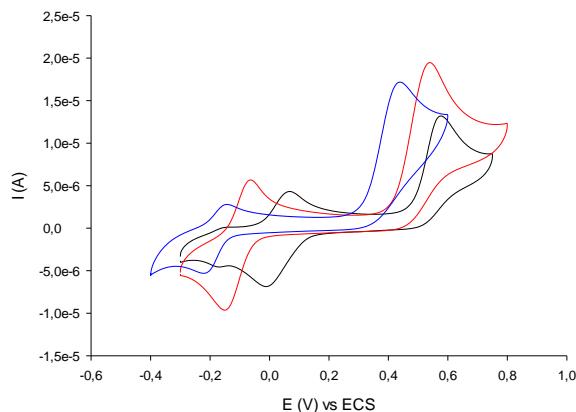


Figure 2. 14 : Réf : ECS ; ET : CV ; CE : Pt. Étude électrochimique du β -glucoside **5** dans une solution d'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) en présence de différentes concentrations en hydroxyde de sodium (2 M), réalisée par voltammétrie cyclique de -0,3 V à +0,75 V (0 eq de NaOH, pH = 8,3, courbe noire), de -0,3 V à +0,8 V (40 eq de NaOH, pH = 10,6, courbe rouge), de -0,4 V à +0,6 V (120 eq de NaOH, pH = 12,2, courbe bleue), $v = 100$ mV/s. Représentation du 2^{ème} cycle uniquement.

Lorsque 40 équivalents d'hydroxyde de sodium (2 M) sont ajoutés, le pH de la solution aqueuse est de 10,6. La présence de la base augmente l'intensité de la vague d'oxydation de l'amine d'un facteur 1,6 comparé à l'intensité de la vague d'oxydation initiale (facteur calculé sur le 2^{ème} cycle). De plus, le pic d'oxydation de l'amine s'est décalé de 40 mV vers des potentiels négatifs, il est désormais situé à +0,54 V (vs ECS). Cependant, l'intensité du système réversible du produit de couplage est légèrement plus élevée en présence d'hydroxyde de sodium pour le second balayage du potentiel signifiant que l'ajout de 40 équivalents d'hydroxyde de sodium (2 M) n'a eu aucune influence sur la formation du produit de couplage. Par contre, la présence de la base a décalé le système réversible du produit de couplage de 137 mV vers des potentiels négatifs, il est donc situé à -0,106 V (vs ECS).

En présence de 120 équivalents d'hydroxyde de sodium (2 M), le pH de la solution est de 12,2. L'intensité de la vague d'oxydation de l'amine est restée quasiment constante par rapport à celle obtenue en présence de 40 équivalents d'hydroxyde de sodium. Le décalage du potentiel du pic d'oxydation de l'amine est plus conséquent lorsque le pH passe de 10,6 à 12,2. En effet, la vague d'oxydation de l'amine s'est déplacée de 100 mV vers des potentiels négatifs, elle est donc située à +0,44 V (vs ECS). Quant au système réversible du produit de couplage, il s'est déplacé de 70 mV vers des potentiels cathodiques et son intensité a diminué d'un facteur 0,55 par rapport à celle obtenue avec 40 équivalents d'hydroxyde de sodium (facteur calculé pour le 2^{ème} cycle).

L'utilisation de la base ne permet donc pas d'empêcher la formation du produit de couplage mais les conditions expérimentales à pH = 12 permettent de réduire sa quantité.

Ainsi, l'immobilisation du β -glucoside **5** (1 mM) sur l'électrode de carbone vitreux a été réalisée par voltammétrie cyclique de -0,4 V à +0,6 V pendant 10 cycles à 100 mV/s dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) en présence de 120 équivalents d'hydroxyde de sodium (2 M) à pH = 12,2 (Figure 2. 15).

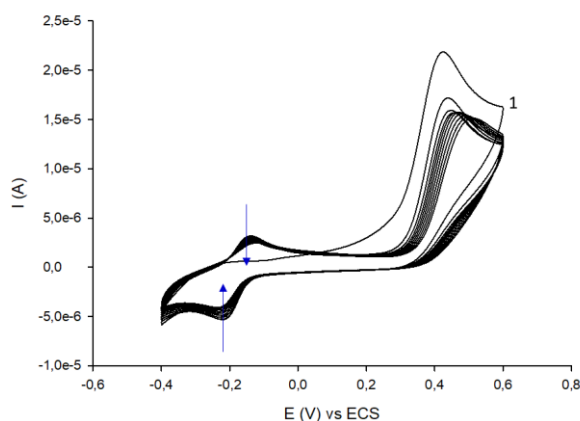


Figure 2. 15 : Réf : ECS ; ET : CV ; CE : Pt. Greffage du β -glucoside **5** (1 mM) sur une surface de carbone vitreux par voltammétrie cyclique (10 cycles) de -0,4 V à +0,6 V dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) en présence d'hydroxyde de sodium (120 eq, 2M), à pH = 12,2, $v = 100$ mV/s.

Le voltampérogramme de la Figure 2. 15 montre que l'intensité de la vague d'oxydation diminue progressivement au cours des balayages successifs du potentiel jusqu'à la passivation de l'électrode. Cela signifie que le β -glucoside **5** se dépose sur la surface de l'électrode de carbone vitreux grâce à la formation du radical aminyle. Quant au produit de couplage, il reste toujours présent dans le milieu même si son intensité a diminué d'un facteur 0,75 entre le 1^{er} et le 10^{ème} cycle.

D'un point de vue électrochimique, nous avons montré que le β -glucoside **5** peut se greffer sur la surface de carbone vitreux à pH = 12 en présence de 120 équivalents d'hydroxyde de sodium (2 M). En effet, ces conditions expérimentales permettent de minimiser la quantité du produit de couplage et de favoriser la formation du radical aminyle. Cependant, cette étude électrochimique n'est pas complète. La surface modifiée mériterait d'être analysée par XPS afin de confirmer la présence du composé sur la surface ainsi que par AFM, afin de mesurer l'épaisseur de la couche formée. De plus, l'effet bloquant de l'électrode modifiée n'a pas été étudié dans une solution contenant une sonde redox. Cette étude sera donc présentée dans la partie suivante en prenant comme exemple le greffage électrochimique du 4-aminophényl- β -D-lactoside **11**.

6 Étude complémentaire : greffage du 4-aminophényl- β -D-lactoside **11** sur une surface de carbone vitreux en milieu aqueux en présence de base

Dans cette partie, nous allons nous intéresser à l'immobilisation du 4-aminophényl- β -D-lactoside **11** sur une surface de carbone vitreux dans une solution d'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) en présence de base (Schéma 2. 27). Puis, dans un second temps, nous allons étudier l'effet bloquant de l'électrode modifiée dans une solution contenant une sonde redox.

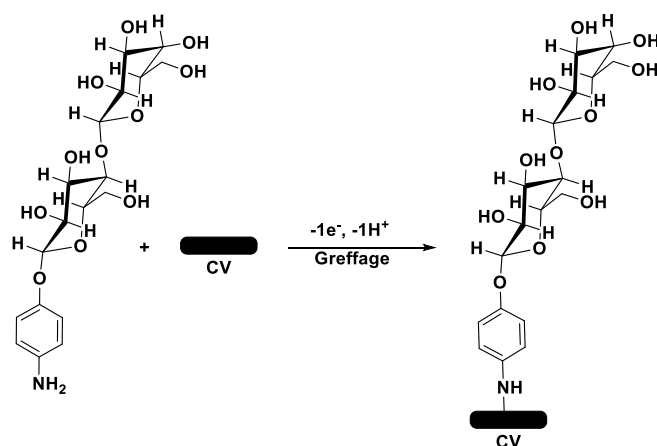


Schéma 2. 27 : Greffage du 4-aminophényl-β-D-lactoside **11** sur une surface de carbone vitreux par oxydation de l'amine aromatique.

6.1 Synthèse du 4-aminophényl-β-D-lactoside **11**

Le 4-aminophényl-β-D-lactoside **11** a été synthétisé en quatre étapes à partir du D-lactose **7** (Schéma 2. 28). Dans un premier temps, une peracétylation suivie d'une monobromation ont été effectuées sur le D-lactose **7** avec un rendement de 78 %. La réaction de Koenigs-Knorr entre le lactose peracétylé bromé **8** et le 4-nitrophénol en présence du carbonate d'argent conduit à la formation du β-lactoside acétylé **9** avec un rendement de 46 %. La déprotection des fonctions hydroxyle a été réalisée en présence de méthanolate de sodium pour donner le β-lactoside **10** avec un rendement de 93 %. Enfin, l'hydrogénation du groupement nitro en présence de l'hydroxyde de palladium sur charbon (20 % m) dans un mélange MeOH : H₂O (1 : 1) conduit à l'amine correspondante **11**.

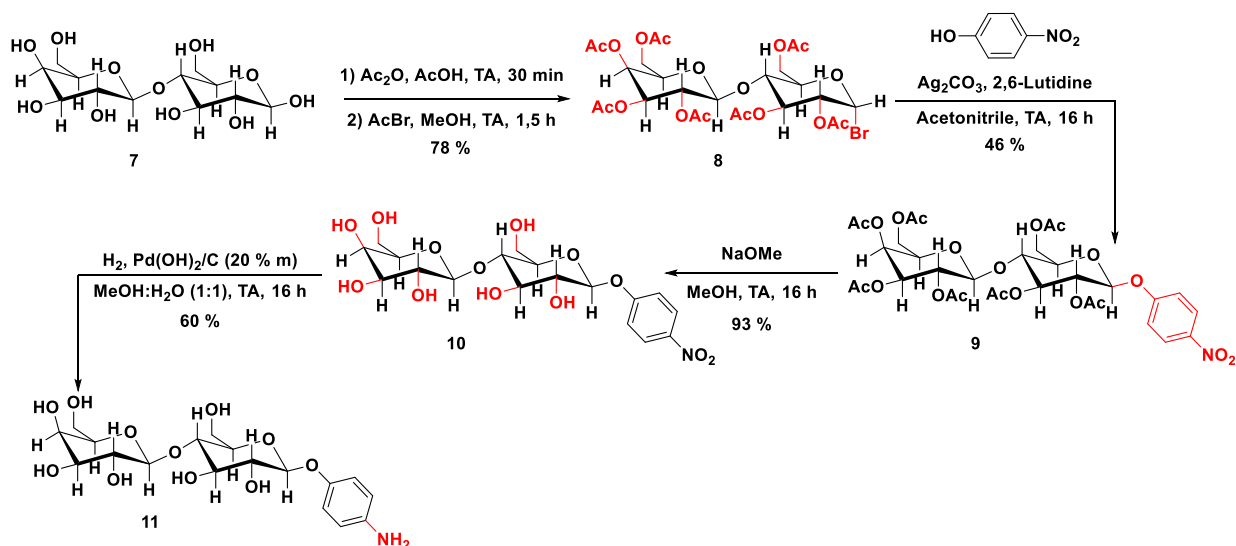


Schéma 2. 28 : Synthèse du 4-aminophényl-β-D-lactoside **11**.

6.2 Greffage du β -D-lactoside **11** sur une surface de carbone vitreux

Le comportement électrochimique du β -lactoside **11** a été étudié à l'aide d'une électrode de carbone vitreux par voltammétrie cyclique de -0,3 V à +0,75 V à 100 mV/s pendant 5 cycles dans une solution d'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), à pH = 8,3 (Figure 2. 16).

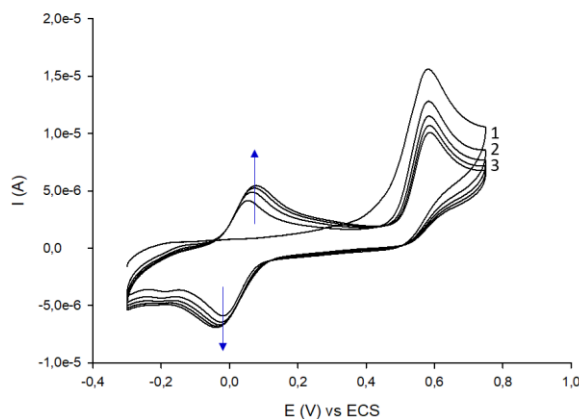


Figure 2. 16 : Réf : ECS ; ET : CV ; CE : Pt. Étude électrochimique du β -lactoside **11** (1 mM) dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), réalisée par voltammétrie cyclique (5 cycles) de -0,3 V à +0,75 V, à pH = 8,3, $v = 100$ mV/s.

Lors du premier balayage du potentiel, le voltampérogramme (Figure 2. 16) montre une vague d'oxydation irréversible mono-électronique à +0,58 V (vs ECS) qui correspond à l'oxydation de l'amine aromatique. Lors du balayage retour du potentiel et au second balayage aller, un système réversible apparaît à +0,02 V (vs ECS) et serait attribué à la formation d'un produit de couplage dont la structure moléculaire équivaldrait à une *para*-aminodiphénylamine. De plus, l'intensité de ce système réversible augmente au cours des balayages successifs signalant que le produit de dimérisation s'accumule sur la surface de l'électrode.

Dans la partie précédente, nous avons conclu qu'il fallait se placer à pH = 12 pour réduire au maximum la quantité du produit de couplage formé au contact de l'électrode. Ainsi, l'électrogreffage du β -lactoside **11** sur une surface de carbone vitreux a été réalisé par voltammétrie cyclique de -0,3 V à +0,75 V pendant 10 cycles à 100 mV/s dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) en présence de 120 équivalents d'hydroxyde de sodium (2 M) à pH = 12,2 (Figure 2. 17).

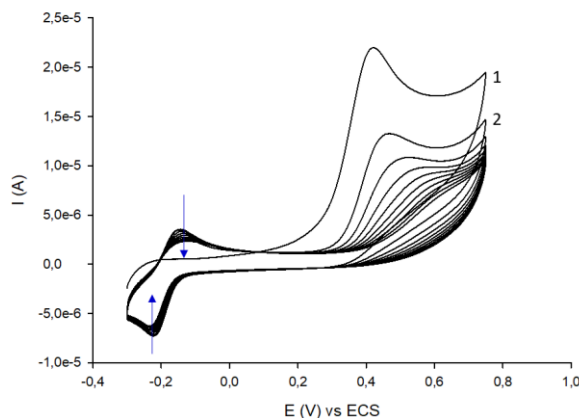


Figure 2. 17 : Réf : ECS ; ET : CV ; CE : Pt. Greffage du β -lactoside **11** (1 mM) sur une surface de carbone vitreux par voltammétrie cyclique (10 cycles) de -0,3 V à +0,75 V dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) en présence d'hydroxyde de sodium (120 eq, 2M), à pH = 12,2, $v = 100$ mV/s.

Le voltampérogramme (Figure 2. 17) montre un déplacement de la vague d'oxydation de l'amine aromatique de 157 mV vers des potentiels négatifs comparé à la vague d'oxydation de l'amine obtenue en l'absence de base (calcul pour le premier cycle). Ainsi, pour le premier cycle, le pic d'oxydation est situé à +0,42 V (vs ECS) et son intensité a augmenté d'un facteur 1,4. Puis, une diminution progressive de l'intensité de la vague d'oxydation de l'amine est observée au cours des balayages successifs du potentiel jusqu'à atteindre la passivation de l'électrode. Ceci indique que le β -lactoside **11** se dépose sur la surface de carbone vitreux grâce à la formation du radical aminyle.

Le produit de couplage est toujours présent dans le milieu mais l'intensité de son système réversible a diminué d'un facteur 0,77 au cours des 10 cycles. De plus, le système réversible s'est déplacé de 206 mV vers des potentiels cathodiques comparé au système réversible obtenu en l'absence de base. Il est donc situé à -0,189 V (vs ECS) en présence de 120 équivalents de base.

L'électrode modifiée a été rincée puis nettoyée aux ultrasons dans l'eau ultra pure pendant 10 min. Puis, elle a été transférée dans une cellule d'étude contenant de l'eau ultra pure en présence de l'électrolyte KCl (0,1 M) et de la sonde redox $K_3[Fe(CN)_6]$ (5 mM)/ $K_4[Fe(CN)_6]$ (5 mM) pour y être analysée par voltammétrie cyclique de -0,3 V à +1 V pendant 3 cycles à 100 mV/s (Figure 2. 18 ; courbe noire). Elle sera également comparée à une l'électrode fraîchement polie (Figure 2. 18 ; courbe rouge).

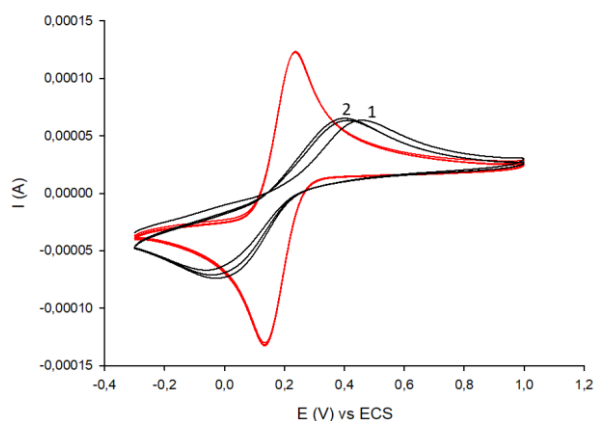


Figure 2. 18 : Réf : ECS ; ET : CV ; CE : Pt. Réponse de l'électrode modifiée (courbe noire) comparée à une électrode de carbone vitreux vierge (courbe rouge) par voltammétrie cyclique de -0,3 V à +1,0 V (3 cycles) dans une solution d'eau ultra pure contenant l'électrolyte KCl (0,1 M) en présence de $K_3[Fe(CN)_6]$ (5 mM) et $K_4[Fe(CN)_6]$ (5 mM), $v = 100$ mV/s.

Le voltampérogramme de l'électrode fraîchement polie (Figure 2. 18 ; courbe rouge) montre un système réversible situé à +0,186 V (vs ECS) avec un écart pic à pic de $\Delta E = 101$ mV qui correspond à la sonde redox $K_3[Fe(CN)_6]$ (5 mM)/ $K_4[Fe(CN)_6]$ (5 mM). Le voltampérogramme de l'électrode modifiée (Figure 2. 18 ; courbe noire) montre un système réversible plus déformé caractérisé par une diminution de l'intensité et un élargissement des vagues d'oxydation et de réduction conduisant à un aplatissement du système. Le système réversible de la sonde redox est donc situé à +0,183 V (vs ECS) et son écart pic à pic est de $\Delta E = 443$ mV (mesure réalisée sur le second cycle). Ces résultats indiquent donc une augmentation de la résistance du transfert de charge provoquée par la présence d'une couche organique isolante sur la surface de l'électrode.

Dans cette partie, nous avons montré le greffage du β -lactoside **11** sur une surface de carbone vitreux en se plaçant à pH = 12 pour favoriser la formation du radical aminyle. En effet, une passivation de l'électrode au cours des balayages successifs a été obtenue et l'électrode modifiée a montré qu'elle pouvait inhiber partiellement le transfert électronique entre la sonde redox et l'électrode. Ces deux résultats justifient donc le dépôt d'une couche organique constitué de β -lactoside **11** sur la surface de carbone vitreux.

7 Conclusion

L'objectif de ce chapitre était de proposer une procédure alternative pour l'électrogreffage de glucides sur une surface de carbone vitreux par oxydation de l'amine aromatique dans les milieux organiques et aqueux.

Tout d'abord, l'immobilisation du β -glucopyranoside **5** sur une surface de carbone vitreux dans l'acétonitrile a été présentée. L'oxydation d'une amine aromatique est complexe puisqu'elle mène à la formation de produits de dimérisation comme la *para*-aminodiphénylamine issue d'une réaction de couplage entre le radical cation et l'amine neutre. Ces réactions secondaires défavorisent la formation du radical aminyle qui est l'espèce responsable de l'attachement d'une couche organique sur la surface.

La déprotonation du radical cation pour donner naissance au radical aminyle est l'étape cinétiquement déterminante. Elle est défavorisée par la faible acidité du radical cation qui dépend du substituant en para de l'aniline. La formation du radical aminyle peut être facilitée par l'utilisation d'une base azotée capable de déprotoner irréversiblement le radical cation au contact de l'électrode. Dans ces nouvelles conditions expérimentales, le greffage est donc possible. En effet, l'addition de la collidine dans la solution de β -glucopyranoside **5** a montré un phénomène de passivation de l'électrode dès le second balayage du potentiel

justifiant l'attachement du β -glucopyranoside **5** sur la surface de carbone vitreux. Cette fonctionnalisation de surface a été confirmée par des mesures d'angle de contact, des analyses AFM et XPS ainsi que par voltammétrie cyclique.

Dans une seconde partie, les électrogreffages du β -glucopyranoside **5** et du β -lactoside **11** sur une surface de carbone vitreux ont été effectués dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), une procédure verte employée dans le cadre d'une application antifouling. La formation de produits de couplage semble inévitable en milieu aqueux mais elle peut être réduite pour favoriser le greffage des composés. En effet, d'après la littérature, la formation du radical aminyle est prédominante à pH = 12 en présence d'une base forte. L'utilisation de ces conditions expérimentales conduit donc à la passivation de l'électrode. L'étude de l'électrode modifiée dans une solution aqueuse contenant les ions $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ a permis de confirmer le dépôt d'une organique sur la surface grâce à l'effet bloquant de l'électrode. Cependant, des analyses AFM et XPS devront compléter les études électrochimiques afin de mieux comprendre le greffage en eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L).

Le chapitre 3 se focalisera sur le greffage d'un matériau électrostimulable constitué d'un β -glucopyranoside **5** relié à une unité ferrocène par un lien triazole. Le greffage de ce matériau sera réalisé en milieux organiques et aqueux. De plus, la stabilité de la couche organique sera contrôlée en milieu aqueux sur une période de 14 h avec ou sans stimulation électrique. Enfin, l'activité anti-adhésion bactérienne de ce revêtement sera évaluée en présence d'une souche de bactéries marines TC8.

CHAPITRE 3

Chapitre 3 : Électrogreffage d'un glucide présentant une sonde électro-active

1 Introduction

Dans ce chapitre, nous allons nous intéresser à l'immobilisation d'un glucose, possédant une sonde électro-active tel que le ferrocène, sur une surface de carbone vitreux afin de l'utiliser pour des applications antifouling.

Dans un premier temps, nous allons discuter des différentes propriétés antifouling que nous souhaitons développer au sein du composé grâce à l'utilisation de différents groupements qui auront chacun des propriétés de surface bien spécifiques.

Ensuite, nous présenterons la synthèse et l'immobilisation d'un complexe aminoferrocène-glucose **15** sur une surface de carbone vitreux par oxydation directe ou indirecte de l'amine aromatique en milieu organique. La structure moléculaire de ce composé **15** est particulièrement intéressante et assez atypique : elle fera donc l'objet d'une étude RMN¹H et de diffraction des rayons X.

Puis, nous mettrons en avant différents essais de greffage en milieu aqueux et la stabilité de la couche organique immobilisée sur la surface sera étudiée. Enfin, l'activité antibactérienne du revêtement aminoferrocène-glucose **15** sera évaluée dans une microplaque de 96 puits en présence de la souche bactérienne marine TC8, avec ou sans application d'un potentiel électrique (Schéma 3. 1).

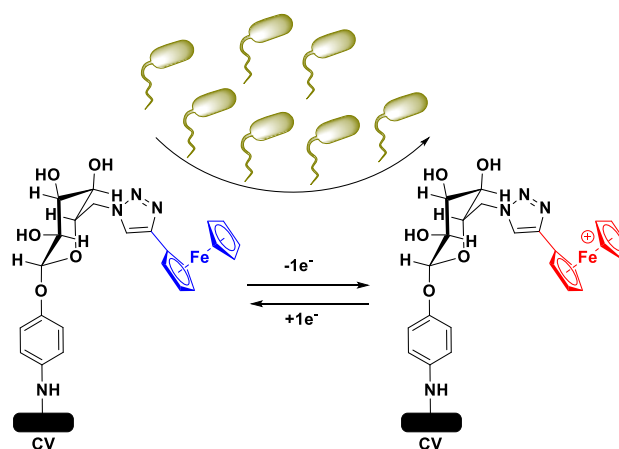


Schéma 3. 1 : Représentation schématique de l'activité antibactérienne du complexe aminoferrocène-glucose **15** lors d'une stimulation électrique.

2 Choix du 4-Aminophényl-6-(4-ferrocényl-1H-1,2,3-triazol-1yl)-6-deoxy-β-D-glucoyranoside **15** pour une application antifouling

L'objectif est de développer un revêtement capable d'intervenir dans les premières étapes du biofouling, c'est-à-dire qu'il devra à la fois empêcher ou réduire la formation du film conditionnant constitué de macromolécules et perturber l'adhésion des bactéries marines afin de retarder l'installation du biofilm. Pour cela, une sonde électro-active a été ajoutée au glucofénylamine **5** présenté dans le chapitre 2 et notre choix s'est porté sur le ferrocène. La molécule présentera donc trois fonctionnalités avec des modes d'action différents (Schéma 3. 2). La présence d'une sonde électro-active (le ferrocène) permettra la modification de

l'état de charge de la surface lors d'une stimulation électrique par un balayage de potentiel afin de défavoriser l'adhésion de la bactérie sur la surface. Le glucide représente la région polaire et hydrophile de la molécule capable de s'entourer d'une couche d'hydratation afin de repousser les protéines de la surface. Enfin, l'amine représente la fonction d'accroche, c'est grâce à elle que la molécule peut se greffer de façon covalente sur la surface.

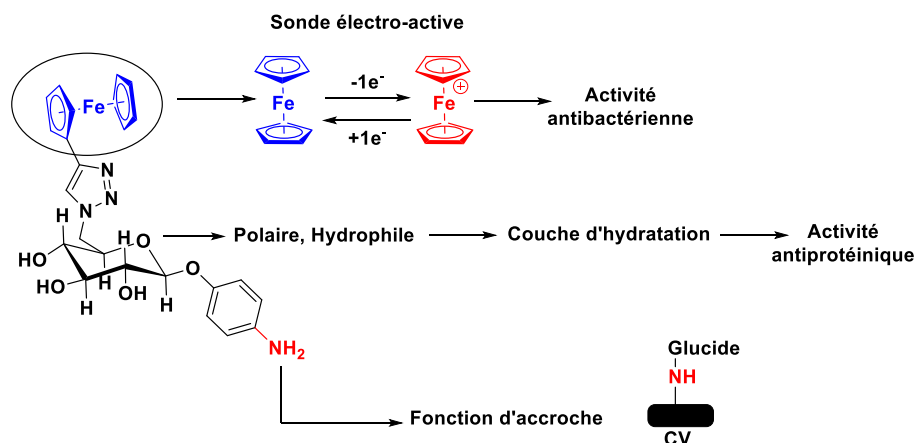


Schéma 3. 2 : Présentation des différentes propriétés antifouling du complexe aminoferrocène-glucose 15.

Le choix du linker pour la connexion entre la sonde électro-active et le glucide s'est tourné vers le 1,2,3-triazole, un hétérocycle très utilisé dans la chimie médicinale. La cycloaddition 1,3-dipolaire, appartenant à la chimie clic, a l'avantage d'utiliser des conditions douces avec des rendements élevés. La synthèse d'un glucide avec un azoture pourrait servir de plateforme pour introduire des composés électro-actifs autres que le ferrocène.

2.1 Choix du ferrocène (Fc) comme sonde électro-active

2.1.1 Généralités sur les applications du ferrocène

Le ferrocène a reçu une certaine attention dans le domaine médical et celui des pesticides afin de modifier et d'améliorer l'efficacité des produits commerciaux ou candidats (Schéma 3. 3).

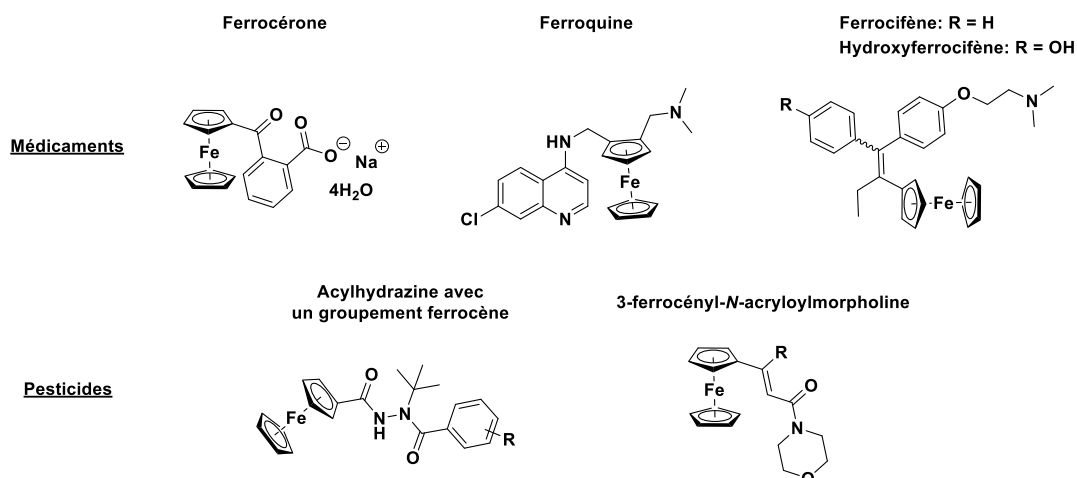


Schéma 3. 3 : Structures chimiques de molécules médicinales ou de pesticides contenant un groupement ferrocényle.

Bien qu'elle ne soit plus disponible sur le marché, la ferrocérone fut le premier médicament à base de ferrocène à être approuvé pour un usage médical afin de traiter l'anémie dans l'ex-URSS dans les années 1970. La ferroquine, un dérivé de la chloroquine, a été conçue en 1994 par l'équipe de Christophe Biot à l'Université de Lille pour le traitement de la malaria.¹³⁰ Quant à l'hydroxyferrocifène, il exerce un effet antiprolifératif contre les cancers du sein hormono dépendant et hormono indépendant.¹³¹ Les acylhydrazines avec une unité ferrocène appartiennent à une nouvelle classe de régulateurs de croissance des insectes et ont montré une excellente activité larvicide contre le *Spodoptera eridania*.¹³² Enfin, les ferrocényl-*N*-acryloylmorpholines ont montré de très bonnes activités antifongiques.¹³³

2.1.2 Application d'un potentiel électrique sur le ferrocène pour des applications antifouling

2.1.2.1 Rôle du ferrocène dans la stérilisation électrochimique

Matsunaga a poursuivi ses travaux sur la stérilisation électrochimique et son objectif était d'éviter la formation de substances toxiques comme le chlore qui a lieu à des potentiels élevés. Ainsi, il a proposé d'utiliser des dérivés du ferrocène comme médiateur redox pour abaisser le potentiel de stérilisation. Par exemple, l'application d'un potentiel à +0,2 V (vs ECS) pendant 10 min à l'aide d'une électrode de graphite modifiée avec du ferrocène adsorbé a détruit 99 % des bactéries marines à gram négatif *Vibrio alginolyticus*.¹³⁴ Dans ce cas, le ferrocène est utilisé en tant que médiateur redox afin d'abaisser le potentiel d'oxydation du coenzyme A, conduisant à une diminution de l'activité respiratoire et donc à la mort cellulaire. Pour confirmer que la stérilisation électrochimique est bien due à la réduction du cation ferrocénium, Matsunaga a introduit la bactérie *Escherichia coli* dans une solution contenant l'acide ferrocénoïque dans son état réduit puis dans son état oxydé.¹³⁵ Le taux de survie de la bactérie est resté stable, supérieur à 90 % lorsque l'acide ferrocénoïque est dans son état réduit, signifiant que le dérivé ferrocényle n'est pas toxique pour la bactérie. Par contre, le taux de survie est de seulement 21 % lorsque la bactérie est au contact de la forme oxydée de l'acide ferrocénoïque, confirmant bien l'hypothèse énoncée ci-dessus.

Une autre étude a été menée par l'équipe de Shiyun Ai sur la désinfection de l'eau potable par un traitement électrochimique à l'aide d'une électrode de graphite modifiée par des nanocomposites de chitosane/nanotubes de carbone à multi-parois/dendrimères de poly (amidoamine)/ferrocène (Schéma 3. 4).¹³⁶ Ils démontrent que les bactéries *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* deviennent totalement inactives en appliquant un potentiel égal à +0,4 V (vs ECS) pendant 10 min, ce qui correspond au potentiel d'oxydation du ferrocène. Cette étude confirme également que la forme oxydée du ferrocène, générée à l'électrode, a la capacité de tuer les micro-organismes par oxydation de la coenzyme A. Cependant, ils ont démontré un changement de la morphologie et de la structure des cellules à l'aide de la microscopie électronique à transmission (MET).

¹³⁰ Biot, C.; Glorian, G.; Maciejewski, L. A.; Brocard, J. S.; Domarle, O.; Blampain, G.; Millet, P.; Georges, A. J.; Abessolo, H.; Dive, D.; Lebib, J., *Journal of Medicinal Chemistry* **1997**, *40*, 3715-3718.

¹³¹ Patra, M.; Gasser, G., *Nature Reviews Chemistry* **2017**, *1*, 0066.

¹³² Runqiu, H.; Qingmin, W., *Journal of Organometallic Chemistry* **2001**, *637-639*, 94-98.

¹³³ Chen, P.; Liu, C.; Hu, J.; Zhang, H.; Sun, R., *Journal of Organometallic Chemistry* **2018**, *854*, 113-121.

¹³⁴ Okochi, M.; Matsunaga, T., *Electrochimica Acta* **1997**, *42*, 3247-3250.

¹³⁵ Okochi, M.; Nakamura, N.; Matsunaga, T., *Electrochimica Acta* **1999**, *44*, 3795-3799.

¹³⁶ Shang, K.; Qiao, Z.; Sun, B.; Fan, X.; Ai, S., *Journal of Solid State Electrochemistry* **2013**, *17*, 1685-1691.

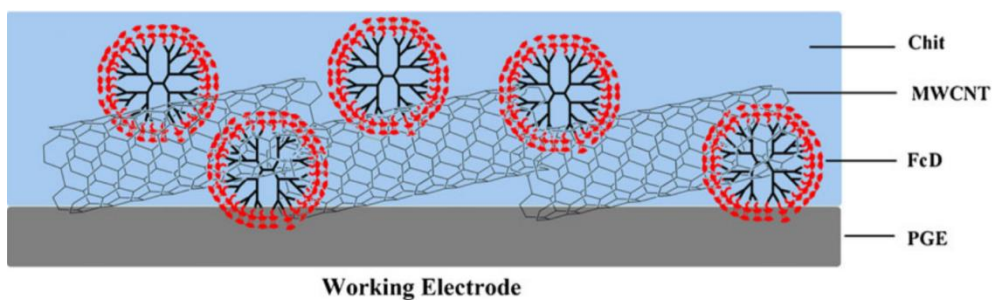


Schéma 3. 4 : Illustration de l'électrode de graphite modifiée par des nanocomposites de chitosane/nanotubes de carbone à multi-parois/dendrimères de poly(amidoamine)/ferrocène.¹³⁶

2.1.2.2 Modification de l'état de surface par stimulation électrique du ferrocène

Une autre stratégie pour lutter contre le phénomène d'adhésion est d'utiliser les propriétés redox d'un film déposé sur la surface afin de modifier les propriétés d'interfaces telles que la densité de charge, la mouillabilité et la rigidité du matériau.¹³⁷

Par exemple, une multicouche de polyélectrolytes (MPEs) a été préparée par auto-assemblage de couches successives de polycations basés sur de la poly(éthylène imine) modifiée par des unités ferrocènes (PEI-Fc), et de polyanions constitués d'ADN. L'application d'un potentiel électrique sur le ferrocène permet de moduler la rigidité de la multicouche afin de contrôler les interactions entre les cellules et le substrat (Schéma 3. 5).¹³⁸ En effet, une cellule a tendance à adhérer et à s'étaler sur une surface rigide alors qu'elle adopte une forme ronde sur une surface molle.

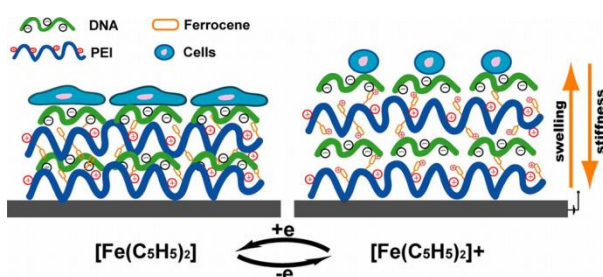


Schéma 3. 5 : Représentation de l'adhésion cellulaire sur une multicouche (PEI-Fc/ADN). Gonflement et rétrécissement de la multicouche en fonction du traitement électrochimique appliqué sur le ferrocène.¹³⁸

L'interconversion entre l'état Fe(II) et Fe(III) entraîne une transition électrique du ferrocène conduisant à une variation de la densité de charge de l'environnement ainsi qu'à une modification de la structure et de la force ionique de la multicouche. En effet, lors de l'oxydation du ferrocène, la multicouche gonfle alors qu'elle se rétrécit lors de la réduction. Le phénomène de gonflement/rétrécissement de la multicouche est dû, dans un premier temps, à l'introduction et à la libération des contre-ions pour conserver l'électroneutralité au sein de la multicouche. Puis, par la suite, il est également causé par l'absorption et la libération des molécules d'eau au sein de la couche à cause de la pression osmotique. Au fur et à mesure des cycles, l'épaisseur de la multicouche augmente, possiblement due à une rupture des interactions électrostatiques entre les polyanions et les polycations.

¹³⁷ Song, J.; Vancso, G. J., *Langmuir* **2011**, *27*, 6822-6829.

¹³⁸ Sun, Y.-x.; Ren, K.-f.; Wang, J.-l.; Chang, G.-x.; Ji, J., *ACS Applied Materials & Interfaces* **2013**, *5*, 4597-4602.

L'oxydation électrochimique du ferrocène à un potentiel constant diminue le module élastique qui peut être contrôlé par le temps de polarisation tandis que la topographie de la multicouche est conservée au cours du traitement électrochimique.

L'adhésion cellulaire de fibroblastes NIH/3T3 a été évaluée sur la multicouche à l'état réduit et à l'état oxydé, après le traitement électrochimique afin d'éviter l'influence du potentiel électrique sur les cellules (Figure 3. 1). Ainsi à l'état réduit du ferrocène, les cellules adhèrent à la multicouche avec une surface d'étalement importante contrairement à l'état oxydé où les cellules apparaissent sous une forme ronde avec une densité plus faible. Ces résultats montrent que l'adhésion cellulaire peut être facilement contrôlée à partir d'un traitement électrochimique modifiant la rigidité de la surface.

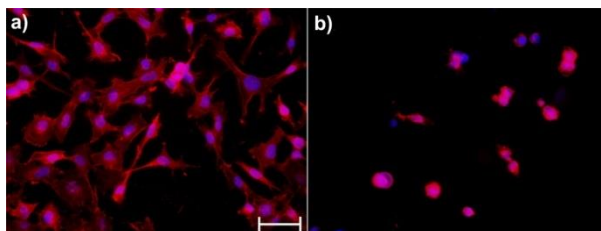


Figure 3. 1 : Adhésion de fibroblastes NIH/3T3 sur une multicouche (PEI-Fc/ADN) se trouvant dans son état réduit (a) et dans son état oxydé (b). La F-actine est colorée en rouge et le noyau des cellules est coloré en bleu.¹³⁸

Une série d'homopolymères méthacryliques incorporant des groupements ferrocényles (pFMOEMA, pFMOPMA, pFMMA) (Schéma 3. 6) ont été étudiés en tant que revêtements antibactériens.¹³⁹ Pour cela, chaque polymère a été déposé dans les puits d'une microplaque, chacun des puits contenant une cellule électrochimique à trois électrodes (Réf: Ag/AgCl; ET: C; CE: C) reliée à un potentiostat. Tous les voltampérogrammes des polymères testés montrent une augmentation de l'intensité du courant du pic d'oxydation du ferrocène en cation ferrocénium, situé à 434 mV (vs Ag/AgCl), durant les premiers cycles de balayage (de +0,25 V à +0,7 V vs Ag/AgCl, à 25 mV/s). Cette augmentation peut être interprétée par une diffusion progressive de l'électrolyte à l'interface polymère-électrode, améliorant la mobilité des groupements ferrocényles et le nombre de leurs espèces oxydées. De plus, la faible température de transition vitreuse des polymères pFMOEMA et pFMOPMA donne une meilleure flexibilité des chaînes permettant aux groupements ferrocényles de se rapprocher de la surface de l'électrode afin d'être plus facilement oxydés et réduits.

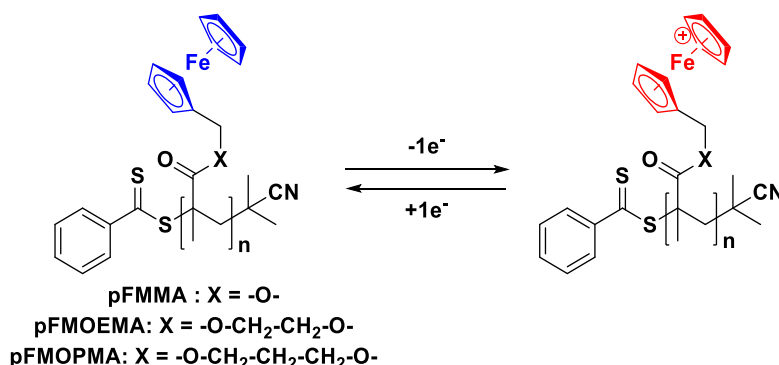


Schéma 3. 6 : Structure des homopolymères méthacryliques basés sur des groupements ferrocényles dans leur état réduit et dans leur état oxydé.¹³⁹

¹³⁹ Nguema Edzang, R.; Duong, T. H.; Briand, J.-F.; Lejars, M.; Raimundo, J.-M.; Bressy, C.; Brisset, H., *Biofouling* **2019**, *34*, 1055-1063.

L'activité anti-adhésion de ces polymères électro-actifs a été évaluée en présence de la souche bactérienne *Pseudoalteramonas lipolytica* TC8. Ces polymères déposés au fond de chaque puits ont été soumis à une stimulation électrique par voltammétrie cyclique pendant 15 h au contact des bactéries marines. Une diminution de l'intensité du courant a été observée au fur et à mesure des cycles et serait due au phénomène de gonflement/rétrécissement du polymère pendant l'oxydation et la réduction. En effet, le gonflement du polymère rend l'oxydation du groupement ferrocène plus difficile dû à son éloignement de la surface de l'électrode, entraînant ainsi une baisse de l'intensité.

Les polymères dans leur état neutre sont déjà capables de réduire l'adhésion des bactéries marines TC8 de 20 à 40 % par rapport à la référence, le polystyrène (PS). L'application d'un courant électrique par balayage de potentiel permet d'améliorer les propriétés antibactériennes des revêtements polymères puisque les taux d'adhésion des bactéries TC8 sont inférieurs à 10 % pour chaque polymère par rapport à la référence. Ainsi, dans cet exemple, le phénomène de gonflement/rétrécissement du polymère serait également le facteur responsable de l'activité antimicrobienne.

3 Synthèse du 4-Aminophényl-6-(4-ferrocényl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy-β-D-glucopyranoside 15

Ainsi, nous avons débuté notre étude par la synthèse du complexe aminoferrocène-glucose **15** qui a été réalisée en quatre étapes à partir du β-glucopyranoside **4** comme décrit dans le Schéma 3. 7.

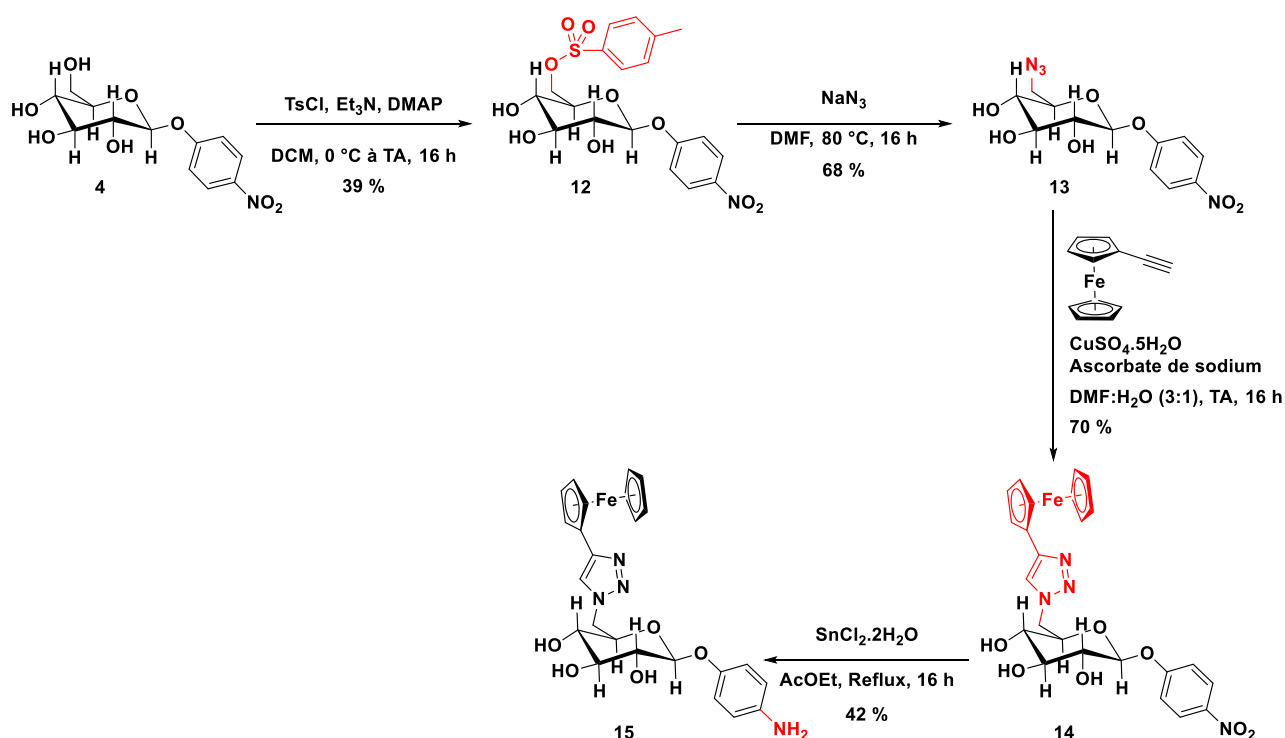


Schéma 3. 7 : Synthèse du 4-Aminophényl-6-(4-ferrocényl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy-β-D-glucopyranoside **15**.

La première étape consiste à effectuer une monotosylation en position 6 du β-glucopyranoside **4**. La littérature propose donc une technique récurrente de monotosylation en position 6 sur des glycosides non protégés. Il s'agit de la réaction entre le chlorure de tosyle et un β-glucopyranoside ayant lieu dans la pyridine sous atmosphère inerte pendant 16 h, de 0 °C à température ambiante. Le nombre d'équivalents de chlorure de tosyle décrits dans la littérature est généralement de 1,1 équivalents ce qui est insuffisant car le taux de

conversion du produit de départ est seulement de 50 %. Le nombre d'équivalents a été optimisé à une valeur de 7 équivalents pour avoir un taux de conversion de 100 % mais le rendement ne dépasse pas 30 %.

Une seconde procédure fut testée dans le dichlorométhane (DCM) en présence de chlorure de tosylate (2,2 équivalents), de triéthylamine (Et₃N) et du 4-(diméthylamino)pyridine (DMAP) sans prendre de précautions particulières. Cette procédure, plus verte que la précédente, donne un rendement de seulement 40 % en raison de la génération de produits secondaires ditosylés.

Le tosylate **12** est ensuite substitué par l'azoture de sodium (NaN₃) dans le DMF à 80 °C pour conduire au β-glucopyranoside-azoture **13** avec un rendement de 68 %.

La cycloaddition 1,3-dipolaire entre l'azoture **13** et l'éthynylferrocène en présence de sulfate de cuivre (II) pentahydraté et de l'ascorbate de sodium dans un mélange DMF : H₂O (3 : 1) à température ambiante permet d'obtenir le 1,2,3-triazole-1,4-disubstitué **14** avec un rendement de 70 %.

Enfin, la réduction du complexe nitroferrocène-glucose **14** pour donner l'aniline correspondante **15** a été effectuée en présence du chlorure d'étain (II) dihydraté dans l'acétate d'éthyle (AcOEt) au reflux avec un rendement de 42 %.

Les composés **14** et **15** ont été analysés par spectroscopie RMN¹H ainsi que par diffraction des rayons X (DRX). Les résultats obtenus sont discutés dans la partie suivante.

4 Étude RMN¹H et DRX de différents complexes ferrocène-glucose

4.1 Caractérisations du nitroferrocène-glucose **14** et de l'aminoferrocène-glucose **15** par RMN¹H et DRX

Les complexes nitroferrocène-glucose **14** (Figure 3. 2) et aminoferrocène-glucose **15** (Figure 3. 3) ont été caractérisés par la spectroscopie RMN¹H.¹⁴⁰

Les déplacements chimiques des hydrogènes du cycle benzénique pour le dérivé nitroferrocène **14** se présentent sous la forme de doublets à 7,99 et 6,92 ppm. Pour l'aminoferrocène **15**, la présence de l'amine provoque le blindage des hydrogènes du phényle à 6,68 et 6,38 ppm sous la forme de doublets.

L'hydrogène du triazole est représenté par un singulet et son déplacement chimique est le plus déblindé : il se situe à 7,90 ppm pour le nitroferrocène **14** et à 7,95 ppm pour l'aminoferrocène **15**.

Pour les deux composés, les hydrogènes des groupements hydroxyles se présentent sous la forme de doublets et leurs déplacements chimiques se situent entre 5,70 et 5,10 ppm environ tandis que les hydrogènes des cycles glucidiques se trouvent entre 4,9 et 3,0 ppm.

Jusqu'à présent les déplacements chimiques de ces hydrogènes sont tout à fait normaux mais ce qui a marqué notre attention, ce sont les déplacements chimiques des hydrogènes du cyclopentadiényle substitué du ferrocène.

¹⁴⁰ Peigneguy, F.; Allain, M.; Cougnon, C.; Frère, P.; Siegler, B.; Bressy, C.; Gohier, F., *New Journal of Chemistry* **2019**, *43*, 9706-9710.

En effet, un ferrocène monosubstitué est généralement caractérisé par un singulet représentant le cyclopentadiényle libre et deux signaux correspondant aux hydrogènes H α et H β du cyclopentadiényle substitué.

Or, le complexe nitroferrocène-glucose **14** affiche cinq déplacements chimiques différents pour le ferrocène. Le premier signal à 3,95 ppm se présente sous la forme d'un singulet et représente les cinq hydrogènes équivalents du cyclopentadiényle libre du ferrocène, ce qui est tout à fait classique. Au contraire, les quatre autres signaux (4,67 ppm ; 4,66 ppm ; 4,28 ppm ; 4,23 ppm) intègrent chacun pour un hydrogène du cyclopentadiényle substitué. Ainsi, les hydrogènes H α et H β sont magnétiquement différents.

À l'inverse, le complexe aminoferrocène **15** indique quatre déplacements chimiques différents pour le ferrocène. Les deux hydrogènes H β sont équivalents chimiquement et magnétiquement car ils possèdent le même déplacement chimique à 4,29 ppm. Par contre, les deux hydrogènes H α sont chacun représentés par un signal différent qui intègre pour un hydrogène avec un déplacement chimique de 4,67 ppm pour l'un et 4,62 ppm pour l'autre. Les hydrogènes H α sont donc magnétiquement différents. Enfin, les cinq hydrogènes équivalents du cyclopentadiényle libre du ferrocène sont représentés par un singulet à 4,00 ppm.

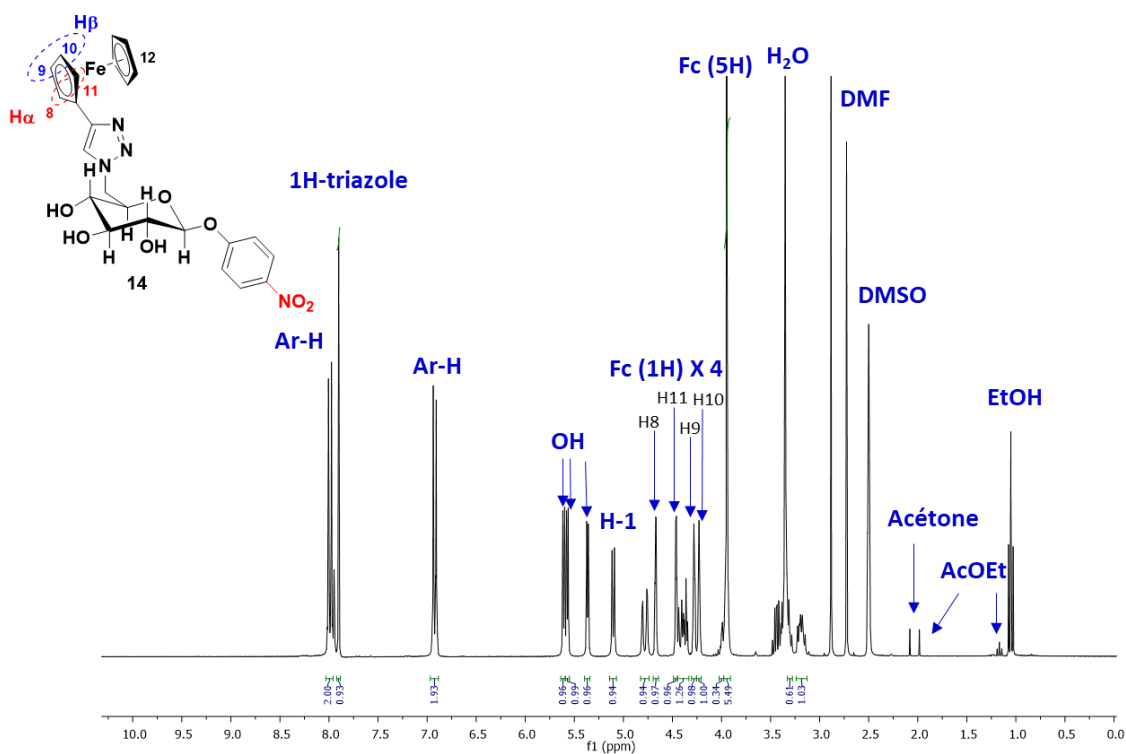


Figure 3. 2 : RMN¹H du nitroferrocène-glucose **14** dans le DMSO-*d*₆. Représentation du complexe nitroferrocène-glucose **14** ainsi que des hydrogènes H α (H8 et H11) et H β (H9 et H10) du cyclopentadiényle substitué du ferrocène.

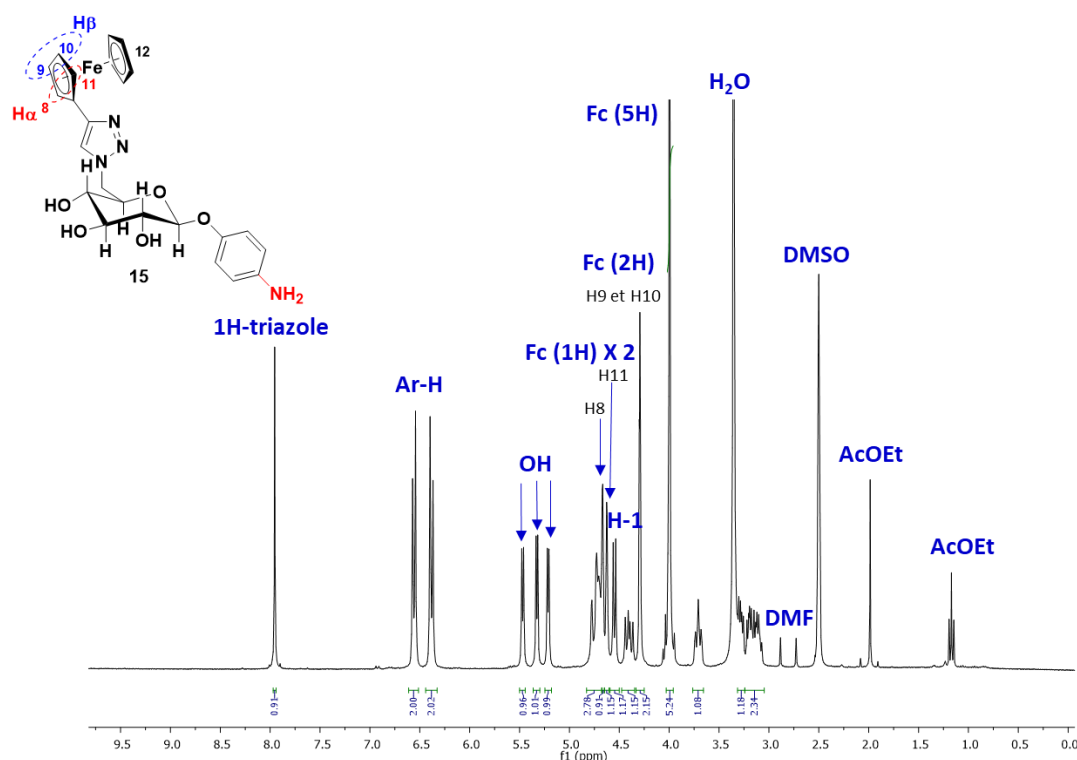


Figure 3. 3 : RMN¹H de l'aminoferrocène-glucose **15** dans le DMSO-*d*₆. Représentation du complexe aminoferrocène-glucose **15** ainsi que des hydrogènes H α (H8 et H11) et H β (H9 et H10) du cyclopentadiényle substitué du ferrocène.

Le comportement de ces déplacements chimiques a déjà été obtenu pour des complexes conjugués à base de glucose ou de mannose acétylé relié par un lien triazole à l'unité ferrocényle (Schéma 3. 8). En effet, le spectres RMN¹H de ces composés montraient des déplacements chimiques différents pour les hydrogènes H α du cyclopentadiényle substitué du ferrocène. Cependant, ces analyses RMN¹H n'ont pas été interprétées par les auteurs de cet article.¹⁴¹

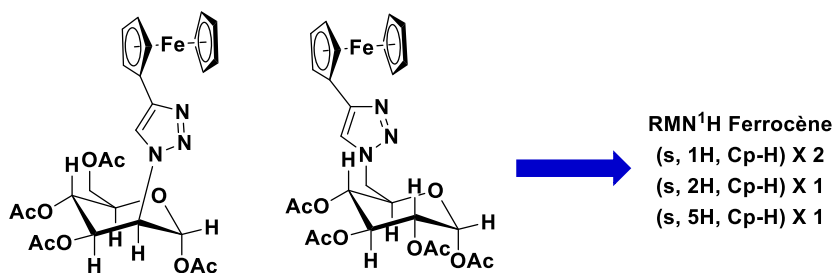


Schéma 3. 8 : 2-Deoxy-2-(4-ferrocényl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-1,3,4-tétra-O-acétyl- α -D-mannopyranose (à gauche) et 6-Deoxy-6-(4-ferrocényl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-1,2,3,4-tétra-O-acétyl- α -D-glucopyranose (à droite).¹⁴¹

Étant donné que l'environnement du ferrocène semble influencer le déplacement chimique des hydrogènes, d'autres expériences RMN¹H ont été réalisées. Ainsi, le complexe nitroferrocène **14** a été soumis à une élévation de température de 25 °C à 120 °C dans le DMSO-*d*₆ pour savoir si les deux hydrogènes H α et les deux hydrogènes H β peuvent devenir magnétiquement équivalents (Figure 3. 4). L'augmentation de la température provoque un rapprochement des déplacements chimiques pour les deux hydrogènes H α de 0,2

¹⁴¹ Schmidt, M. S.; Leitner, K.; Welter, M.; Wurmthaler, L. A.; Ringwald, M., *Carbohydrate Research* **2014**, *387*, 42-45.

à 0,13 ppm et pour les deux hydrogènes H β de 0,06 à 0,03 ppm. Cependant, à 120 °C, aucune coalescence n'a été observée pour les deux hydrogènes H α et les deux hydrogènes H β .

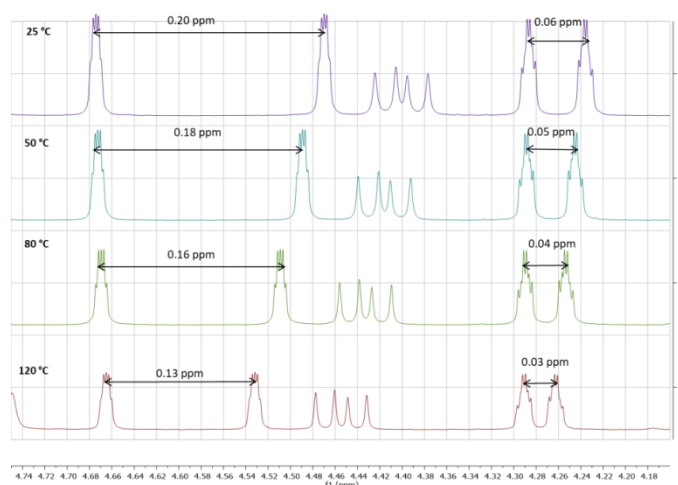


Figure 3. 4 : Influence de la température sur les déplacements chimiques des hydrogènes du cyclopentadiényle substitué du ferrocène lors de l'étude RMN¹H du complexe nitroferrocène-glucose **14**.¹⁴⁰

Une étude similaire a également été menée sur le complexe aminoferrocène **15**. Cependant, les déplacements chimiques des deux hydrogènes H α sont restés identiques tout au long de l'expérience de 0 °C à 120 °C, mettant en avant une configuration bloquée de la molécule. Le complexe aminoferrocène **15** a également été étudié à -40 °C dans le méthanol-*d*₄ (puisque le DMSO-*d*₆ est cristallisé à cette température) afin d'évaluer si le signal des deux hydrogènes H β est capable de se diviser en deux signaux distincts, intégrant chacun pour un hydrogène H β . Ainsi, la RMN¹H montre juste un déplacement du signal intégrant pour les deux hydrogènes H β sans aucune séparation.

Afin de mieux comprendre les résultats obtenus en RMN¹H, ces deux composés ont été analysés par diffraction des rayons X (DRX) pour connaître leur structure moléculaire et leur organisation au sein d'un cristal. Bien que ces analyses donnent des informations sur le comportement moléculaire à l'état solide, elles sont tout de même instructives sur leur agencement spatial en solution.

Ainsi, les structures moléculaires obtenues par DRX pour les deux composés montrent un glucide qui peut être considéré comme un tronc d'arbre avec deux branches, symbolisées par les groupements triazole-ferrocène et *para*-phényle substitué, qui se rassemblent pour donner la forme d'un U à l'ensemble de la molécule. Cependant, l'orientation du ferrocène dépend du substituant en *para* du phényle.

En effet, pour le complexe aminoferrocène **15**, le ferrocène est disposé à l'extérieur de la forme U, laissant une distance entre l'amine et le centre métallique de 6,2 Å (Figure 3. 5).

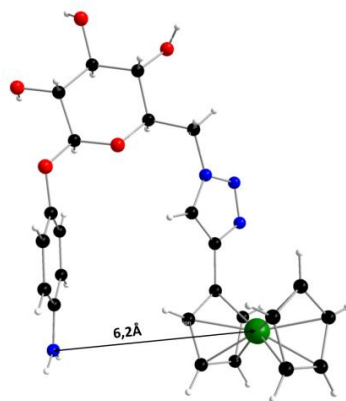


Figure 3. 5 : Structure moléculaire du complexe aminoferrocène-glucose **15**.¹⁴⁰

De plus, la maille cristalline orthorhombique s'organise de façon à alterner deux types de colonnes dont l'une est constituée d'un enchainement de molécules aminoferrocène **15** avec une forme U inversée à 180 ° par rapport à l'axe vertical **b** tandis que l'autre colonne est composée d'un enchainement de molécules aminoferrocène **15** avec une forme U droite par rapport à l'axe vertical **b** (Figure 3. 6). De par cette organisation, l'amine est capable de réaliser des liaisons hydrogène avec deux glucides voisins (dont l'un appartient à la même colonne et l'autre provient de la colonne voisine).

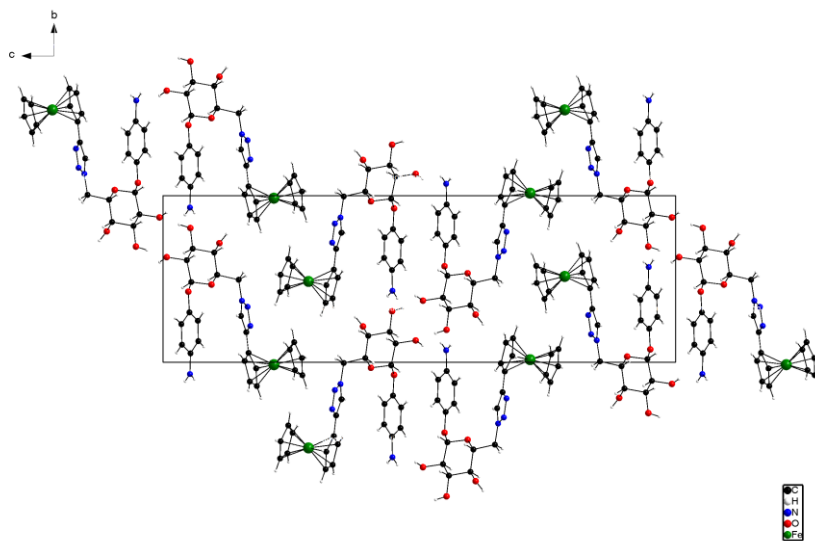


Figure 3. 6 : Représentation de la maille cristalline orthorhombique du complexe aminoferrocène-glucose **15**.

Contrairement au complexe aminoferrocène-glucose **15**, le comportement du composé nitroferrocène-glucose **14** vis-à-vis du groupement ferrocène est différent car il est orienté vers l'intérieur de la forme U, distant de 5,41 Å avec le groupe nitro (Figure 3. 7). Les plans du phényle et du 1,2,3-triazole sont quasiment parallèles entre eux mais ne peuvent pas réaliser des interactions d'empilements type π -stacking au sein de la molécule car les deux aromatiques ne sont pas disposés face à face mais plutôt en décalés.

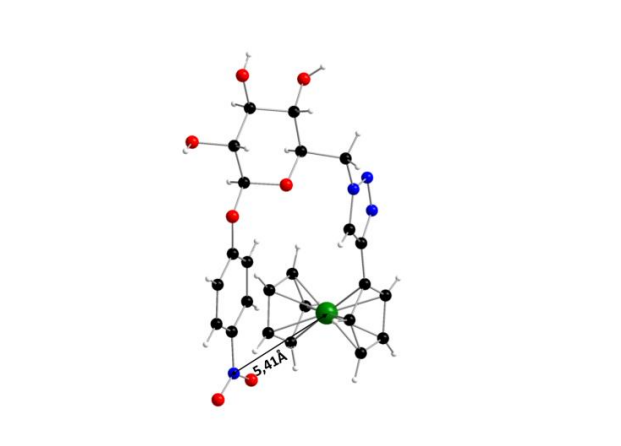


Figure 3. 7 : Structure moléculaire du complexe nitroferrocène-glucose **14**.¹⁴⁰

Au sein de la maille cristalline orthorhombique du composé **14**, la forme U crée un certain angle avec l'axe vertical **b** et l'axe de la profondeur **a** de façon à être orientée en biais afin de rassembler les groupements nitro de deux molécules adjacentes (Figure 3. 8).

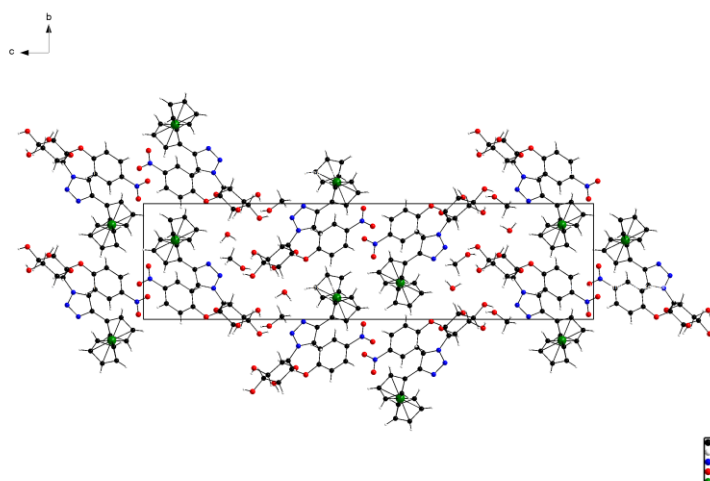


Figure 3. 8 : Représentation de la maille cristalline orthorhombique du complexe nitroferrocène-glucose **14**.

4.2 Étude complémentaire sur la caractérisation de trois autres complexes ferrocène-glucose par RMN¹H et DRX

Ainsi, pour compléter cette étude, trois autres complexes ferrocène-glucose (Schéma 3. 9) ont été synthétisés afin d'évaluer l'influence des substituants (phényle, *para*-fluorophényle, méthyle) en position anomérique sur le déplacement chimique des hydrogènes du ferrocène, sur la structure moléculaire et sur l'organisation au sein d'un cristal.¹⁴⁰

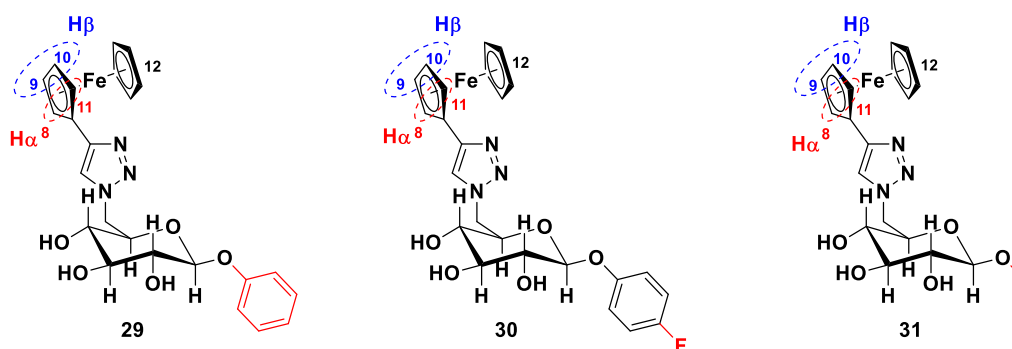


Schéma 3. 9 : Représentation du phénylferrocène-glucose **29**, du *para*-fluorophénylferrocène-glucose **30** et du méthylferrocène-glucose **31**. Représentation des hydrogènes H α (H8 et H11) et H β (H9 et H10) du cyclopentadiényle substitué du ferrocène.

Ces trois composés ont été synthétisés en huit étapes comme décrites dans le Schéma 3. 10 en passant par l'intermédiaire trichloroacétimide **17** utilisé pour l'introduction des différents substituants (phényle, *para*-fluorophényle, méthyle) en position anomérique lors de la glycosylation.

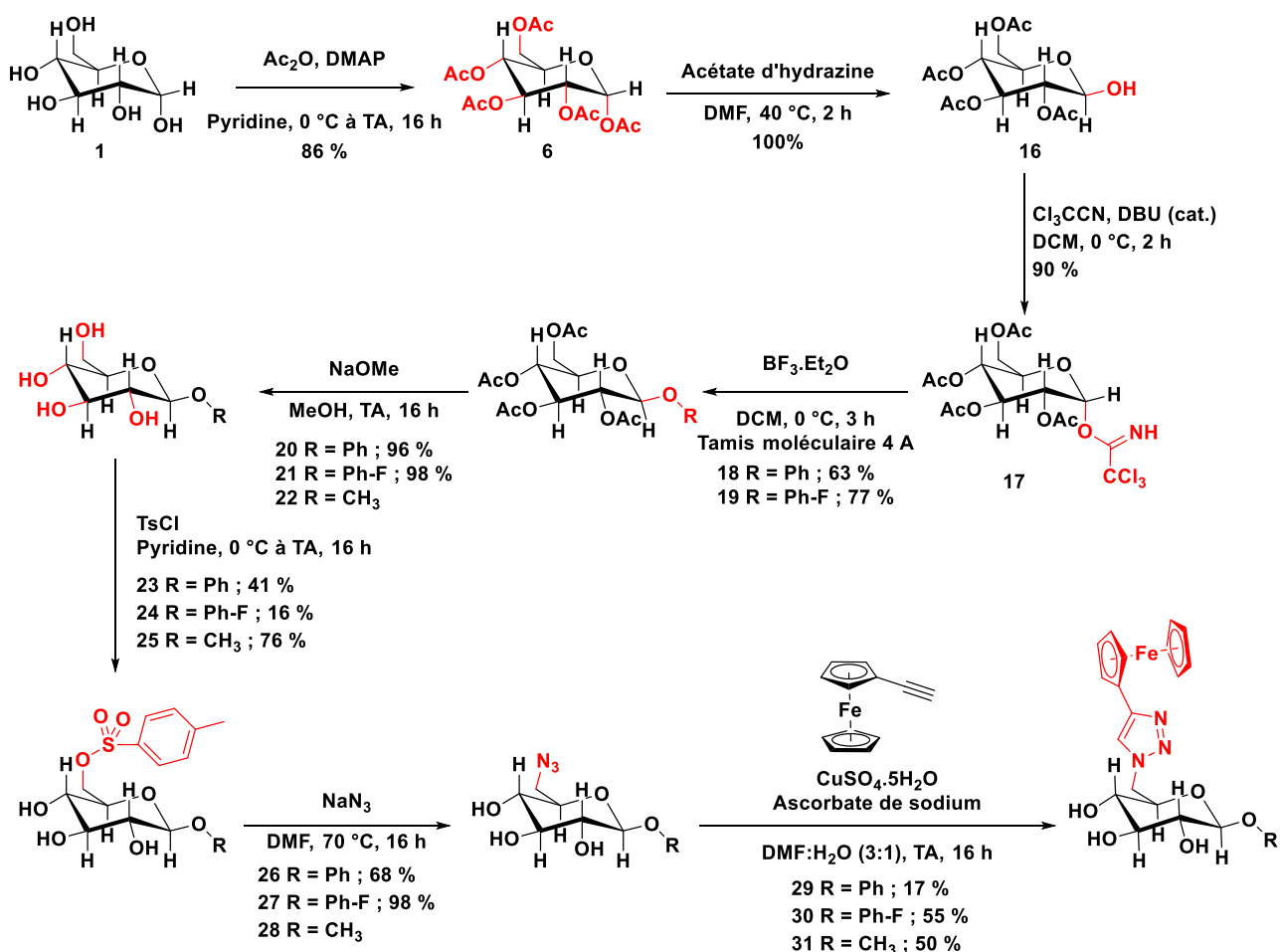


Schéma 3. 10 : Synthèse multi-étapes des trois complexes ferrocène-glucose **29**, **30**, **31**.

La RMN¹H du complexe méthylferrocène-glucose **31** centrée sur le ferrocène donne seulement trois déplacements chimiques différents démontrant ainsi que les deux hydrogènes H α (représentés par un signal à 4,73 ppm) et les deux hydrogènes H β (représentés par un signal à 4,29 ppm) sont chimiquement et magnétiquement équivalents. Ainsi, le groupement méthyle en position anomérique du glucide n'influe pas sur le déplacement chimique des hydrogènes H α et H β du cyclopentadiényle du ferrocène substitué. Or, à

partir du moment où le glucide est fonctionnalisé par un groupement aryle en position anomérique, l'environnement du ferrocène change. En effet, les hydrogènes H α et H β du complexe phénylferrocène **29** ont le même comportement que les hydrogènes H α et H β du complexe aminoferrocène **15**. Les deux hydrogènes H α sont représentés par deux signaux distincts à 4,68 ppm et à 4,55 ppm, à cause d'un environnement magnétique différent. Au contraire, les deux hydrogènes H β sont définis par un seul signal à 4,29 ppm. Le complexe *para*-fluorophénylferrocène **30** est caractérisé par quatre déplacements chimiques différents (H α : 4,68 ppm ; 4,57 ppm et H β : 4,30 ppm) attribués aux hydrogènes du ferrocène tout comme les composés **15** et **29** (Figure 3. 9).

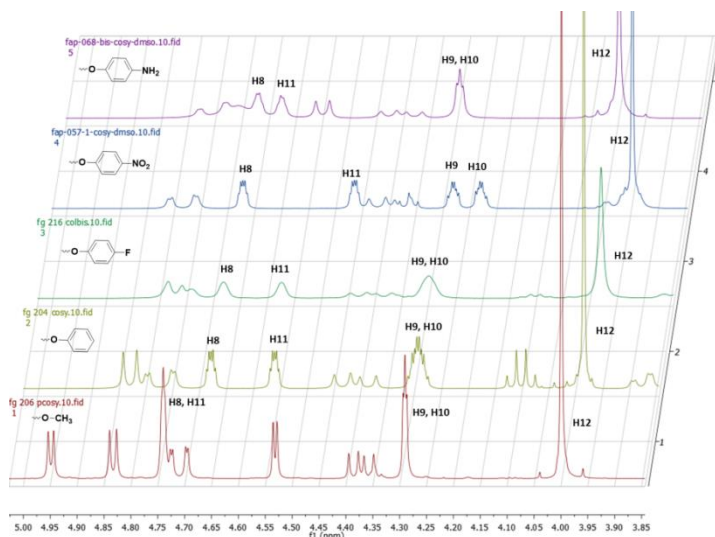


Figure 3. 9 : Représentation des déplacements chimiques du ferrocène lors des études RMN¹H des complexes ferrocène-glucose **15**, **14**, **30**, **29**, **31**.¹⁴⁰

Concernant la diffraction des rayons X, la maille cristalline monoclinique du complexe méthylferrocène **31** s'organise par la répétabilité d'une simple colonne constituée par un empilement parallèle d'un couple de molécules disposées de façon à effectuer des liaisons hydrogène via les alcools des glucides (Figure 3. 10).

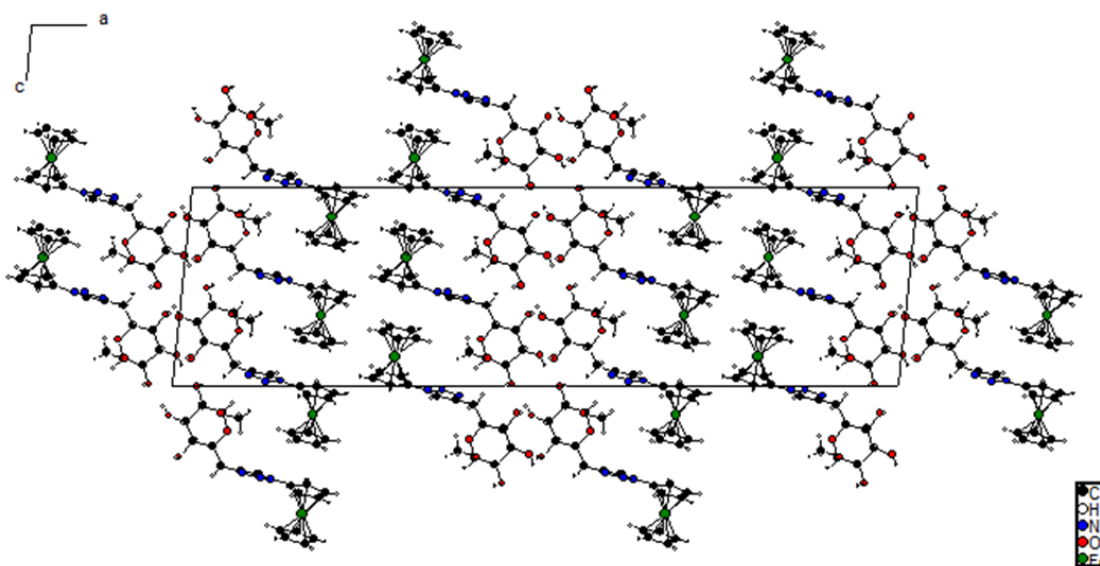


Figure 3. 10 : Représentation de la maille cristalline monoclinique du complexe méthylferrocène-glucose **31**.¹⁴⁰

Les structures moléculaires des composés phényle **29** et *para*-fluorophényle **30** prennent la forme d'un U dans laquelle le ferrocène est orienté vers l'intérieur, tout comme le complexe nitroferrocène **14** (les

structures moléculaires des composés **29** et **30** sont représentées dans la partie annexe). En effet, les substituants en para du phényle (hydrogène, fluor, nitro) ne réalisent pas de liaisons hydrogène avec les alcools des glucides comme le fait, par exemple l'amine. C'est pourquoi, la molécule se replie sur elle-même en mettant le ferrocène à l'intérieur.

Le processus de greffage de l'aminoferrocène-glucose **15** sera étudié en milieu organique dans la partie suivante. Cependant, de par les études RMN¹H et DRX, l'amine pourrait peut-être avoir du mal à établir un lien avec la surface étant donné sa proximité avec le ferrocène.

5 Électrogreffage du complexe aminoferrocène-glucose **15** sur une surface de carbone vitreux dans une solution organique

L'objectif de cette étude est d'immobiliser le complexe aminoferrocène-glucose **15** sur une surface de carbone vitreux via l'oxydation électrochimique de l'amine aromatique dans une solution organique.

5.1 Étude électrochimique du complexe aminoferrocène-glucose **15** dans une solution organique

Dans un premier temps, le comportement électrochimique du complexe aminoferrocène-glucose **15** (0,5 mM) a été étudié par voltammétrie cyclique en balayant le potentiel de -0,5 V à +0,7 V pendant 5 cycles à 100 mV/s dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte *n*Bu₄NPF₆ (0,1 M) (Figure 3. 11). Le voltampérogramme affiche deux vagues d'oxydation successives situées à +0,15 V (*vs* Ag/AgNO₃) et à +0,46 V (*vs* Ag/AgNO₃). La première vague est attribuée à l'oxydation du ferrocène en cation ferrocénium : elle est associée au système réversible mono-électronique du couple redox ferrocénium/ferrocène. La seconde vague correspond à l'oxydation irréversible de l'amine aromatique primaire en radical cation de l'amine.

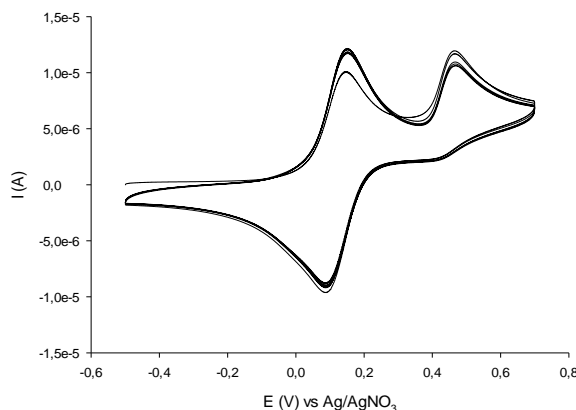


Figure 3. 11 : Réf : Ag/AgNO₃; ET : CV ; CE : Pt. Étude électrochimique du complexe aminoferrocène-glucose **15** (0,5 mM) dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte *n*Bu₄NPF₆ (0,1 M) réalisée par voltammétrie cyclique (5 cycles) de -0,5 V à +0,7 V à l'aide d'une électrode de carbone vitreux, $\nu = 100$ mV/s.

Contrairement au glucose-phénylamine **5**, le radical cation de l'amine du composé **15** semble stable. En effet, il n'intervient pas dans la réaction de dimérisation puisqu'aucun système réversible correspondant à la formation du produit de couplage n'a été observé à bas potentiel autour de -0,1 V et +0,0 V (*vs* Ag/AgNO₃).

5.2 Électrogreffage du complexe aminoferrocène-glucose **15** dans une solution organique

Les premières expériences d'électrogreffage ont été réalisées sur une surface de carbone vitreux en appliquant différents potentiels à l'électrode afin de déterminer le potentiel pour lequel le taux de recouvrement électrochimique est optimal. Pour ce faire, une électrode de carbone vitreux a été polarisée pendant 5 min à différents potentiels tous les 100 mV entre -0,3 V et +0,9 V dans une solution d'acétonitrile contenant le complexe aminoferrocène **15** (0,5 mM) et l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M) (Schéma 3. 11).¹⁴²

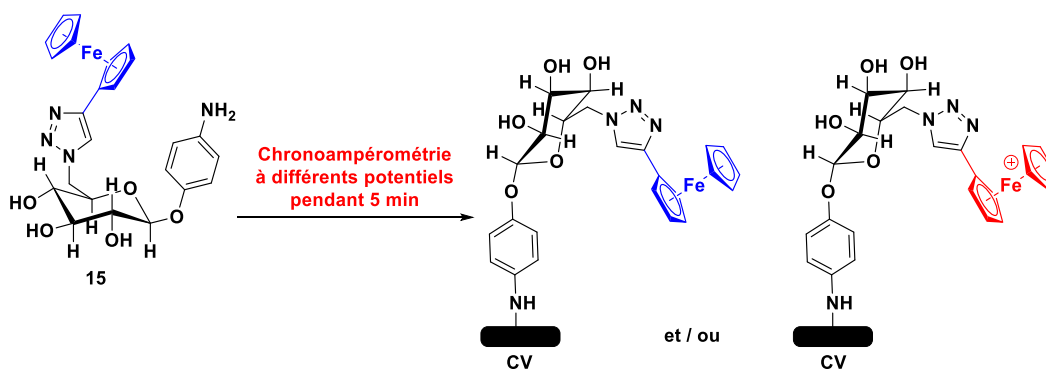


Schéma 3. 11 : Représentation de l'immobilisation du complexe aminoferrocène-glucose **15** sur une surface de carbone vitreux par chronoampérométrie à différents potentiels pendant 5 min.

Après polarisation, les électrodes ont été rincées puis nettoyées aux ultrasons dans l'acétonitrile pendant 10 min, avant d'être transférées dans une cellule d'étude contenant uniquement une solution d'acétonitrile avec l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M). Cette électrode modifiée a ensuite été étudiée par voltammétrie cyclique de -0,5 V à +0,7 V à 100 mV/s pendant 10 cycles afin d'observer l'apparition du système réversible du ferrocène. La Figure 3. 12 décrit l'évolution du taux de recouvrement électrochimique en fonction du potentiel imposé lors de la chronoampérométrie. Le taux de recouvrement électrochimique fut déterminé par intégration de la vague d'oxydation du ferrocène pour le 10^{ème} cycle (Figure 3. 12).

¹⁴² Touzé, E.; Dabos-Seignon, S.; Cauchy, T.; Gohier, F.; Cugnon, C., *Electrochemistry Communications* **2017**, 82, 52-55.

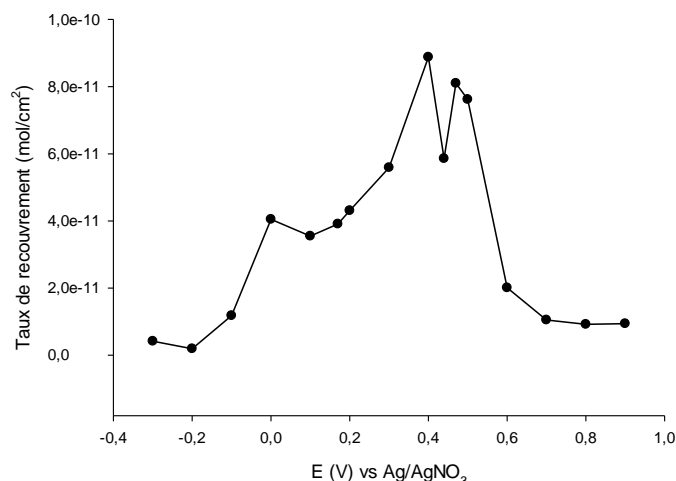


Figure 3. 12 : Réf : Ag/AgNO₃ ; ET : CV ; CE : Pt. Taux de recouvrement électrochimique en fonction des potentiels imposés lors de la chronoampérométrie à l'aide d'une électrode de carbone vitreux dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M) et le complexe aminoferrocène-glucose **15** (0,5 mM).

Dans la plage des faibles potentiels de -0,3 V à -0,2 V (vs Ag/AgNO₃), le signal réversible du ferrocène est quasiment inexistant avec un taux de recouvrement électrochimique environ égal à 3,05E-12 mol/cm² (Figure 3. 13). Ce comportement électrochimique pourrait être attribué à une physisorption des molécules du composé **15** ou à une addition nucléophile spontanée de l'amine du composé **15** sur la surface de carbone vitreux.¹⁴²

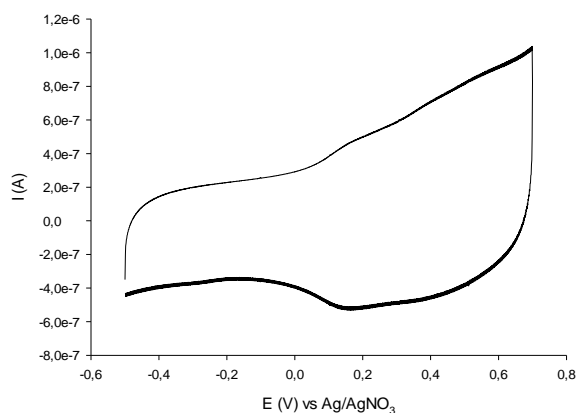


Figure 3. 13 : Réf : Ag/AgNO₃ ; ET : CV ; CE : Pt. Réponse de l'électrode modifiée au potentiel de E = -0,2 V, dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M) par voltammétrie cyclique (10 cycles) de -0,5 V à +0,7 V, v = 100 mV/s. Représentation du 10^{ème} cycle.

Ensuite, à partir de -0,2 V (vs Ag/AgNO₃), le taux de recouvrement électrochimique commence à augmenter jusqu'à atteindre un premier plateau autour de 3,83E-11 mol/cm². Cette phase stationnaire débute au potentiel de seuil du ferrocène (+0,0 V vs Ag/AgNO₃) jusqu'au potentiel d'oxydation du ferrocène (+0,17 V vs Ag/AgNO₃). Les voltampérogrammes, des électrodes modifiées à ces différents potentiels (+0 V ; +0,1 V ; +0,17 V, vs Ag/AgNO₃), montrent un écart pic à pic du système réversible du ferrocène de ΔE = 23 mV, indiquant que les molécules sont bien confinées à l'électrode (Figure 3. 14).¹⁴²

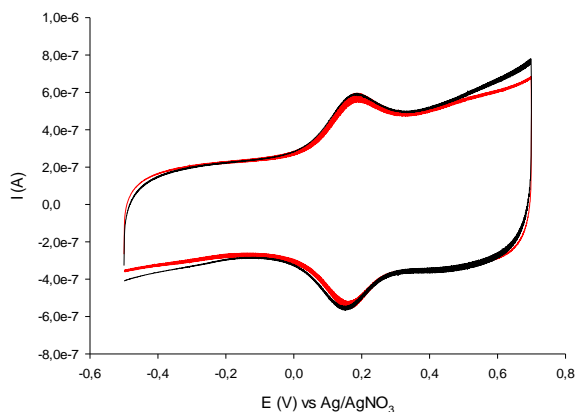


Figure 3. 14 : Réf : Ag/AgNO₃ ; ET : CV ; CE : Pt. Réponse de l'électrode modifiée au potentiel de E = +0,0 V (courbe rouge) et au potentiel de E = +0,17 V (courbe noire), dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M) par voltammétrie cyclique (10 cycles) de -0,5 V à +0,7 V, $\nu = 100$ mV/s. Représentation du 10^{ème} cycle.

Après l'oxydation du ferrocène, le taux de recouvrement électrochimique augmente progressivement et atteint un maximum de $8,88 \times 10^{-11}$ mol/cm² au potentiel de seuil de l'amine (+0,4 V vs Ag/AgNO₃). Puis, au potentiel d'oxydation de l'amine (+0,47 V vs Ag/AgNO₃), la valeur du taux de recouvrement électrochimique est proche du maximum avec une valeur de $8,1 \times 10^{-11}$ mol/cm². Les réponses électrochimiques de ces électrodes modifiées montrent que le système réversible du ferrocène présente toujours un écart pic à pic de $\Delta E = 23$ mV (Figure 3. 15).¹⁴²

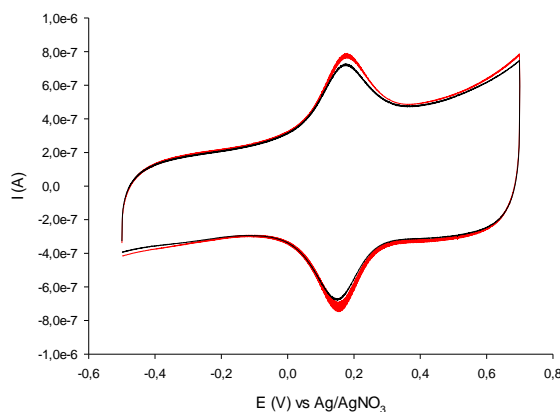


Figure 3. 15 : Réf : Ag/AgNO₃ ; ET : CV ; CE : Pt. Réponse de l'électrode modifiée au potentiel de E = +0,4 V (courbe rouge) et au potentiel de E = +0,47 V (courbe noire), dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M) par voltammétrie cyclique (10 cycles) de -0,5 V à +0,7 V, $\nu = 100$ mV/s. Représentation du 10^{ème} cycle.

Entre +0,5 V et +0,7 V (vs Ag/AgNO₃), le taux de recouvrement électrochimique chute brusquement puis il se stabilise autour de $9,70 \times 10^{-12}$ mol/cm² lorsque le potentiel appliqué est supérieur à +0,7 V (vs Ag/AgNO₃) (Figure 3. 16). Cependant, cet affaissement immédiat du taux de recouvrement électrochimique pour des potentiels supérieurs au potentiel d'oxydation de l'amine est inattendu. Il a été suggéré qu'une couche organique générée à une plage de hauts potentiels est suffisamment épaisse pour bloquer le transfert électronique entre le ferrocène et l'électrode.¹⁴²

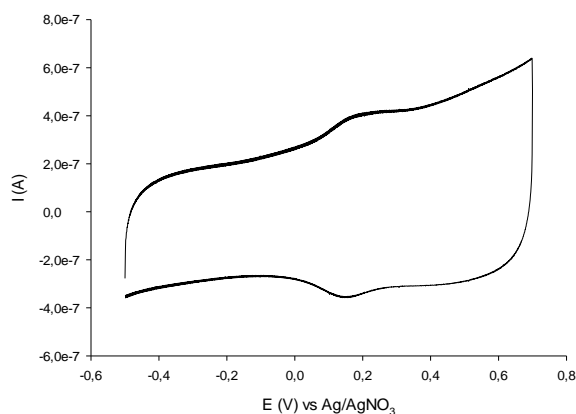


Figure 3. 16 : Réf : Ag/AgNO₃ ; ET : CV ; CE : Pt. Réponse de l'électrode modifiée au potentiel de $E = +0,7$ V, dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu_4NPF_6 (0,1 M) par voltammétrie cyclique (10 cycles) de -0,5 V à +0,7 V, $v = 100$ mV/s. Représentation du 10^{ème} cycle.

Finalement, l'étude du taux de recouvrement électrochimique en fonction du potentiel imposé a démontré que l'électrode pouvait être modifiée sur une large plage de potentiel à partir du potentiel de seuil du ferrocène jusqu'à l'oxydation de l'amine aromatique. De plus, les deux valeurs maximales des taux de recouvrement électrochimique obtenues au potentiel de seuil de l'amine et au potentiel d'oxydation de l'amine montrent que le processus de greffage est plus efficace lorsque la fonction amine est directement oxydée. Pourtant, ces taux de recouvrement électrochimique sont relativement faibles et démontrent que le dépôt de molécules organiques est inférieur à une monocouche qui est de l'ordre de $4,4E-10$ mol/cm² pour le 1-méthylferrocène-4-phényl-1H-1,2,3-triazole immobilisé sur une surface de carbone vitreux.¹⁴³

De plus, dans notre laboratoire, Ewen Touzé et Charles Cougnon ont démontré qu'il était possible de greffer un composé conjugué aminoferrocène en se plaçant à des potentiels inférieurs à celui de l'oxydation de l'amine. En effet, lorsque le composé est oxydé au potentiel d'oxydation du ferrocène, la conjugaison de la molécule représentée par une triple liaison entre l'unité ferrocène et l'unité phénylamine permet le transfert électronique intramoléculaire de l'amine vers le cation ferrocénium conduisant à la formation du radical aminyle, après la perte d'un proton, qui vient se greffer sur la surface de carbone vitreux (Schéma 3. 12).¹⁴²

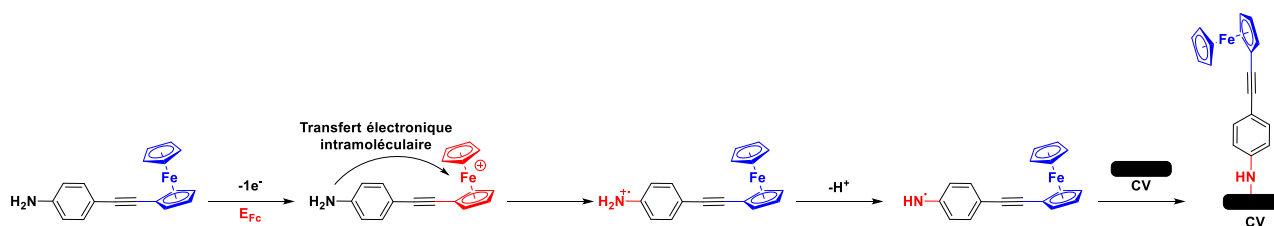


Schéma 3. 12 : Représentation schématique d'un transfert électronique intramoléculaire lors de l'oxydation de l'unité ferrocène du composé 4-(ferrocényléthynyl)aniline.¹⁴²

D'autre part, Amatore¹⁴⁴ a étudié le comportement électrochimique d'une molécule type hydroxyferrocifène (2 mM) dans une solution de méthanol contenant l'électrolyte Bu_4NBF_4 (0,1 M) par voltammétrie cyclique à 500 mV/s (Figure 3. 17). Le voltampérogramme montre le système réversible du couple redox

¹⁴³ Leroux, Y. R.; Fei, H.; Noël, J.-M.; Roux, C.; Hapiot, P., *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132*, 14039-14041.

¹⁴⁴ Hillard, E.; Vessières, A.; Thouin, L.; Jaouen, G.; Amatore, C., *Angewandte Chemie International Edition* **2006**, *45*, 285-290.

ferrocénium/ferrocène au-dessus de +0,3 V (vs ECS) suivi de deux vagues d'oxydation irréversibles à +0,88 V et à +1,17 V (vs ECS) représentant les deux groupements phénols (les deux vagues d'oxydation des unités phénols ne sont pas représentées sur la Figure 3. 17).

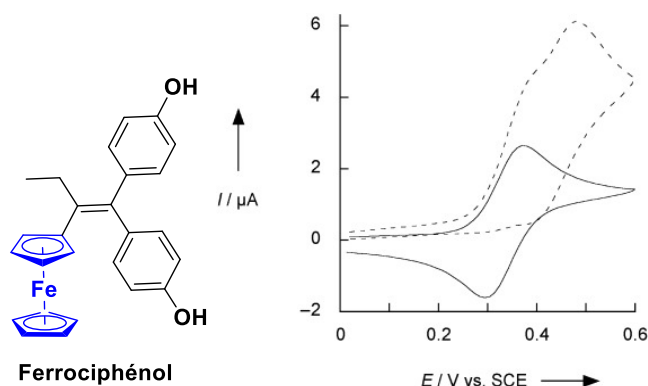


Figure 3. 17 : Voltammétrie cyclique du ferrociphénol (2 mM) dans une solution de méthanol contenant l'électrolyte Bu_4NBF_4 (0,1 M) en l'absence (courbe en continu) ou en présence (courbe en pointillé) de pyridine (ratio MeOH : pyridine, 6 : 1, v/v), $v = 500$ mV/s. Enregistrement sur une électrode de platine (0,5 mm de diamètre).¹⁴⁴

L'ajout de pyridine dans le milieu (méthanol : pyridine, 6 : 1, v/v) modifie le voltampérogramme. Le système du couple ferrocénium/ferrocène devient irréversible à 500 mV/s, caractérisé par une augmentation de l'intensité de courant du pic anodique et une diminution de l'intensité de courant du pic cathodique. Ainsi, l'augmentation de l'intensité de la vague anodique décrit une réaction chimique sur le composé ferrocénium suivi d'un transfert électronique alors que la diminution de l'intensité de la vague cathodique est le résultat de la réduction chimique du cation ferrocénium avant le balayage retour. De plus, l'oxydation du phénol s'est déplacée vers des potentiels cathodiques, légèrement au-dessus du potentiel du ferrocène, en présence de pyridine.

Ainsi, le groupement ferrocénium est considéré comme un accepteur d'électrons ou un réservoir à trous. En effet, cette expérience donne lieu à un transfert électronique intramoléculaire de l'unité phénol vers le groupement ferrocénium par délocalisation des électrons π sur le système π -conjugué.

Le mécanisme proposé par Christian Amatore est décrit dans le Schéma 3. 13. Tout d'abord, le ferrocène est oxydé électrochimiquement en cation ferrocénium. Puis, l'électron peut se délocaliser sur le système π -conjugué, créant une charge partielle positive sur le groupement hydroxyle qui acidifie le proton. La déprotonation du phénol par la base et le transfert électronique intramoléculaire du phénol vers le cation ferrocénium suivent un mécanisme concerté pour donner l'espèce radicalaire phénoxy. Par mésomérie, cette dernière peut se stabiliser sous forme de quinoïde dans lequel le radical est positionné sur le carbone en α du ferrocène.

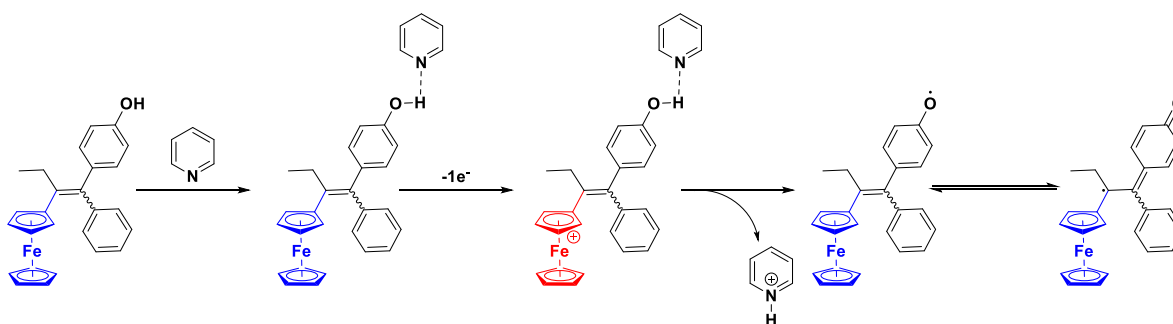


Schéma 3. 13 : Mécanisme proposé par Amatore représentant un transfert électronique intramoléculaire du phénol vers le cation ferrocénium au sein d'une molécule type hydroxyferrocifène.¹⁴⁴

Finalement, cette expérience montre dans un premier temps qu'en l'absence de base, la délocalisation des électrons π suite à l'oxydation du ferrocène en cation ferrocénium n'est pas observable par voltammétrie cyclique car elle est relativement lente. Or, à partir du moment où une base adéquate suffisamment basique est présente dans le milieu, comme la pyridine pour cet exemple, la vitesse du transfert électronique intramoléculaire est fortement améliorée.

Pourtant, dans notre étude, le composé **15** n'est pas conjugué en raison du glucide qui se trouve entre l'unité phénylamine et l'unité triazoleferrocène. Or, un cas similaire a été rapporté dans la littérature par Jaouen et Amatore.¹⁴⁵

Ils ont étudié le comportement électrochimique d'une molécule type [3]ferrocénophane non-conjuguée (0,3 mM) dans une solution de DMF contenant l'électrolyte Bu_4NBF_4 (0,1 M) à 50 mV/s (Figure 3. 18). Le voltampérogramme décrit un système réversible mono-électronique correspondant au couple ferrocénium/ferrocène à +0,48 V (vs ECS). Or, en présence d'imidazole, l'intensité de la vague d'oxydation augmente, indiquant un transfert électronique couplé à un proton entre le phénol et le cation ferrocénium. Étant donné l'absence de conjugaison dans le composé [3]ferrocénophane, le transfert électronique pourrait s'effectuer à travers l'espace.

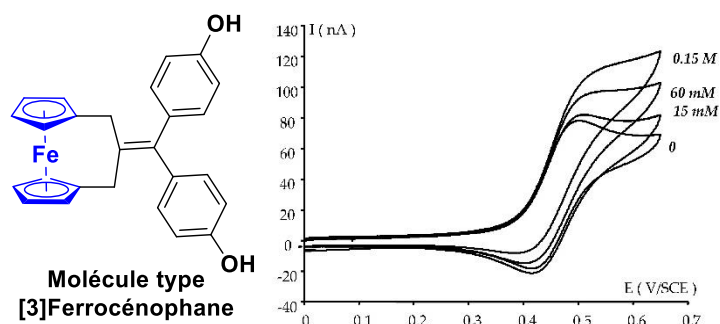


Figure 3. 18 : Voltammétrie cyclique d'une molécule type [3]ferrocénophane (0,3 mM) dans une solution de DMF contenant l'électrolyte Bu_4NBF_4 (0,1 M) en présence de différentes concentrations d'imidazole, $v = 50$ mV/s. Enregistrement sur une électrode de platine (0,5 mm de diamètre).¹⁴⁵

Ainsi, lorsque le composé **15** est oxydé au potentiel d'oxydation du ferrocène, il est possible d'imaginer qu'un transfert électronique puisse avoir lieu de l'amine aromatique vers le cation ferrocénium via l'espace étant donné la proximité de ces deux unités décrite par la structure moléculaire analysée en DRX (Schéma 3. 14). Ce transfert électronique pourrait expliquer les valeurs des taux de recouvrement électrochimique obtenues au potentiel d'oxydation du ferrocène.

¹⁴⁵ Plažuk, D.; Vessières, A.; Hillard, E. A.; Buriez, O.; Labbé, E.; Pigeon, P.; Plamont, M.-A.; Amatore, C.; Zakrzewski, J.; Jaouen, G., *Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, *52*, 4964-4967.

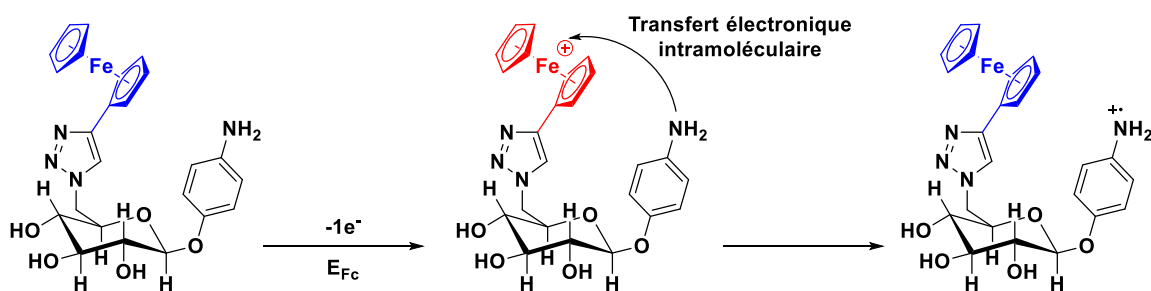


Schéma 3. 14 : Représentation schématique d'un possible transfert électronique intramoléculaire entre l'amine et le cation ferrocène lors de l'oxydation du ferrocène du composé **15**.

Comme décrit précédemment, ces taux de recouvrement électrochimique sont relativement faibles en raison peut-être de la stabilité du radical cation et de sa faible acidité, empêchant sa déprotonation par une aniline neutre pour donner le radical aminyle, responsable du dépôt d'une couche organique sur la surface.

Pour faciliter la formation du radical aminyle, l'utilisation d'une base azotée telle que la collidine est primordiale car elle sera capable de déprotoner le radical cation de l'amine au contact de l'électrode pour permettre au radical aminyle de se greffer sur la surface.

5.3 Électrogreffage du complexe aminoferrocène-glucose **15** dans une solution organique en présence de collidine

Tout d'abord, le comportement électrochimique du complexe aminoferrocène-glucose **15** (0,5 mM) a été évalué par voltammétrie cyclique (représentation du 1^{er} cycle) de -0,5 V à +0,7 V en présence de différentes concentrations de collidine (0 eq ; 1 eq ; 2 eq ; 3 eq ; 4 eq ; 5 eq) dans la solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M) (Figure 3. 19).

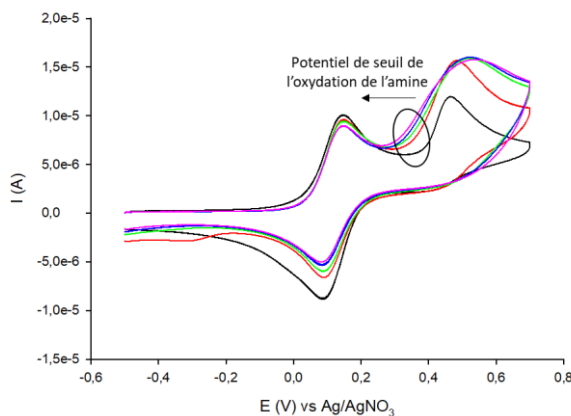


Figure 3. 19 : Réf : Ag/AgNO_3 ; ET : CV ; CE : Pt. Étude électrochimique de l'aminoferrocène-glucose **15** (0,5 mM) dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M) en l'absence de collidine (courbe noire), en présence de collidine (1 eq ; courbe rouge), (2 eq ; courbe verte), (3 eq ; courbe bleue), (5 eq ; courbe rose), réalisée par voltammétrie cyclique de -0,5 V à +0,7 V à l'aide d'une électrode de carbone vitreux, $\nu = 100 \text{ mV/s}$. Représentation du 1^{er} cycle.

L'intensité de courant de la vague d'oxydation de l'amine a augmenté d'un facteur 1,3 en présence de la base. En effet, la base azotée remplace la molécule parente **15** dans l'étape de déprotonation du radical cation, évitant la formation de l'anilinium qui n'est pas une molécule électro-active, ce qui augmente la concentration des molécules à oxyder et maximise donc le courant de crête. L'intensité maximale est atteinte

lorsque seulement un équivalent de collidine est ajouté dans la solution. De plus, le potentiel de seuil de l'oxydation de l'amine continue de se déplacer vers des potentiels moins positifs avec la basicité du milieu. Lorsque le nombre d'équivalents de la base est supérieur à un, l'allure de la vague d'oxydation de l'amine devient plus large et plus arrondie, signalant qu'une couche organique est en train de se lier à la surface grâce à la formation du radical aminyle via la déprotonation du radical cation par la base. Il n'est pas nécessaire d'ajouter la base azotée en large excès avec trois ou cinq équivalents dans le milieu organique contenant le composé **15**. Seulement deux équivalents de collidine sont nécessaires pour que l'électrogreffage du composé **15** ait lieu.

La Figure 3. 20 montre l'électrogreffage du complexe aminoferrocène-glucose **15** (0,5 mM) par voltammétrie cyclique de -0,5 V à +0,7 V pendant 5 cycles à 100 mV/s dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M) en présence de deux équivalents de collidine. Dans ces nouvelles conditions expérimentales, le potentiel d'oxydation du ferrocène reste à +0,15 V (vs Ag/AgNO₃) tandis que le potentiel d'oxydation de l'amine se déplace à +0,52 V (vs Ag/AgNO₃). D'après le voltampérogramme de la Figure 3. 20, la vague d'oxydation de l'amine diminue progressivement avec le nombre de cycles jusqu'à la passivation de l'électrode, qui est obtenue à partir du 3^{ème} cycle. Ce comportement électrochimique indique la formation d'un revêtement sur la surface de l'électrode via l'attaque du radical aminyle.

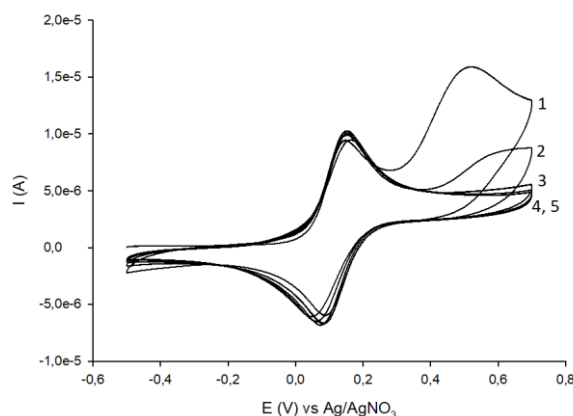


Figure 3. 20 : Réf : Ag/AgNO₃; ET : CV ; CE : Pt. Greffage du complexe aminoferrocène-glucose **15** (0,5 mM) sur une surface de carbone vitreux par voltammétrie cyclique (5 cycles) de -0,5 V à +0,7 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M) en présence de collidine (2 eq), $v = 100 \text{ mV/s}$.

Contrairement au ferrociphénol en présence de pyridine, le transfert électronique entre l'amine et le cation ferrocénium au sein du complexe aminoferrocène **15** en présence de collidine est toujours très lent pour être observé par voltammétrie cyclique. En effet, un processus rapide provoquerait la perte de la réversibilité du couple redox ferrocénium/ferrocène. Or, dans ce cas présent, la réversibilité est totalement conservée, démontrant ainsi la stabilité du cation ferrocénium.

Ainsi, dans la partie suivante, il s'agira d'améliorer les taux de recouvrement électrochimique obtenus au potentiel d'oxydation de l'amine aromatique et au potentiel d'oxydation du ferrocène en se plaçant dans les conditions optimales de greffage du complexe aminoferrocène-glucose **15**, c'est-à-dire, en présence de deux équivalents de collidine. L'objectif sera de comparer l'efficacité de ces deux techniques de greffage et de confirmer l'attachement covalent de ce complexe **15** grâce à une analyse XPS.

5.3.1 Électrogreffage du complexe aminoferrocène-glucose **15** via l'oxydation de l'amine aromatique en présence de collidine

La première méthode pour immobiliser l'aminoferrocène-glucose **15** sur une surface de carbone vitreux est d'effectuer une micro-électrolyse du composé **15** (0,5 mM) au potentiel d'oxydation de l'amine ($E = +0,52$ V vs Ag/AgNO₃) en présence de deux équivalents de collidine dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte *n*Bu₄NPF₆ (0,1 M) pendant 5 min. Puis, l'électrode modifiée a été rincée et nettoyée aux ultrasons dans l'acétonitrile pendant 10 min avant d'être transférée dans une cellule d'étude contenant uniquement une solution d'acétonitrile avec l'électrolyte *n*Bu₄NPF₆ (0,1 M). Cette électrode modifiée a ensuite été analysée par voltammétrie cyclique de -0,5 V à +0,7 V pendant 10 cycles à 100 mV/s (Figure 3. 21).

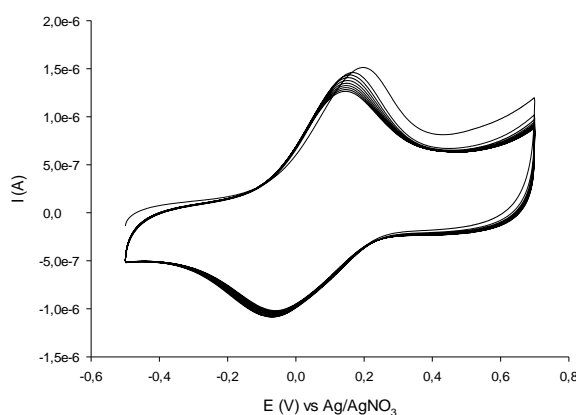


Figure 3. 21 : Réf : Ag/AgNO₃ ; ET : CV ; CE : Pt. Réponse électrochimique de l'électrode modifiée par voltammétrie cyclique (10 cycles) de -0,5V à +0,7 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte *n*Bu₄NPF₆ (0,1 M), $v = 100$ mV/s.

L'utilisation du bain à ultrasons permet d'éliminer les molécules qui se physisorbent sur les groupements déjà greffés sur la surface par interactions d'empilement type π -stacking.

Ainsi, comme attendu, le voltampérogramme indique la signature électrochimique du couple redox ferrocénium/ferrocène présentant un comportement non idéal vis-à-vis de la symétrie du système réversible avec un écart pic à pic de $\Delta E = 204$ mV. Cette résistance peut être attribuée à de fortes interactions entre les centres redox dues à des espèces fortement concentrées à la surface de l'électrode.¹⁴⁶

Enfin, l'absence du système d'oxydation de l'amine sur le voltampérogramme confirme son implication dans le processus de greffage. L'intégration de la vague d'oxydation du ferrocène pour le 10^{ème} cycle a permis de déterminer le taux de recouvrement électrochimique qui est égal à $3,17E-10$ mol/cm².

5.3.2 Électrogreffage du complexe aminoferrocène-glucose **15** via l'oxydation du ferrocène en présence de collidine

La seconde méthode consiste à réaliser une oxydation indirecte de l'amine en effectuant une micro-électrolyse du complexe aminoferrocène **15** (0,5 mM) au potentiel d'oxydation du ferrocène ($E = +0,15$ V vs Ag/AgNO₃) en présence de deux équivalents de collidine dans une solution d'acétonitrile contenant

¹⁴⁶ Buriez, O.; Labbé, E.; Pigeon, P.; Jaouen, G.; Amatore, C., *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2008**, 619-620, 169-175.

l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M) pendant 5 min. Puis, l'électrode modifiée a été rincée et nettoyée aux ultrasons dans l'acétonitrile pendant 10 min avant d'être transférée dans une cellule d'étude contenant uniquement une solution d'acétonitrile avec l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M). Cette électrode modifiée a ensuite été analysée par voltammétrie cyclique de -0,5 V à +0,7 V à 100 mV/s pendant 10 cycles (Figure 3. 22).

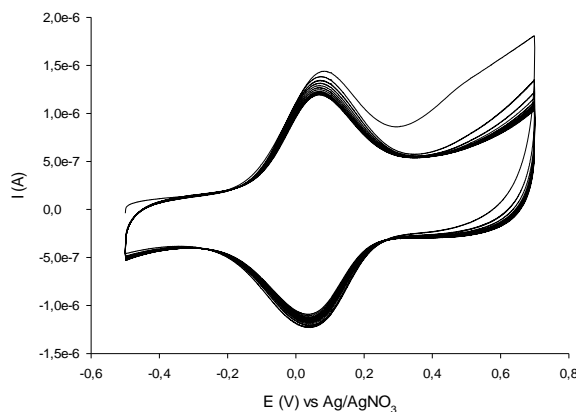


Figure 3. 22 : Réf : Ag/AgNO₃; ET : CV ; CE : Pt. Réponse électrochimique de l'électrode modifiée par voltammétrie cyclique (10 cycles) de -0,5 V à +0,7 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M), $\nu = 100$ mV/s.

Le voltampérogramme met en évidence l'attachement du complexe aminoferrocène-glucose **15** sur la surface de carbone vitreux par la présence du système réversible du couple redox ferrocénium/ferrocène, avec une certaine symétrie, définie par un écart pic à pic de $\Delta E = 30$ mV, contrairement à la première méthode employée lors de l'oxydation directe de l'amine où l'écart pic à pic était de $\Delta E = 204$ mV. La symétrie du système réversible pourrait caractériser une couche organique dont les molécules seraient espacées entre elles limitant les interactions entre les centres redox.

Le taux de recouvrement électrochimique déterminé par l'intégration de la vague d'oxydation du ferrocène pour le 10^{ème} cycle atteint une valeur de $2,74\text{E}-10$ mol/cm².

Ainsi, les taux de recouvrement électrochimique obtenus pour ces deux méthodes d'électrogreffage sont proches d'une monocouche. La présence de la base a donc permis d'améliorer le processus de greffage qui reste, tout de même, plus efficace lorsque l'amine est directement oxydée. Les analyses XPS permettront d'analyser le lien covalent du composé **15** sur la surface mais également de déterminer les mécanismes susceptibles de se produire lors de l'application de ces deux méthodes d'électrogreffage.

5.3.3 Confirmation de l'électrogreffage par XPS et présentation des différents mécanismes selon la technique de greffage utilisée

La Figure 3. 23 montre les spectres XPS des niveaux de cœur Fe2p du fer et N1s de l'azote d'une plaque de carbone vitreux modifiée par l'électrogreffage de l'aminoferrocène-glucose **15** au potentiel d'oxydation de l'amine et au potentiel d'oxydation du ferrocène.

Ainsi, la plaque de carbone vitreux a été préalablement polie et nettoyée aux ultrasons dans l'acétonitrile avant d'être polarisée au potentiel d'oxydation de l'amine (Figure 3. 23 ; a) ou au potentiel d'oxydation du ferrocène (Figure 3. 23 ; b) pendant 5 min dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M) et l'aminoferrocène-glucose **15** (0,5 mM) en présence de deux équivalents de collidine. Puis, la plaque

de carbone vitreux a été rincée et nettoyée aux ultrasons dans l'acétonitrile pendant 10 min avant d'être séchée sous argon et mise sous vide pour les analyses XPS.

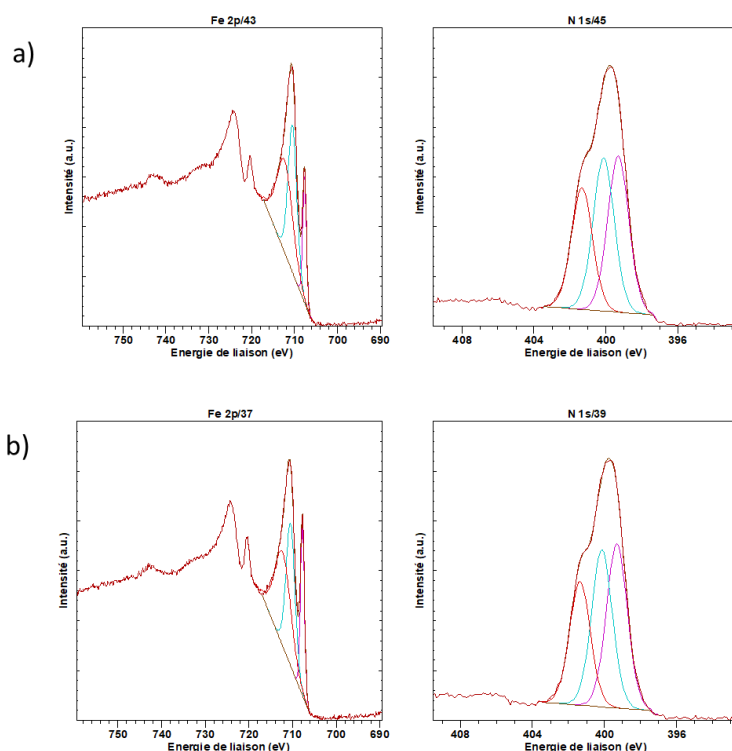


Figure 3. 23 : Spectres XPS des niveaux de cœur Fe 2p et N1s des surfaces de carbone vitreux modifiées dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M) et le composé **15** (0,5 mM) en présence de collidine (2 eq) par chronoampérométrie au potentiel d'oxydation de l'amine **(a)** et au potentiel d'oxydation du ferrocène **(b)** pendant 5 min.

Le niveau de cœur Fe2p présente un doublet spectroscopique, Fe2p_{3/2} et Fe2p_{1/2}. Cependant, seul le niveau de cœur Fe2p_{3/2} a été analysé. Sur les spectres XPS du fer, le pic du photoélectron localisé à une énergie de liaison égale à 707,7eV (valeur d'une seule composante) correspond aux ions fer à l'état d'oxydation (II). Un second épaulement avec une énergie de liaison plus élevée, située entre 710,5 et 712,3 eV (valeurs des deux composantes), est attribué aux ions fer à l'état d'oxydation (III).

Ainsi, lorsque la plaque de carbone vitreux est polarisée au potentiel d'oxydation de l'amine, le spectre XPS du fer montre à la fois, la contribution au Fe(II) à 14,6 % et la contribution au Fe(III) à 85,4 %. Effectivement, l'électrolyse réalisée au potentiel de l'amine conduit à la fois à l'oxydation de l'amine mais aussi à l'oxydation du ferrocène puisqu'il s'oxyde à un potentiel inférieur. Après la déprotonation du radical cation de l'amine pour donner le radical aminyle, le composé **15** devrait se retrouver sur la surface avec un groupement ferrocène sous sa forme oxydée comme décrit dans le Schéma 3. 15. Cependant, le spectre XPS du fer montre que certains cations ferrocénium ont été réduits durant le processus de greffage.

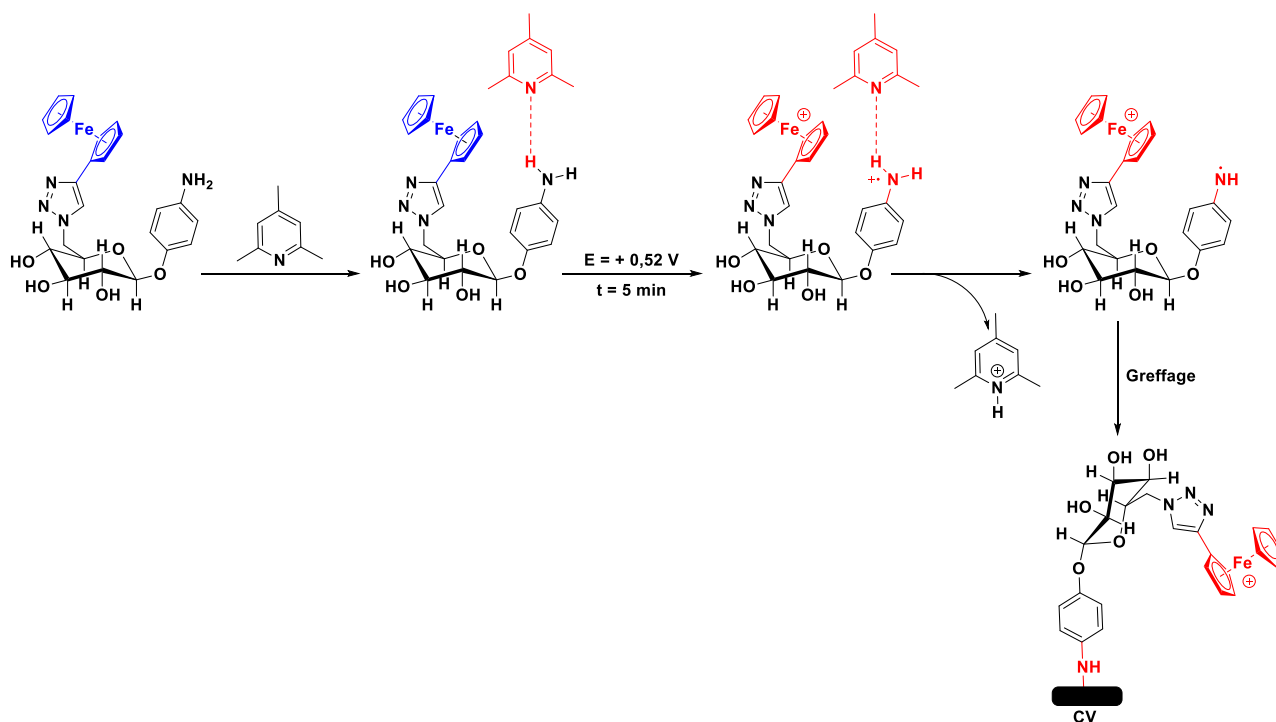


Schéma 3. 15 : Mécanisme proposé pour l'électrogreffage du complexe aminoferrocène-glucose 15 sur une surface de carbone vitreux via l'oxydation directe de l'amine en présence de collidine.

La présence de fer à l'état d'oxydation (II) a été remarquée par Amatore lorsqu'il a étudié l'électrogreffage d'un complexe conjugué aminoferrocène par l'oxydation de l'amine aromatique.¹⁴⁶ Il a donc proposé l'explication suivante. Dans un premier temps, la molécule greffée serait probablement sous sa forme ferrocénium. La possibilité d'un éventuel transfert électronique entre l'amine de la surface et le cation ferrocénium n'est pas à exclure car il peut être facilité par la présence de la base qui déprotonerait l'amine pour donner le radical aminyle. Ce dernier viendrait s'additionner sur la surface et l'amine posséderait donc deux accroches covalentes avec le substrat (Schéma 3. 16).

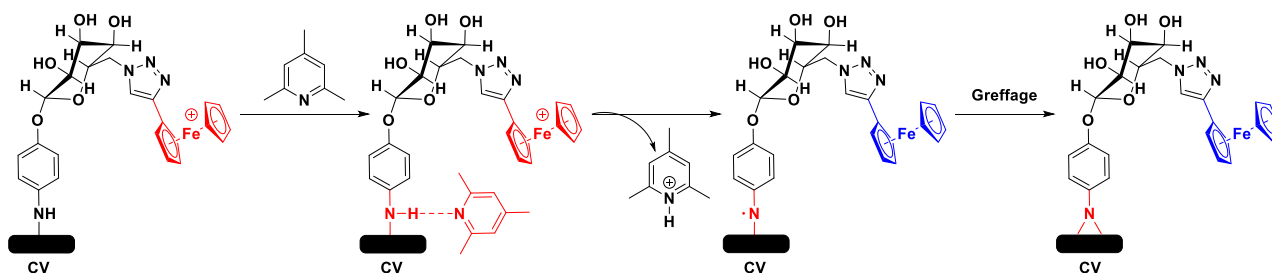


Schéma 3. 16 : Mécanisme proposé par Amatore pour la réduction du cation ferrocénium au sein du complexe aminoferrocène-glucose 15 greffé sur une surface de carbone vitreux via l'oxydation directe de l'amine.¹⁴⁶

D'un autre côté, une réaction entre un cation ferrocénium et des espèces radicalaires pourrait également faire repasser le ferrocène sous sa forme réduite. Ce type de réaction a été mis en avant dans la littérature en présence de sels d'aryle diazonium et de ferrocène, conduisant à l'arylation directe du ferrocène suivie de sa polymérisation avec les unités aryles et ferrocènes.¹⁴⁷ Selon Little et Clark, la réaction entre un ferrocène et un aryle diazonium implique un transfert électronique conduisant à la formation du cation ferrocénium et du radical aryle. Puis, la substitution radicalaire du cation ferrocénium par le radical aryle

¹⁴⁷ Berlin, A. A.; Liogonkii, B. I.; Parini, V. P., *Polymer Science U.S.S.R.* **1963**, 4, 980-989.

donne le ferrocène monosubstitué par un groupement aryle (Schéma 3. 17).¹⁴⁸ Cette réaction permet de rétablir l'état d'oxydation (II) du fer.

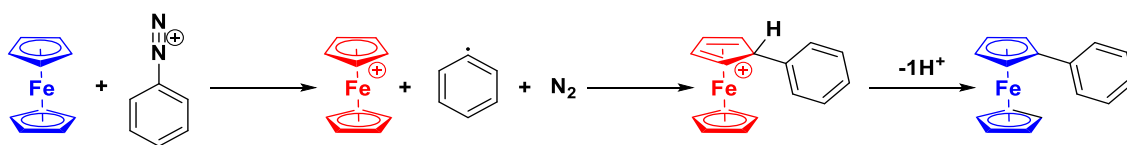


Schéma 3. 17 : Mécanisme proposé par Little et Clark pour la substitution radicalaire du cation ferrocénium par un radical aryle.¹⁴⁸

Pour notre étude, l'espèce radicalaire correspond au radical aminyle. Ce dernier serait capable de réduire le cation ferrocénium déjà greffé sur la surface par substitution radicalaire mais il rajouterait à son tour un cation ferrocénium, étant donné que l'électrode est polarisée au potentiel d'oxydation de l'amine (Schéma 3. 18).

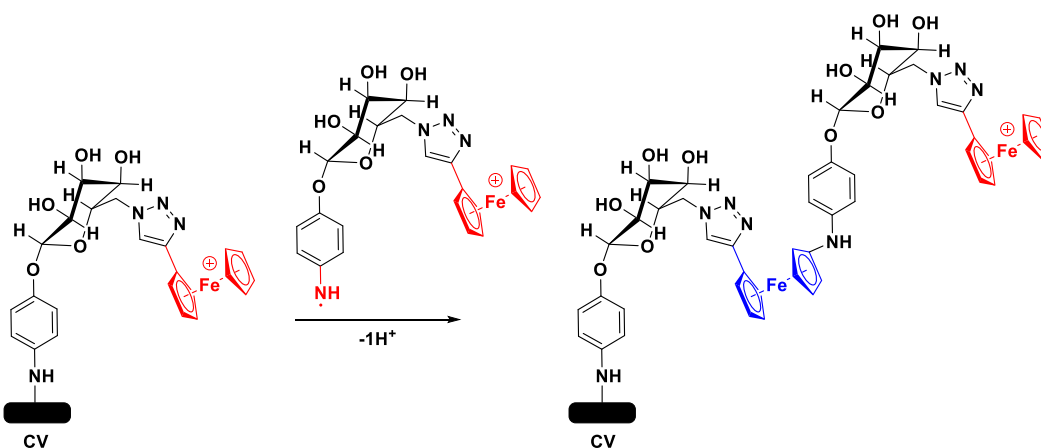


Schéma 3. 18 : Mécanisme proposé pour la substitution radicalaire du cation ferrocénium greffé sur la surface par le radical aminyle du complexe aminoferrocène-glucose **15** en solution.

Lorsque la plaque de carbone vitreux est polarisée au potentiel d'oxydation du ferrocène, le spectre XPS montre à la fois, la contribution au Fe(II) à 19,16 % et la contribution au Fe(III) à 80,84 %.

Lorsque l'électrolyse est effectuée au potentiel d'oxydation du ferrocène, l'amine n'est pas oxydée car son potentiel d'oxydation est plus élevé. Pour que le greffage ait lieu, il faut que le radical aminyle se forme. Or, la présence de fer à l'état d'oxydation (II) sur la surface de carbone vitreux pourrait démontrer que la formation du radical aminyle a bien eu lieu. En effet, la réduction du cation ferrocénium serait peut-être due au transfert électronique intramolécule à travers l'espace de l'amine vers le cation ferrocénium. Ainsi, la formation du radical cation de l'amine ainsi que sa déprotonation par la base donnerait lieu au radical aminyle qui viendrait se greffer sur la surface (Schéma 3. 19).

¹⁴⁸ (a) Beckwith, A. L. J.; Leydon, R. J., *Tetrahedron* **1964**, *20*, 791-801. (b) Beckwith, A. L. J.; Leydon, R. J., *Journal of the American Chemical Society* **1964**, *86*, 952-953. (c) Little, W. F.; Lynn, K. N.; Williams, R., *Journal of the American Chemical Society* **1963**, *85*, 3055-3056.

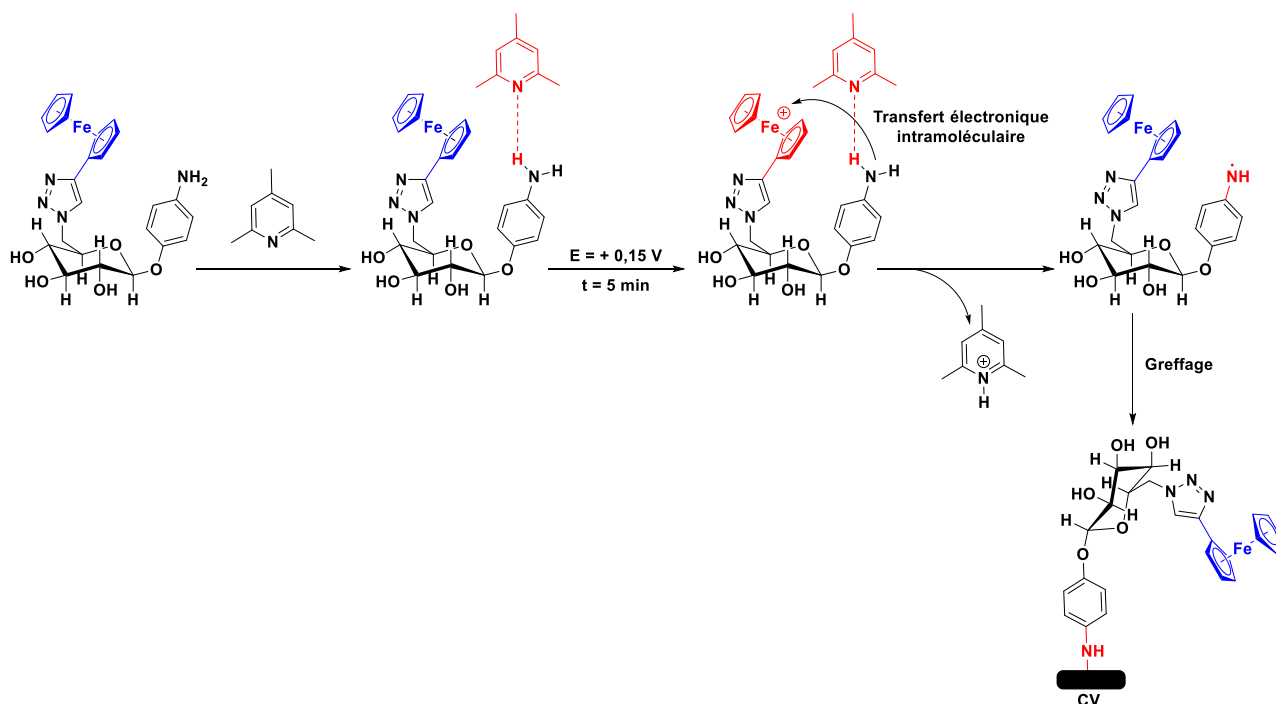


Schéma 3. 19 : Mécanisme proposé pour l'électrogreffage du complexe aminoferrocène-glucose **15** sur une surface de carbone vitreux via l'oxydation du ferrocène en présence de collidine.

D'autre part, le spectre N1s montre trois contributions différentes pour l'atome d'azote. La première composante possède une énergie de liaison de 399,3 eV attribuée à la liaison C-N, c'est-à-dire, la liaison entre l'atome d'azote du composé **15** et le carbone sp^2 du carbone vitreux, confirmant le greffage de la couche organique sur le substrat.

Les deux autres composantes montrent la présence du groupement 1,2,3-triazole sur la surface.¹⁴⁹ En effet, la deuxième composante est attribuée à la double liaison **N=N**, présente à 35,55 %, avec une énergie de liaison de 400,1 eV. La troisième composante est associée à l'azote N1 du 1,2,3-triazole, présente à 28,22 %, avec une énergie de liaison de 401,3 eV. Théoriquement, le ratio des intégrations des composantes du 1,2,3-triazole est proche de 1 : 2. Dans ce cas présent, le ratio est de 1,58 : 2.

Malheureusement, nous n'avons pas étudié l'épaisseur des couches organiques formées pour ces deux techniques d'électrogreffage en réalisant des analyses AFM. Cependant, il est possible d'avoir formé des multicouches hétérogènes en raison de la réactivité du radical aminyle qui pourrait attaquer les groupements phényles en position 3 et 5 ainsi que les ferrocényles des molécules déjà greffées sur la surface (Schéma 3. 20).¹⁵⁰

¹⁴⁹ (a) Fortgang, P.; Tite, T.; Barnier, V.; Zehani, N.; Maddi, C.; Lagarde, F.; Loir, A.-S.; Jaffrezic-Renault, N.; Donnet, C.; Garrelie, F.; Chaix, C., *ACS Applied Materials & Interfaces* **2016**, *8*, 1424-1433. (b) Ciampi, S.; Eggers, P. K.; Le Saux, G.; James, M.; Harper, J. B.; Gooding, J. J., *Langmuir* **2009**, *25*, 2530-2539. (c) Ciampi, S.; James, M.; Michaels, P.; Gooding, J. J., *Langmuir* **2011**, *27*, 6940-6949. (d) Ciampi, S.; Böcking, T.; Kilian, K. A.; James, M.; Harper, J. B.; Gooding, J. J., *Langmuir* **2007**, *23*, 9320-9329.

¹⁵⁰ Buriez, O.; Podvorica, F. I.; Galtayries, A.; Labbé, E.; Top, S.; Vessières, A.; Jaouen, G.; Combellas, C.; Amatore, C., *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2013**, *699*, 21-27.

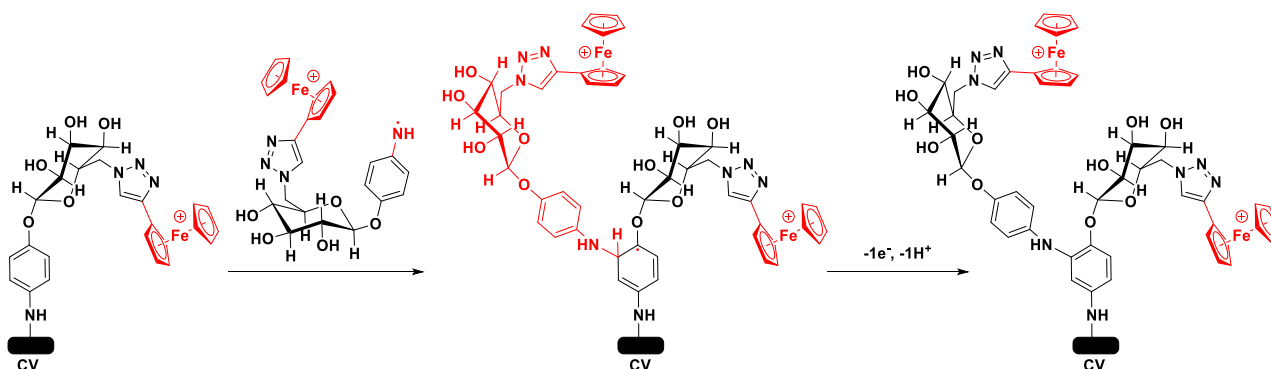


Schéma 3. 20 : Mécanisme proposé pour la formation de multicouches à partir de l'attaque d'un radical aminyle sur les groupements phényles des complexes aminoferrocène-glucose **15** préalablement greffés sur une surface de carbone vitreux via l'oxydation de l'amine aromatique.

En résumé, une micro-électrolyse du complexe aminoferrocène-glucose **15** effectuée au potentiel d'oxydation de l'amine ou au potentiel d'oxydation du ferrocène en présence de collidine conduit au greffage covalent du composé **15** sur la surface de carbone vitreux. Les réponses électrochimiques montrent une organisation différente à la surface de l'électrode selon la méthode de greffage appliquée. Des analyses AFM devront être effectuées sur chacune de ces surfaces pour évaluer l'épaisseur de la couche formée et confirmer ou pas la formation de multicouches hétérogènes.

6 Électrogreffage du complexe aminoferrocène-glucose **15** sur une surface de carbone vitreux dans une solution aqueuse

L'électrogreffage du composé **15** sur une surface de carbone vitreux a été effectué par l'oxydation de l'amine aromatique en solution aqueuse afin de pouvoir étudier les propriétés du revêtement pour des applications antifouling.

6.1 Étude électrochimique du complexe aminoferrocène-glucose **15** dans une solution aqueuse

Tout d'abord, le comportement électrochimique de l'aminoferrocène-glucose **15** (1 mM) a été étudié à l'aide d'une électrode de carbone vitreux par voltammétrie cyclique en balayant le potentiel de -0,3 V à +0,8 V pendant 3 cycles à 100 mV/s dans une solution d'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), à pH = 8,3. Le voltampérogramme de la Figure 3. 24 décrit un système réversible mono-électronique à +0,23 V (vs ECS) qui est attribué au couple ferrocénium/ferrocène. Puis, une seconde vague d'oxydation irréversible mono-électronique apparaît à +0,58 V (vs ECS) et serait attribuée à l'oxydation de l'amine aromatique. Or, le radical cation de l'amine est instable dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) à un pH = 8,3 et subit une réaction de dimérisation donnant lieu à la formation d'un produit de couplage, qui pourrait être la *para*-aminodiphénylamine, dont le système réversible apparaît à +0,007 V (vs ECS).

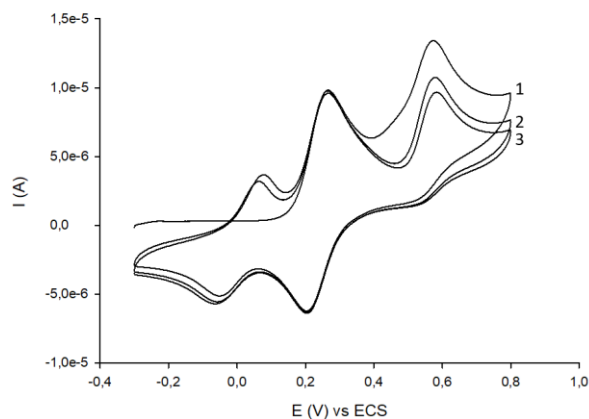


Figure 3. 24 : Réf : ECS ; ET : CV ; CE : Pt. Étude électrochimique du composé aminoferrocène-glucose **15** (1 mM) dans une solution d'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), réalisée par voltammétrie cyclique de -0,3 V à +0,8 V (3 cycles) à l'aide d'une électrode de carbone vitreux, à pH = 8,3, $v = 100$ mV/s.

6.2 Comparaison des électrogreffages du complexe aminoferrocène-glucose **15** dans une solution aqueuse en l'absence et en présence de base

L'électrogreffage de l'aminoferrocène-glucose **15** (1 mM) sur une surface de carbone vitreux a été réalisé en l'absence ou en présence de base par voltammétrie cyclique en balayant le potentiel de -0,3 V à +0,8 V pendant 10 cycles à 100 mV/s dans une solution d'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L). Puis, l'électrode modifiée a été rincée et nettoyée aux ultrasons dans l'eau ultra pure pendant 10 min avant d'être transférée dans une cellule d'étude contenant uniquement de l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), à pH = 8,3. L'électrode modifiée sera étudiée par voltammétrie cyclique en balayant le potentiel de -0,3 V à +0,6 V pendant 10 cycles à 100 mV/s.

En l'absence d'hydroxyde sodium (2 M), le voltampérogramme de greffage (Figure 3. 25 ; a) réalisé à pH = 8,3 ne montre pas de passivation à l'électrode au niveau du pic d'oxydation de l'amine. Bien que l'intensité de la vague d'oxydation de l'amine diminue au fur et à mesure des cycles, l'allure de la vague ne présente aucune déformation, signifiant que le greffage de l'aminoferrocène-glucose **15** n'a pas eu lieu et que par conséquent, le radical aminyle ne s'est pas formé au cours du balayage du potentiel. De plus, l'intensité du système réversible du produit de couplage augmente légèrement pour les deux premiers cycles et se stabilise pour les suivants.

La réponse de l'électrode modifiée (Figure 3. 25 ; b) montre deux systèmes réversibles à -0,03 V (vs ECS) et à +0,32 V (vs ECS). Le premier système à -0,03 V (vs ECS) pourrait correspondre au produit de couplage tandis que le second système à +0,32 V (vs ECS) serait associé au couple redox ferrocénium/ferrocène. L'intensité de courant du premier système réversible est relativement stable au cours des cycles contrairement au système du couple redox ferrocénium/ferrocène dont l'intensité diminue rapidement. Cette réponse électrochimique laisse penser que le produit de couplage se physisorbe sur la surface de l'électrode modifiée avec un taux de recouvrement électrochimique de $1,13 \times 10^{-10}$ mol/cm² pour le second cycle.

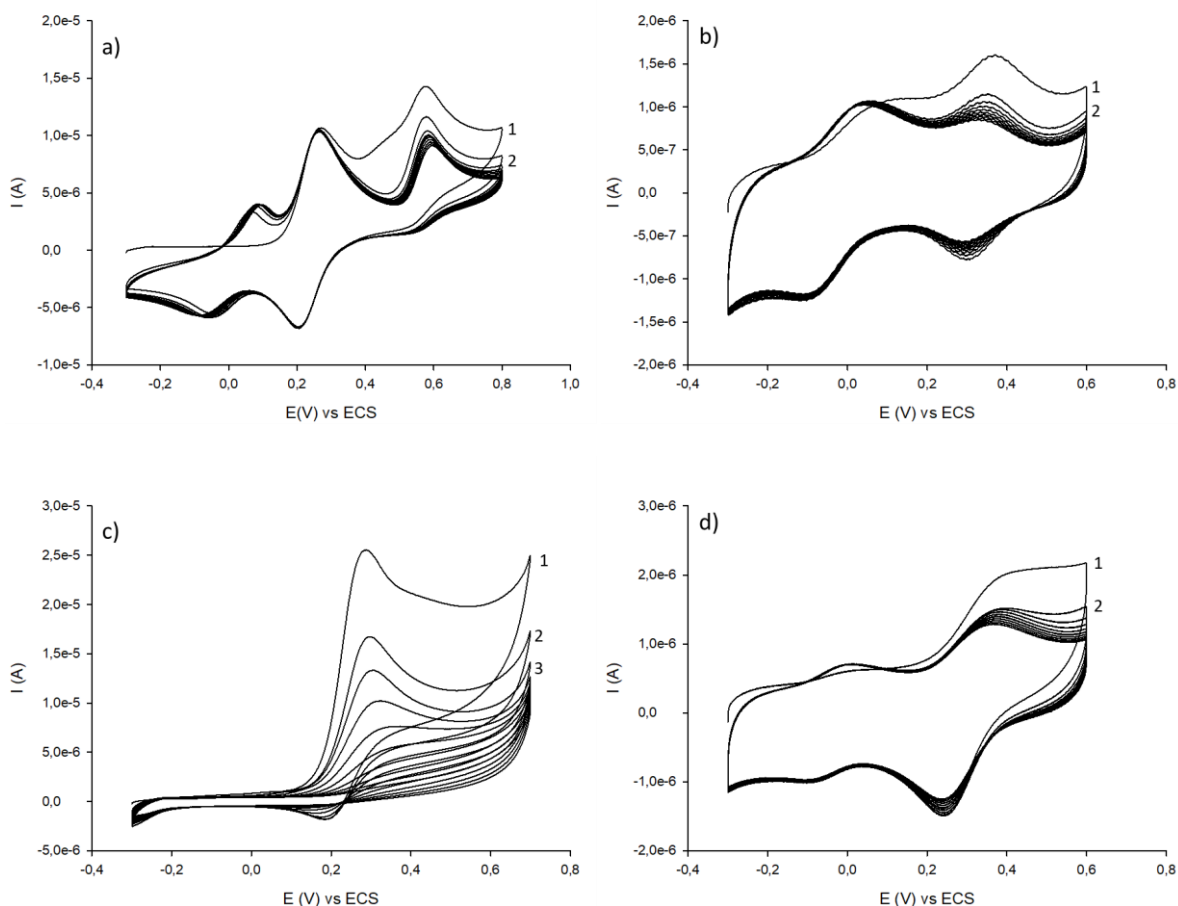


Figure 3. 25 : Réf : ECS ; ET : CV ; CE : Pt. **a)** Greffage du complexe aminoferrocène-glucose **15** (1 mM) sur une surface de carbone vitreux par voltammétrie cyclique (10 cycles) de -0,3 V à +0,8 V dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), à pH = 8,3, $\nu = 100$ mV/s. **b)** Réponse de l'électrode modifiée par voltammétrie cyclique (10 cycles) de -0,3 V à +0,6 V dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), à pH = 8,3, $\nu = 100$ mV/s. **c)** Greffage du complexe aminoferrocène-glucose **15** (1 mM) sur une surface de carbone vitreux par voltammétrie cyclique (10 cycles) de -0,3 V à +0,8 V dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), à pH = 12,2 en présence de 120 équivalents d'hydroxyde de sodium (NaOH, 2 M), $\nu = 100$ mV/s. **d)** Réponse de l'électrode modifiée par voltammétrie cyclique (10 cycles) de -0,3 V à +0,6 V dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), à pH = 8,3, $\nu = 100$ mV/s.

Or, d'après le chapitre 2, la formation du radical aminyle en solution aqueuse est facilitée à un pH = 12. Ainsi, en se plaçant à un pH = 12,2, en présence de 120 équivalents d'hydroxyde de sodium (NaOH, 2 M), le voltampérogramme de greffage (Figure 3. 25 ; c) montre dans un premier temps la disparition du système réversible représentant le produit de couplage qui, normalement, devrait apparaître autour de +0,0 V (vs ECS). Le couple redox ferrocénium/ferrocène, situé à +0,24 V (vs ECS), devient un système irréversible en raison d'une diminution de l'intensité de la vague cathodique et d'une multiplication par un facteur de 2,4 de l'intensité de la vague anodique par rapport à celle qui est décrite dans le voltampérogramme de greffage sans base à pH = 8,3 (Figure 3. 25 ; a). Cette vague anodique, située à +0,28 V (vs ECS), représente à la fois l'oxydation du ferrocène en cation ferrocénium et l'oxydation de l'amine dont la vague s'est déplacée vers des potentiels cathodiques pour atteindre le potentiel d'oxydation du ferrocène due à la présence de la base. Ce déplacement de potentiel est probablement dû aux hydroxyles de la base qui viennent complexer la fonction amine et faciliter son oxydation. Enfin, l'intensité de la vague d'oxydation de l'amine diminue au fur et à mesure des cycles, décrivant un phénomène de passivation à l'électrode qui confirme le dépôt d'une couche organique du complexe aminoferrocène **15** sur la surface de carbone vitreux.

La réponse de l'électrode modifiée (Figure 3. 25 ; d) montre dans un premier temps que le système réversible à $-0,03$ V (vs ECS) attribué au produit de couplage est toujours présent sur la surface de l'électrode. Cependant, son intensité est relativement faible par rapport à la réponse électrochimique précédente et elle reste constante au cours des cycles, signifiant qu'une faible quantité de produits de couplage s'est physisorbée sur la surface de l'électrode. Le système réversible du couple redox ferrocénium/ferrocène à $+0,31$ V (vs ECS) affiche une nette augmentation de l'intensité de courant qui influe sur la valeur du taux de recouvrement électrochimique passant de $6,66E-11$ mol/cm² (à pH = 8,3) à $2,69E-10$ mol/cm² (à pH = 12,2) pour le second cycle. Ce résultat indique donc que la couche organique déposée sur la surface est proche d'une monocouche (Rappel: le taux de recouvrement électrochimique d'une monocouche de 1-méthylferrocène-4-phényl-1H-1,2,3-triazole immobilisé sur une surface de carbone vitreux est de l'ordre de $4,4E-10$ mol/cm²)¹⁴³ en considérant l'encombrement stérique lié au repliement de la molécule sur elle-même et à la position du ferrocène.

7 Propriété anti-adhésion bactérienne *in vitro* du complexe aminoferrocène-glucose 15

7.1 Présentation du test anti-adhésion bactérienne

L'équipement est constitué d'une microplaque de 96 puits au fond desquels se trouve une cellule électrochimique à trois électrodes dont l'électrode de référence Ag, l'électrode de travail en carbone et la contre-électrode en carbone. Un circuit imprimé, relié au réseau électrochimique, est placé à l'arrière de la microplaque qui est déposée sur un connecteur spécifique servant d'interface entre les cellules électrochimiques et le potentiostat (Schéma 3. 21).

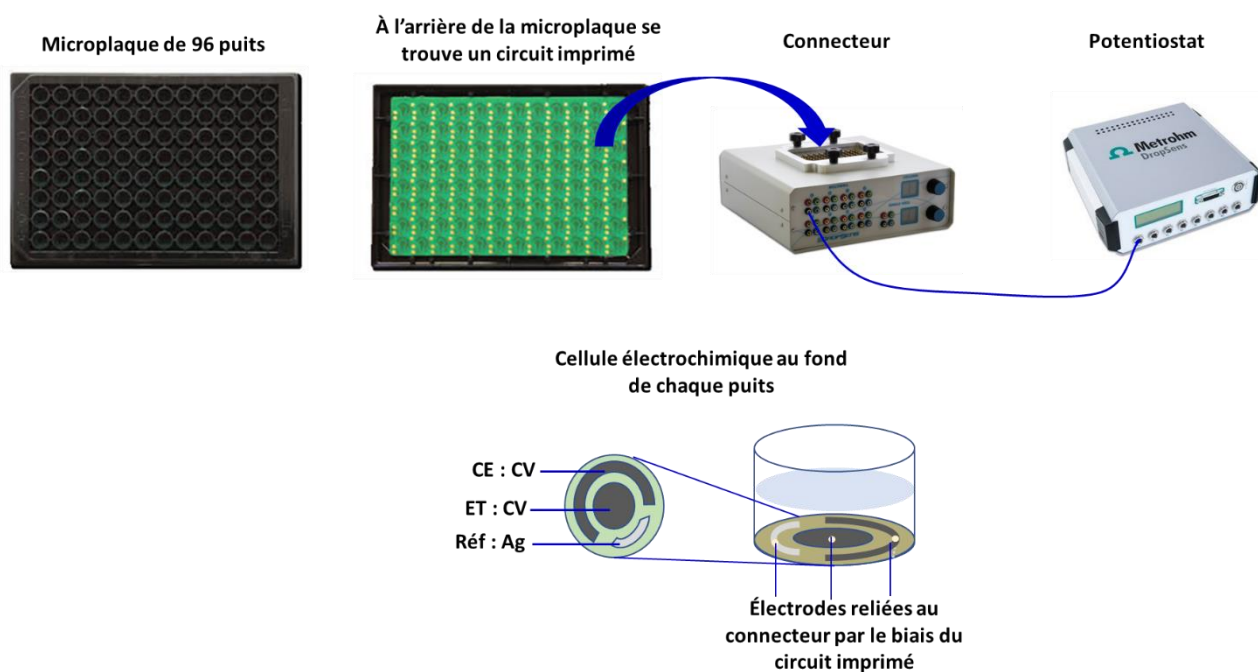


Schéma 3. 21 : Présentation de l'équipement nécessaire pour effectuer le test anti-adhésion bactérienne. Représentation schématique de la cellule électrochimique à l'intérieur d'un puits de la microplaque.

Ce multipotentiostat contrôlé par le logiciel Dropview permet d'effectuer des mesures électrochimiques simultanées en utilisant la même technique sur chacun des puits de la même colonne. Cependant, une seule colonne à la fois peut être sollicitée.

L'avantage d'utiliser une microplaque à 96 puits est de pouvoir travailler avec de faibles quantités de matières étant donné que le volume maximal de chaque puits est égal à 300 µL, mais également d'analyser plusieurs revêtements en même temps et en répliques.

La souche bactérienne marine TC8 (TC pour Toulon Collection) a été choisie pour effectuer le test anti-adhésion car elle est cultivable, elle est capable de coloniser un certain nombre de surfaces immergées et elle est sensible aux différentes propriétés de surface. Elle a été isolée à partir d'un biofilm naturel formé sur un coupon de silicone immergé dans la baie de Toulon pendant 6 h.¹⁵¹

L'analyse de la séquence du gène codant l'acide ribonucléique ribosomique 16S (ADNr 16S) a montré que la souche TC8 appartient au groupe Proteobacteria dans la catégorie Gamma-Proteobacteria qui se divise elle-même en quatre genres différents, *Pseudoalteromonas*, *Alteromonas*, *Agarivorans* et *Shewanella*. Ainsi, TC8 appartiendrait au genre *Pseudoalteromonas* et posséderait un pourcentage d'identité de 100 % avec la *Pseudoalteromonas lipolytica*.¹⁵² TC8 est une bactérie à Gram négatif, possédant une membrane externe riche en lipopolysaccharides et pauvre en peptidoglycanes.

La souche bactérienne a été cultivée dans le Vaätanen Nine Salt Solution (VNSS) à 20 °C sous des conditions d'agitation à 120 rpm. Les bactéries sont collectées lorsque la croissance bactérienne atteint la phase de ralentissement située à la fin de la phase exponentielle et au début de la phase stationnaire. En effet, l'ensemencement de la microplaque doit s'effectuer à ce stade pour avoir un nombre constant de bactéries sans multiplication et sans mort cellulaire.

L'introduction de la souche bactérienne dans un milieu démunie en source de carbone, tel que l'eau de mer artificielle (ASW, 36 g/L), provoque un stress cellulaire chez les bactéries qui s'orientent vers une adhésion optimale. La densité optique (DO) pour l'ensemencement est fixée à 0,3.

La plaque polystyrène (PS) est la référence pour les différents tests anti-adhésion car elle représente le taux d'adhésion à 100 %.

L'adhésion bactérienne est mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaque multimode à fluorescence par comptage des cellules marquées en utilisant un fluorochrome qui est également un agent intercalant de l'ADN. Le marqueur d'ADN SYTO 61 a été choisi pour comptabiliser le nombre de bactéries ayant adhéré au fond de chaque puits.

7.2 Activité anti-adhésion bactérienne du complexe aminoferrocène-glucose 15

L'activité anti-adhésion bactérienne du complexe aminoferrocène-glucose **15** a été évaluée *in vitro*. Le protocole détaillé de cette procédure se trouve dans la partie expérimentale.¹⁵³

L'électrodépôt du complexe aminoferrocène **15** a été effectué au fond de chaque puits appartenant aux colonnes 2 et 3 (8 puits par colonne, donc 16 puits en tout). Les surfaces de carbone vitreux à l'intérieur des puits de la colonne 1 n'ont pas été modifiées.

¹⁵¹ Camps, M.; Briand, J.-F.; Guentas-Dombrowsky, L.; Culioli, G.; Bazire, A.; Blache, Y., *Marine Pollution Bulletin* **2011**, *62*, 1032-1040.

¹⁵² Brian-Jaisson, F.; Ortalo-Magné, A.; Guentas-Dombrowsky, L.; Armougom, F.; Blache, Y.; Molmeret, M., *Microbial Ecology* **2014**, *68*, 94-110.

¹⁵³ Peigneguy, F.; Cougnon, C.; Barry-Martinet, R.; Bressy, C.; Gohier, F., *ACS Applied Materials & Interfaces* **2020**, *12*, 33370-33376.

Chapitre 3 : Électrogreffage d'un glucide présentant une sonde électro-active

Ainsi, l'immobilisation du complexe aminoferrocène **15** (1 mM) au fond de chaque puits a été réalisée par voltammétrie cyclique de -0,3 V à +0,8 V pendant 5 cycles à 100 mV/s dans l'eau de mer artificielle (ASW, 36 g/L) en présence de 20 équivalents d'hydroxyde de sodium (1 M), à pH = 10,3. Puis, la solution de greffage a été retirée de chaque puits et ces derniers ont été rincés plusieurs fois avec de l'eau de mer artificielle (ASW, 36 g/L). La réponse électrochimique a été effectuée par voltammétrie cyclique de -0,3 V à +0,6 V pendant 10 cycles à 100 mV/s dans l'eau de mer artificielle (ASW, 36 g/L), à pH = 8,3, dans chacun des puits des colonnes 2 et 3 (Schéma 3. 22).

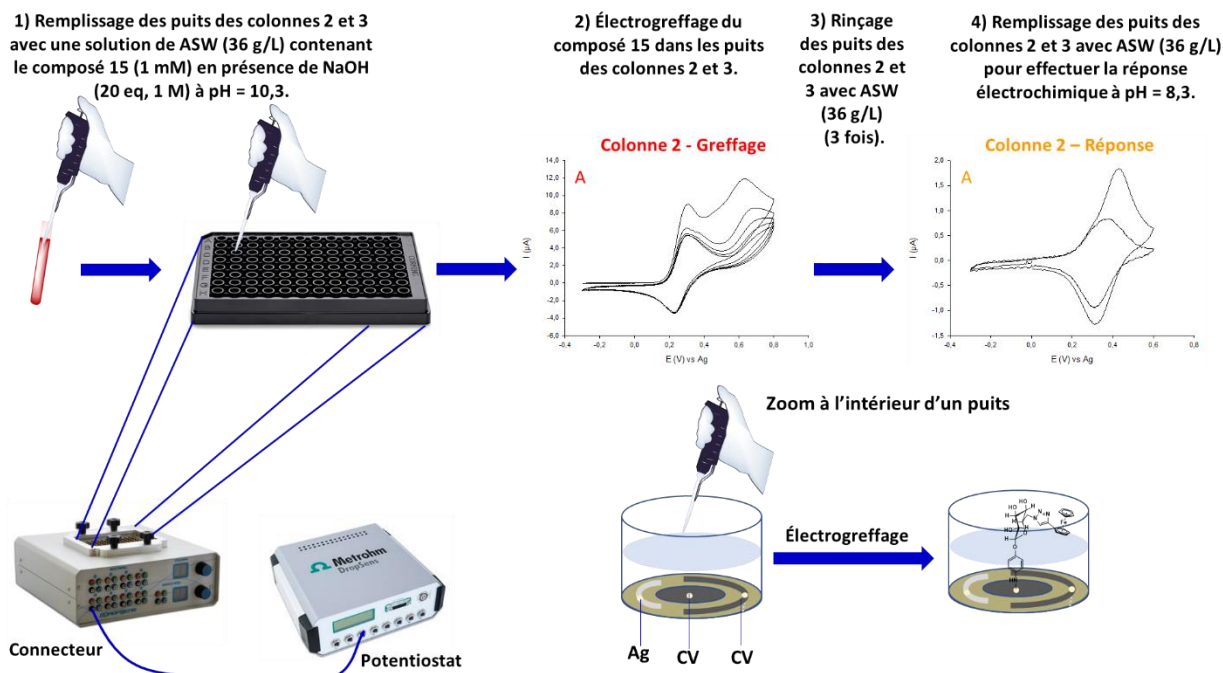


Schéma 3. 22 : Représentation schématique de l'électrodépôt du composé **15** au fond de chaque puits des colonnes 2 et 3, suivi de la réponse électrochimique de la couche organique déposée.¹⁵³

Pour chaque puits, les voltampérogrammes d'électrogreffage montrent le système réversible du ferrocène ainsi que la vague d'oxydation de l'amine aromatique dont l'intensité diminue au fur et à mesure des cycles jusqu'à la passivation de l'électrode, signalant le dépôt d'une couche organique sur la surface. De plus, le produit de couplage semble être absent du milieu car aucun système électro-actif lui faisant référence n'est visible sur le voltampérogramme contrairement à ce qui a été démontré dans une cellule électrochimique classique utilisant les mêmes conditions expérimentales. Les réponses électrochimiques obtenues dans chacun des puits montrent le système réversible du ferrocène signalant que le composé **15** est bien immobilisé sur la surface. Cependant, l'intensité du courant diminue légèrement entre le premier et le dixième cycle en raison peut-être de la désorption des espèces physisorbées qui n'ont pas pu être éliminées par les ultrasons (Figure 3. 26).

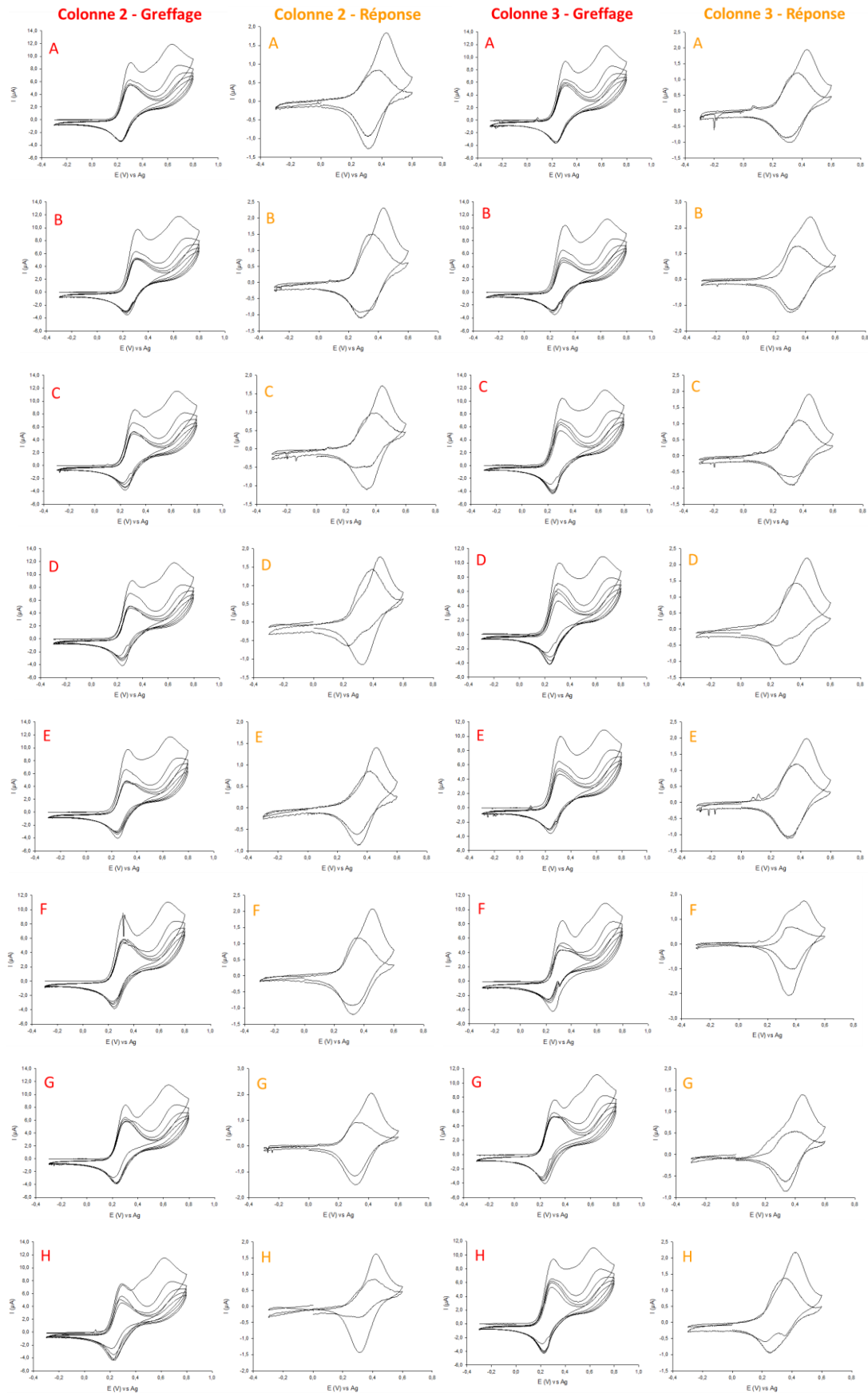


Figure 3. 26 : Réf : Ag ; ET : CV ; CE : CV. Électrogreffage du complexe aminoferrocène-glucose **15** sur une surface de carbone vitreux dans les 8 puits (A, B, C, D, E, F, G et H) des colonnes 2 et 3, par voltamétrie cyclique (5 cycles) de -0,3 V à +0,8 V dans l'eau de mer artificielle (ASW, 36 g/L) en présence d'hydroxyde de sodium (20 eq, 1 M), à pH = 10,3, $\nu = 100$ mV/s. Réponses des électrodes modifiées dans les 8 puits des colonnes 2 et 3, par voltamétrie cyclique (10 cycles)

Chapitre 3 : Électrogreffage d'un glucide présentant une sonde électro-active

de -0,3 V à +0,6 V dans l'eau de mer artificielle (ASW, 36 g/L), à pH = 8,3, $v = 100$ mV/s. Représentation du 1^{er} et du 10^{ème} cycle pour les réponses électrochimiques.¹⁵³

Ensuite, l'eau de mer artificielle (ASW, 36 g/L) a été éliminée de chacun des puits pour démarrer l'ensemencement des colonnes 1, 2 et 3 dans les puits A, B, C et D avec la suspension bactérienne TC8 diluée dans l'eau de mer artificielle (ASW, 36 g/L) avec une densité optique de 0,3. Les autres puits E, F, G et H des colonnes 1, 2 et 3 ont été remplis uniquement avec de l'eau de mer artificielle (ASW, 36 g/L). Ensuite, la microplaque a été incubée à 20 °C et à 120 rpm pendant 16 h. Un balayage de potentiel a été appliqué sur toute la colonne 2 de -0,3 V à +0,6 V afin de stimuler la couche organique du complexe aminoferrocène **15** pendant toute la durée de l'expérience. Au contraire, la surface de carbone vitreux de la colonne 1 et le revêtement de l'aminoferrocène **15** déposé au fond des puits de la colonne 3 n'ont subi aucune stimulation électrique (Schéma 3. 23).

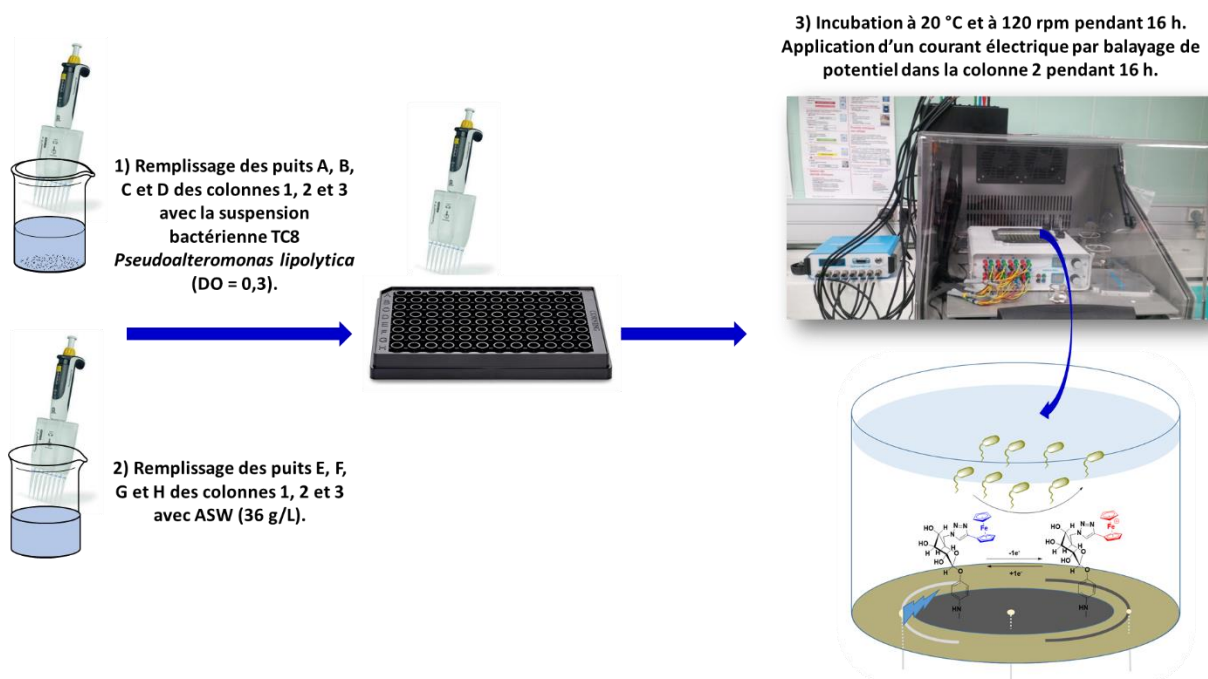


Schéma 3. 23 : Représentation schématique de l'ensemencement et de l'incubation de la microplaque. Application du potentiel électrique sur toute la colonne 2 où le fond des puits est modifié par le greffage du composé **15**.¹⁵³

Chapitre 3 : Électroreffage d'un glucide présentant une sonde électro-active

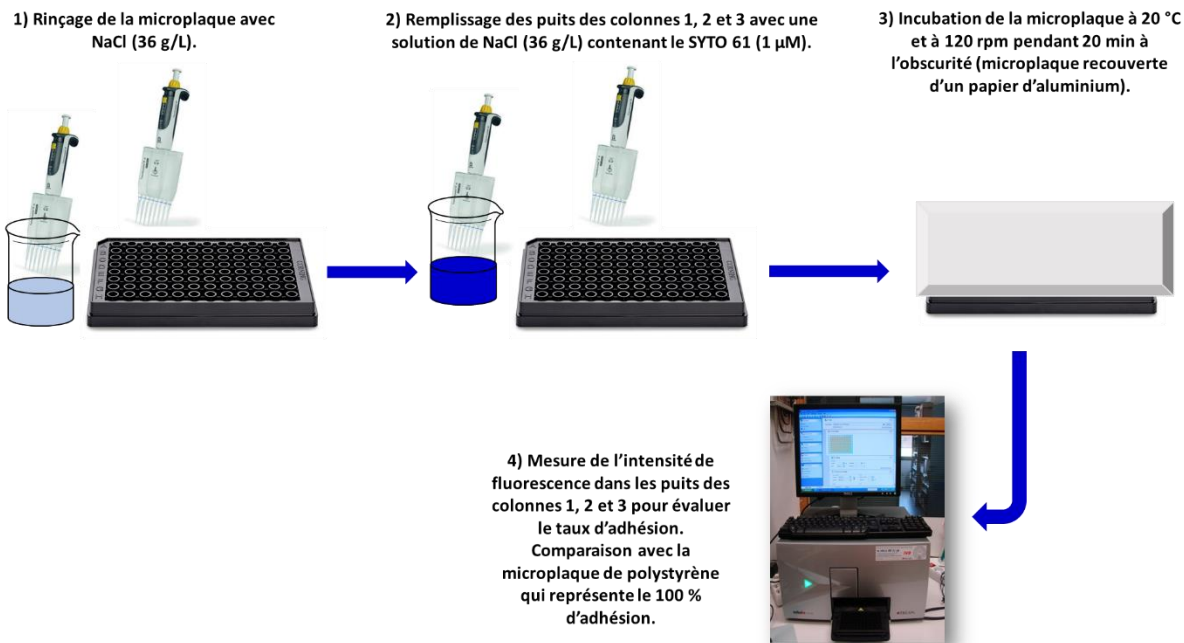


Schéma 3. 24 : Représentation schématique du marquage des bactéries TC8 au SYTO 61 pour mesurer l'intensité de fluorescence afin d'évaluer le taux d'adhésion (%) en comparaison avec la microplaque de polystyrène.

Après 16 h d'incubation, les puits ont été rincés plusieurs fois à l'aide d'une solution de chlorure de sodium (NaCl, 36 g/L). Le marquage des bactéries (Schéma 3. 24) a été effectué à partir d'une solution de chlorure de sodium (NaCl, 36 g/L) contenant le fluorochrome SYTO 61 (1 µM) afin de mesurer les intensités de fluorescence (IF) qui serviront à calculer le taux d'adhésion (%) par rapport au polystyrène qui représente le 100 % d'adhésion selon l'équation (1) :

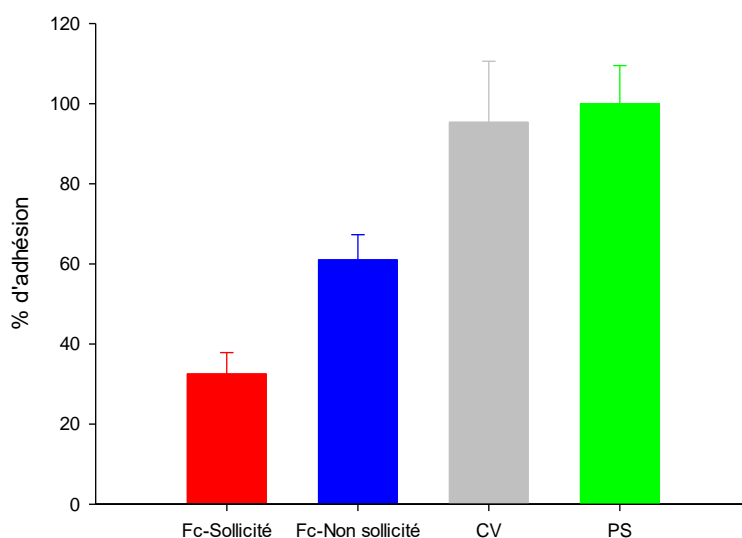
$$\text{Taux d'adhésion (\%)} = \frac{IF_{(\text{Avec bactéries ; revêtement})} - IF_{(\text{ASW ; revêtement})}}{IF_{(\text{Avec bactéries ; PS})} - IF_{(\text{ASW ; PS})}} \times 100 \quad (1)$$

$IF_{\text{avec bactéries}}$ représente l'intensité de fluorescence mesurée dans les puits inoculés avec les bactéries tandis que IF_{ASW} correspond à l'intensité de fluorescence mesurée dans les puits remplis d'eau de mer artificielle (ASW, 36 g/L).

Tout d'abord, le taux d'adhésion mesuré sur une surface de carbone vitreux non sollicitée est de $95 \% \pm 15 \%$ par rapport au polystyrène ($100 \% \pm 10 \%$), signifiant que la surface de carbone vitreux ne présente pas d'activité antibactérienne. De plus, des travaux de thèse réalisés à Toulon ont montré que l'application d'un courant électrique sur une électrode de carbone vitreux vierge n'améliore pas non plus les propriétés anti-adhésives de la surface carbonée. Au contraire, l'accumulation bactérienne sur le revêtement aminoferrocène **15** non sollicité a diminué de $39 \% \pm 6 \%$ par rapport à la plaque de polystyrène, indiquant que le film possède certaines propriétés de surface capables de ralentir ou de réduire l'adhésion bactérienne. Lorsque le ferrocène est sollicité par un balayage de potentiel pendant 16 h, il passe d'un état oxydé à un état réduit de façon continue. La modification de l'état de charge du revêtement a un effet significatif sur la réduction du taux d'adhésion puisqu'il est égal à $32 \% \pm 5 \%$. En effet, la bactérie aura plus de difficultés à établir un véritable lien d'accroche avec une surface dont la charge évolue sans arrêt (Tableau 3. 1 ; Histogramme 3. 1).

Revêtements	Intensité de fluorescence du SYTO 61 en présence de bactéries (Moyenne)	Intensité de fluorescence du SYTO 61 en l'absence de bactéries (Moyenne)	% d'adhésion
Composé 15 avec sollicitation	14424	7360	32 % ± 5 %
Composé 15 sans sollicitation	21038	6891	61 % ± 6 %
Carbone vitreux sans sollicitation	29770	7744	95 % ± 15 %
Polystyrène	26837	3652	100 % ± 10 %

Tableau 3. 1 : Récapitulatif des mesures d'intensité de fluorescence du SYTO 61 en présence et en l'absence des bactéries marines TC8 pour le revêtement de l'aminoferrocène-glucose **15** sollicité et non sollicité, pour le carbone vitreux non sollicité et pour le polystyrène. Récapitulatif des % d'adhésion par rapport au polystyrène.¹⁵³



Histogramme 3. 1 : Taux d'adhésion (%) des bactéries marines TC8 sur un revêtement aminoferrocène-glucose **15** sollicité (barre rouge, Fc-Sollicité) et non sollicité (barre bleue, Fc-Non sollicité), sur une surface de carbone vitreux non sollicitée (barre grise, CV) par rapport au polystyrène (PS) qui représente le 100 % d'adhésion.¹⁵³

7.3 Test de toxicité du complexe aminoferrocène-glucose 15

Au cours des 16 h d'incubation avec ou sans stimulation électrique, le complexe aminoferrocène **15** peut se détacher de la surface ou il peut se dégrader en des produits secondaires qui peuvent être toxiques pour les bactéries.

L'objectif est d'effectuer un test de toxicité afin de savoir si l'efficacité du revêtement est due à ses propriétés anti-adhésives ou à la toxicité des produits libérés dans l'eau de mer artificielle (ASW, 36 g/L).

Ainsi, les toxicités du revêtement aminoferrocène **15** et de la surface de carbone vitreux ont été évaluées à partir des lixiviats récupérés dans les puits E, F, G et H des colonnes 1, 2 et 3 afin de les distribuer dans une nouvelle microplaque de 96 puits en présence de la suspension bactérienne TC8 de densité optique égale à 0,6 pendant 1 h d'incubation à 20 °C et à 120 rpm (Schéma 3. 25). Un test de toxicité similaire a été effectué

Chapitre 3 : Électrogreffage d'un glucide présentant une sonde électro-active

sur la même microplaque en remplaçant les lixiviats par différentes concentrations en éthanol (0 % ; 2,5 % ; 5 % ; 10 % ; 20 % ; 35 % et 50 %) qui est utilisé comme la référence de toxicité.

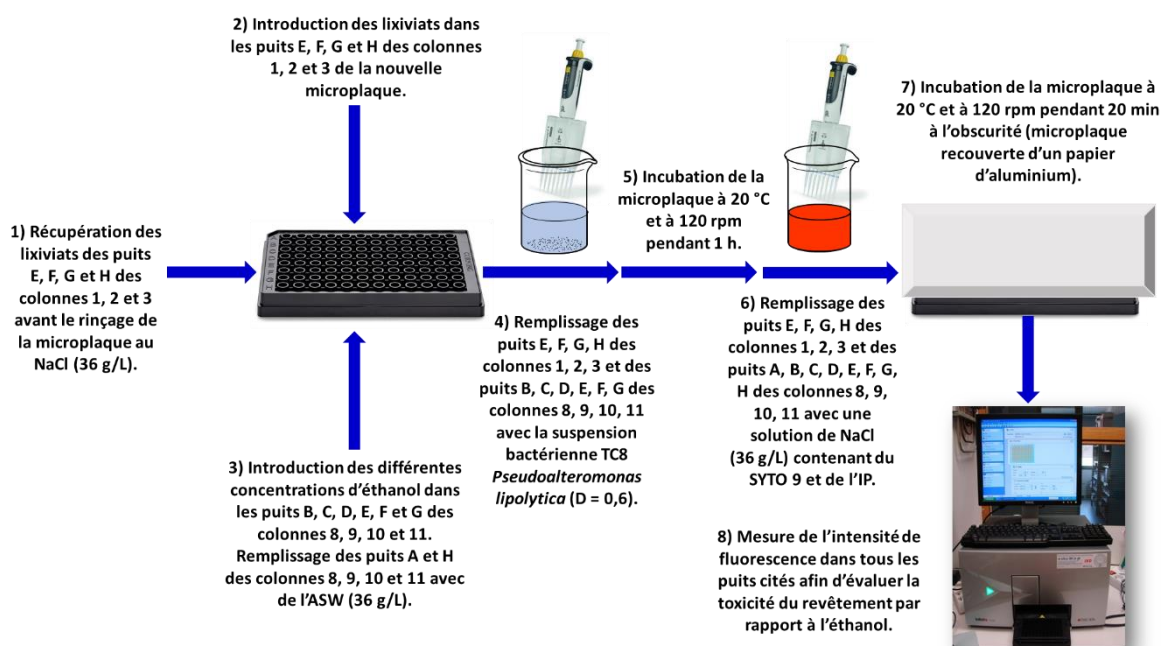


Schéma 3. 25 : Représentation schématique d'un essai live/dead sur les lixiviats de l'aminoferrocène-glucose **15** et de la surface de carbone vitreux ainsi que sur l'éthanol.

L'intégrité des membranes des bactéries a été déterminée par une expérience LIVE/DEAD. Il s'agit d'un double marquage par les fluorochromes SYTO 9 et l'iodure de propidium (IP). Le SYTO 9 pénètre dans toutes les cellules intègres ou non tandis que l'IP entre uniquement dans les cellules avec une membrane endommagée. Le ratio des intensités de fluorescence SYTO 9/IP indique que le revêtement est toxique s'il tend vers zéro. Ainsi, la surface de carbone vitreux et le composé **15** (avec et sans sollicitation électrique) ne présentent aucune toxicité vis-à-vis des bactéries marines TC8 puisque le ratio tend vers l'infini contrairement à l'éthanol qui devient toxique à partir d'une concentration de 10 % (Tableau 3. 2 ; Tableau 3. 3 ; Tableau 3. 4). Ainsi, la réduction du taux d'adhésion bactérienne est bien due aux propriétés anti-adhésives du revêtement aminoferrocène **15**.

Test de toxicité de l'éthanol (%)	Intensité de fluorescence du SYTO 9 (Moyenne)	Intensité de fluorescence de l'IP (Moyenne)	Ratio SYTO 9/IP
0	17757	0	Infini
2,5	24025	0	Infini
5	24257	143	169,63
10	23539	1623	14,50
20	29603	8011	3,70
35	9993	21771	0,46
50	7190	26348	0,27

Tableau 3. 2 : Test de toxicité de l'éthanol réalisé par un essai live/dead (ratio intensité de fluorescence SYTO 9 (live)/IP (dead)) sur une souche de bactérie marine TC8.¹⁵³

Test de toxicité du composé 15 réalisé	Intensité de fluorescence du SYTO 9 (Moyenne)	Intensité de fluorescence de l'IP (Moyenne)	Ratio SYTO 9/IP
Après 16 h de sollicitation	22438	0	Infini
Après 16 h sans sollicitation	22619	0	Infini

Tableau 3. 3 : Test de toxicité réalisé sur les lixiviats de l'aminoferrocène-glucose **15** sollicité et non sollicité par un essai live/dead (ratio intensité de fluorescence SYTO 9 (live)/IP (dead)) sur une souche de bactérie marine TC8.¹⁵³

Test de toxicité du carbone vitreux	Intensité de fluorescence du SYTO 9 (Moyenne)	Intensité de fluorescence de l'IP (Moyenne)	Ratio SYTO 9/IP
Après 16 h sans sollicitation	23761	0	Infini

Tableau 3. 4 : Test de toxicité réalisé sur les lixiviats du carbone vitreux non sollicité par un essai live/dead (ratio intensité de fluorescence SYTO 9 (live)/IP (dead)) sur une souche de bactérie marine TC8.¹⁵³

7.4 Test de vieillissement du revêtement aminoferrocène-glucose **15**

Un test de vieillissement a été effectué sur le revêtement aminoferrocène-glucose **15** afin d'évaluer son évolution au cours du temps en présence ou en l'absence d'une stimulation électrique. Tout d'abord, le complexe aminoferrocène-glucose **15** a été greffé sur une surface de carbone vitreux au fond d'un puits. Puis, le système électro-actif du ferrocène greffé sur le substrat a été suivi par voltammétrie cyclique de -0,3 V à +0,6 V dans l'eau de mer artificielle (ASW, 36 g/L), à pH = 8,3, pendant 14 h à 100 mV/s (Figure 3. 27).

Tous les cycles participant au vieillissement du revêtement ont été enregistrés, mais pour plus de clarté, seuls les cycles 10, 400, 800, 1200, 1600, 2000, 2400 et 2800 ont été représentés. Le voltampérogramme de la Figure 3. 27 indique une diminution de l'intensité de courant du couple redox ferrocénium/ferrocène, d'environ 0,4 μA entre le 10^{ème} et le 400^{ème} cycle, c'est-à-dire, pendant les deux premières heures de stimulation électrique. Cette perte de courant va cependant ralentir très nettement puisqu'à la fin de l'expérience, le voltampérogramme montre toujours la présence du couple redox sur la surface de carbone vitreux, avec une intensité supérieure à 0,2 μA et ceci en 12 h de sollicitation par balayage de potentiel. La perte d'intensité au début de l'expérience pourrait être associée à l'élimination des espèces physisorbées. Ceci peut être expliqué par le fait que l'électrode a été rincée plusieurs fois à l'eau de mer artificielle (ASW, 36 g/L) sans être nettoyée aux ultrasons pendant 10 min.

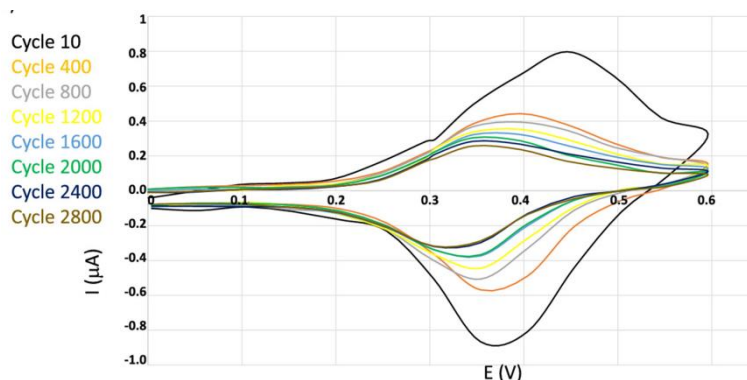


Figure 3. 27 : Réf : Ag ; ET : CV ; CE : CV .Test de vieillissement du revêtement aminoferrocène-glucose **15** sollicité par un balayage de potentiel de -0,3 V à +0,6 V pendant 14 h dans l'eau de mer artificielle (ASW, 36 g/L), à pH = 8,3, $v = 100$ mV/s. Représentation du 10^{ème} cycle (courbe noire), du 400^{ème} cycle (courbe orange), du 800^{ème} cycle (courbe grise), du 1200^{ème} cycle (courbe jaune), du 1600^{ème} cycle (courbe bleue), du 2000^{ème} cycle (courbe verte), du 2400^{ème} cycle (courbe bleu foncé), du 2800^{ème} cycle (courbe marron).¹⁵³

La mouillabilité de la couche organique aminoferrocène-glucose **15** a également été analysée par des mesures d'angle de contact à l'eau ultrapure réalisées dans un premier temps à t_0 après l'électrogreffage puis, après 14 h de vieillissement dans l'eau de mer artificielle (ASW, 36 g/L) avec et sans sollicitation électrique (Tableau 3. 5). Les mesures d'angle de contact nécessitent le démontage irréversible de la microplaque. À t_0 , l'angle de contact d'une valeur de $32^\circ \pm 2^\circ$ met en évidence les propriétés d'une surface hydrophile. Ensuite, les surfaces obtenues après 14 h de contact avec l'eau de mer artificielle (ASW, 36 g/L), avec et sans sollicitation électrique, montrent des mesures d'angle de contact quasiment similaires égales à $38^\circ \pm 2^\circ$ et à $42^\circ \pm 1^\circ$, respectivement. Au contraire, l'angle de contact d'une surface de carbone vitreux vierge au fond des puits est de 140° . Ainsi, cette expérience confirme l'immobilisation d'une couche d'aminoferrocène-glucose **15** sur une surface de carbone vitreux, capable de conserver ses propriétés hydrophiles après un vieillissement de 14 h dans l'eau de mer artificielle (ASW, 36 g/L), avec ou sans sollicitation électrique.

Mesures d'ACM (°) à un temps (t)	ACM (°) Essai 1	ACM (°) Essai 2	Moyenne (°)	Écart type (°)
t_0	30,55	33,81	32,18	2,31
t = 14 h avec sollicitation	39,76	36,79	38,28	2,10
t = 14 h sans sollicitation	42,86	40,86	41,86	1,41

Tableau 3. 5 : Mesures des angles de contact moyens (ACM : moyenne des angles de contact à gauche et à droite de la goutte d'eau) à l'eau sur une surface de carbone vitreux modifiée par l'électrogreffage de l'aminoferrocène-glucose **15** à t_0 , après 14 h de sollicitation électrique dans l'eau de mer artificielle (ASW, 36 g/L) et après 14 h d'immersion dans l'eau de mer artificielle (ASW, 36 g/L).

8 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons étudié la synthèse et l'immobilisation du complexe aminoferrocène-glucose **15** sur une surface de carbone vitreux avant d'évaluer son activité antibactérienne vis-à-vis de la bactérie marine TC8.

Tout d'abord, l'électrogreffage du complexe aminoferrocène **15** sur une surface de carbone vitreux a été effectué en milieu organique, dans l'acétonitrile en présence de collidine. Les expériences ont démontré que le processus de greffage est réalisable par l'oxydation directe de l'amine ou par l'oxydation du ferrocène, indiquant un possible transfert électronique intramoléculaire de l'amine vers le cation ferrocénium à travers l'espace. Ce transfert électronique pourrait s'effectuer grâce à la proximité de l'amine avec le ferrocène qui a été démontrée par diffraction des rayons X. De plus, les analyses XPS ont indiqué la présence de fer à l'état d'oxydation (II), lors de la micro-électrolyse au potentiel d'oxydation du ferrocène, ce qui pourrait bien mettre en évidence ce transfert électronique.

Ensuite, l'électrogreffage du complexe aminoferrocène **15** a été testé en eau de mer artificielle qui est un milieu beaucoup moins efficace que l'acétonitrile. La présence d'hydroxyde de sodium pour obtenir un pH = 12,2 a permis de favoriser un attachement covalent de l'espèce organique sur la surface au lieu de la physisorption du produit de couplage qui se fait majoritairement en l'absence de base à pH = 8,3.

Une fois que les conditions dans l'eau de mer artificielle ont été déterminées, l'activité anti-adhésion bactérienne du complexe aminoferrocène **15** a pu être testée en présence de la bactérie marine TC8. Ainsi, le revêtement possède déjà une propriété anti-adhésion bactérienne qui est fortement améliorée lors de sa stimulation électrique par balayage de potentiel. En effet, la modification de l'état de charge de la surface pendant 16 h perturbe la bactérie et son adhésion. Suite à un test de vieillissement par voltammétrie cyclique pendant 14 h, le revêtement est toujours présent sur la surface et a conservé ses propriétés hydrophiles tout au long de l'expérience, d'après les mesures d'angle de contact à l'eau.

Dans le chapitre suivant, le ferrocène sera remplacé par d'autres unités électro-actives telles que le terthiophène et l'EDOT. Nous nous intéresserons à la synthèse puis à l'électrogreffage de ces composés en milieux organiques et aqueux. Deux autres molécules seront également étudiées avec une unité bithiophène située au niveau de la position anomérique du glucide (glucose ou lactose) au lieu de la position 6 habituelle. Il s'agira de modifier la stratégie antifouling précédente en mettant un glucide au contact des bactéries et une espèce électro-active proche de la surface.

CHAPITRE 4

Chapitre 4 : Électrogreffage de glucides avec des systèmes conjugués

1 Introduction

Dans ce dernier chapitre, nous avons diversifié les molécules à greffer en remplaçant la sonde ferrocène par des groupements électro-actifs à base de thiophène qui est une molécule très utilisée dans notre laboratoire. Ce choix est motivé par une chimie bien maîtrisée et des propriétés électrochimiques qui devraient être satisfaisantes par rapport à l'application visée puisque le potentiel d'oxydation de la sonde électro-active doit être inférieur à celui de l'eau de mer. Nous avons donc étudié l'électrogreffage sur une surface de carbone vitreux de différents glucides à base d'une unité terthiophène, d'une unité EDOT et d'une unité bithiophène (Schéma 4. 1).

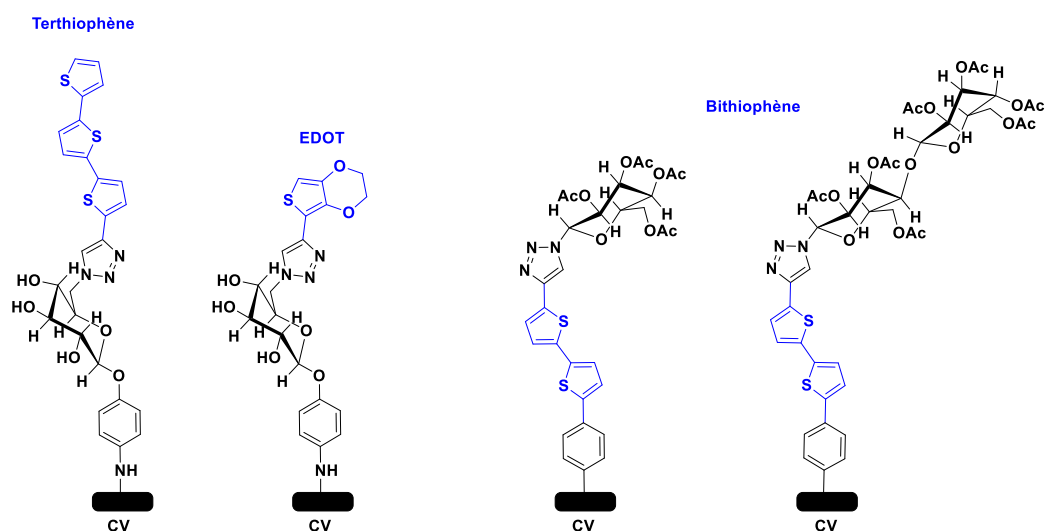


Schéma 4. 1 : Représentation schématique de l'immobilisation de l'aminoterthiophène-glucose **38**, de l'aminoEDOT-glucose **49**, de l'aminophénylbithiophène-glucose acétylé **60** et de l'aminophénylbithiophène-lactose acétylé **61** sur une surface de carbone vitreux.

Deux approches antifouling ont été mises en avant dans ce chapitre dont la première a déjà été proposée dans le chapitre 3 avec la sonde ferrocényle qui se trouvait à l'extérieur du revêtement tandis que le glucide représentait la couche inférieure. Pour cette première approche (Schéma 4. 2), l'activité antibactérienne repose principalement sur la modification de l'état de charge de la sonde électro-active provoquée par une stimulation électrique externe. La couche d'hydratation créée par le glucide devrait avoir un rôle secondaire mais aussi complémentaire car elle viendrait soutenir la sonde électro-active dans son état oxydé par solvatation des anions qui se lient au système conjugué chargé positivement. Les propriétés antibactériennes du terthiophène et de l'EDOT pourront être comparées à celle du ferrocène.

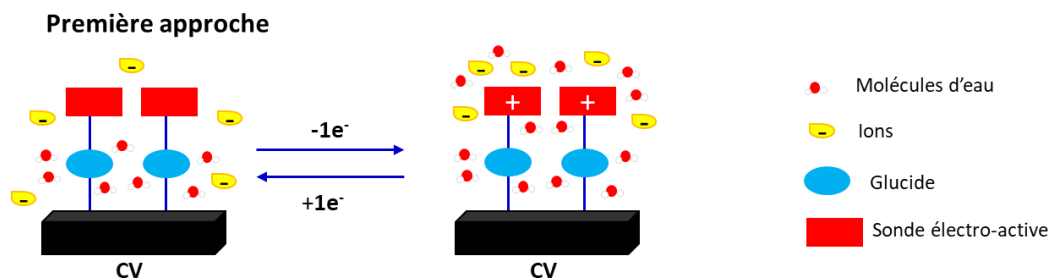


Schéma 4. 2 : Première approche antifouling visée.

Au contraire, la deuxième approche (Schéma 4. 3) place la sonde électro-active au contact de la surface et le glucide se retrouve au front, au contact de l'environnement extérieur. Cette approche met en évidence le mode d'action du glucide qui tient le rôle principal face aux protéines et aux bactéries avec la formation de la couche d'hydratation qui peut être étendue jusqu'à la surface du substrat lorsque la sonde électro-active est oxydée.

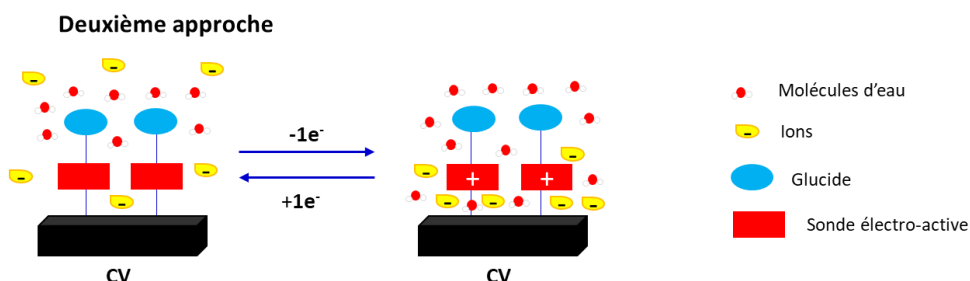


Schéma 4. 3 : Deuxième approche antifouling visée.

De plus, ces deux approches antifouling provoquent un mouvement vertical des ions qui pourrait également perturber l'accroche de la bactérie sur la surface.

Dans ce chapitre, nous avons donc décrit les synthèses et les électrogreffages de l'aminoterthiophène-glucose **38** et de l'aminoEDOT-glucose **49** sur une surface de carbone vitreux par oxydation de l'amine aromatique dans les milieux organiques et aqueux.

Puis, nous avons présenté une structure moléculaire différente de celle décrite précédemment qui répond aux propriétés développées pour la deuxième approche. En effet, le système conjugué a été introduit en position anomérique du glucide. Ainsi, nous aborderons uniquement les synthèses et les électrogreffages de l'aminophénylbithiophène-glucose acétylé **60** et de l'aminophénylbithiophène-lactose acétylé **61** sur une surface de carbone vitreux en milieu organique par réduction de sels de diazonium.

2 Première approche : sondes électro-actives à l'interface substrat/environnement

2.1 Travaux sur un glucide à base de terthiophène comme sonde électro-active

L'idée est de poursuivre sur la stratégie antifouling adoptée pour le composé aminoferrocène-glucose **15** en modifiant uniquement le paramètre de la sonde électro-active. Pour cette étude, notre choix s'est donc tourné vers le terthiophène qui possède un potentiel d'oxydation supérieur (+1,1 V vs Ag/AgCl) à celui du

ferrocène (+0,2 V vs Ag/AgCl) mais plus faible que celui d'un thiophène ($E > +2$ V vs Ag/AgCl) ou d'un bithiophène (+1,2 V vs Ag/AgCl). Il est nécessaire que le potentiel d'oxydation des sondes électro-actives choisies soit inférieur au potentiel d'électrolyse de l'eau de mer pour éviter de générer des biocides comme l'hypochlorite de sodium.

Le terthiophène sera donc le groupement terminal le plus éloigné de la surface et son rôle sera primordial étant donné qu'il est la première espèce à être au contact des protéines et des bactéries. Le profil hydrophobe voire superhydrophobe du terthiophène est susceptible de lui donner des propriétés antibactériennes. Lorsque le terthiophène est dans son état oxydé, il est possible qu'il devienne hydrophile comme le polythiophène.

En effet, d'après la littérature, une des approches possibles pour prévenir de l'encrassement biologique est de rendre une surface superhydrophobe en contrôlant l'énergie de surface et la topographie.¹⁵⁴ Ainsi, l'application d'un potentiel électrique constant a permis de modifier les propriétés redox (état dopé ou état neutre) d'un polythiophène conducteur électrodéposé sur des particules de polystyrène à partir d'un monomère de terthiophène afin de contrôler la mouillabilité de la surface qui influence l'adsorption des protéines et l'adhésion des cellules bactériennes (Schéma 4. 4). La surface superhydrophobe d'un polythiophène non dopé empêche l'adsorption du fibrinogène et l'adhésion de *Escherichia coli* car le contact entre la surface et le milieu aqueux qui suspend les protéines et les bactéries est fortement réduit dû à la formation d'une interface air-liquide. De plus, cette surface superhydrophobe montre des propriétés autopollissantes à un angle de glissement aussi faible que 3°. Au contraire, l'utilisation d'un polythiophène dopé conduit à une adhésion accrue des protéines et des bactéries due à l'augmentation de l'hydrophilie qui favorise un meilleur contact entre le milieu aqueux et la surface.

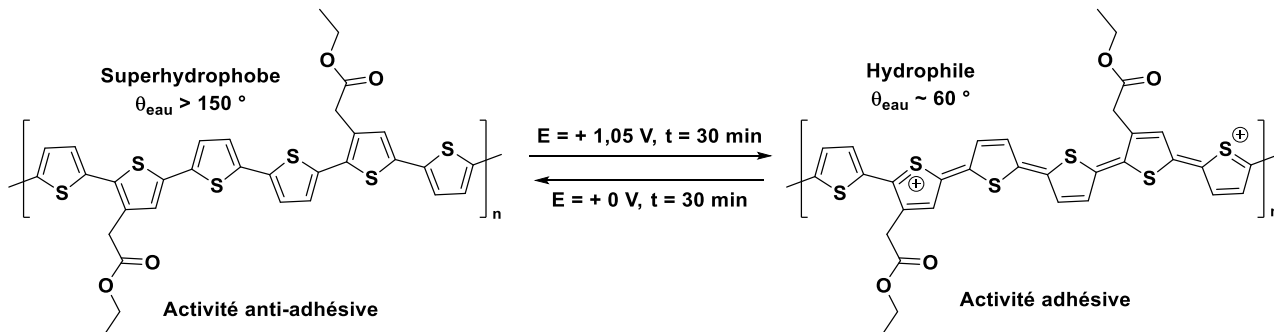


Schéma 4. 4 : Représentation schématique de l'activité antifouling d'un polythiophène dans son état dopé et dans son état réduit.

De plus, les fonctions hydroxyles libres du glucide vont pouvoir établir une couche d'hydratation au-dessous du terthiophène lorsque ce dernier est dans son état neutre. Par contre, lorsque le terthiophène est oxydé, son caractère hydrophile devrait augmenter. Ainsi, la couche d'hydratation devrait s'établir sur toute la molécule grâce à l'hydrophilie du terthiophène et à la solvatisation des ions (Schéma 4. 5).

¹⁵⁴ Pernites, R. B.; Santos, C. M.; Maldonado, M.; Ponnappati, R. R.; Rodrigues, D. F.; Advincula, R. C., *Chemistry of Materials* **2012**, 24, 870-880.

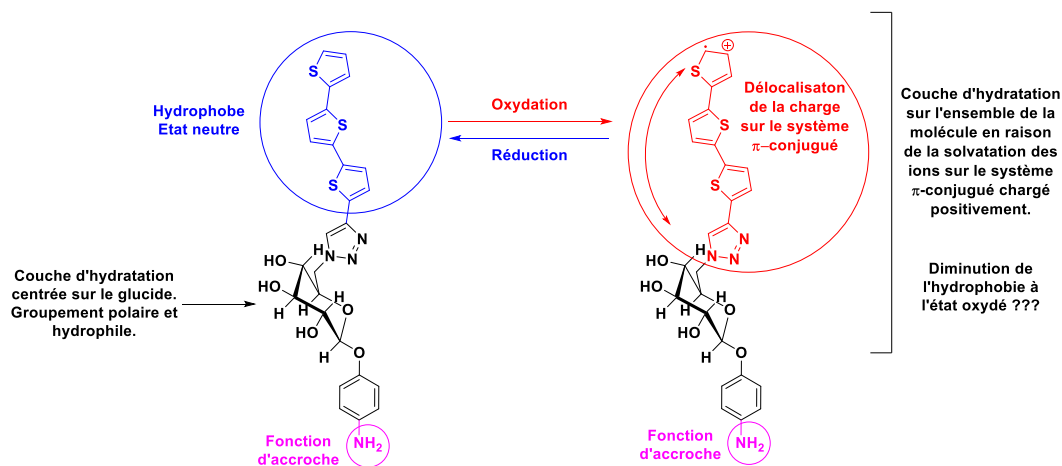


Schéma 4. 5 : Présentation des différentes propriétés de surface du composé **38** dans son état réduit et son état oxydé capables d’influer sur l’activité antifouling.

Ainsi, le mode d’action du revêtement **38** lors d’une stimulation électrique est basé sur la modification de l’état de charge de la surface ainsi que sur la variation de la mouillabilité du substrat en passant d’un état hydrophobe à hydrophile de façon continue, ce qui devrait perturber l’adhésion bactérienne.

Ainsi, les parties suivantes concerneront la synthèse et les greffages en milieux organiques et aqueux du composé **38** sur une surface de carbone vitreux par oxydation de l’amine aromatique.

2.1.1 Synthèse du 4-Aminophényl-6-(4-(2,2':5',2''-terthiophène)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-6-déoxy-β-D-glucopyranoside **38**

2.1.1.1 Stratégie de synthèse classique

La synthèse du composé **38** a été inspirée du schéma réactionnel proposé dans le chapitre 3 pour générer l’aminoferrocène-glucose **15** en remplaçant l’unité ferrocène par une unité terthiophène (Schéma 4. 6).

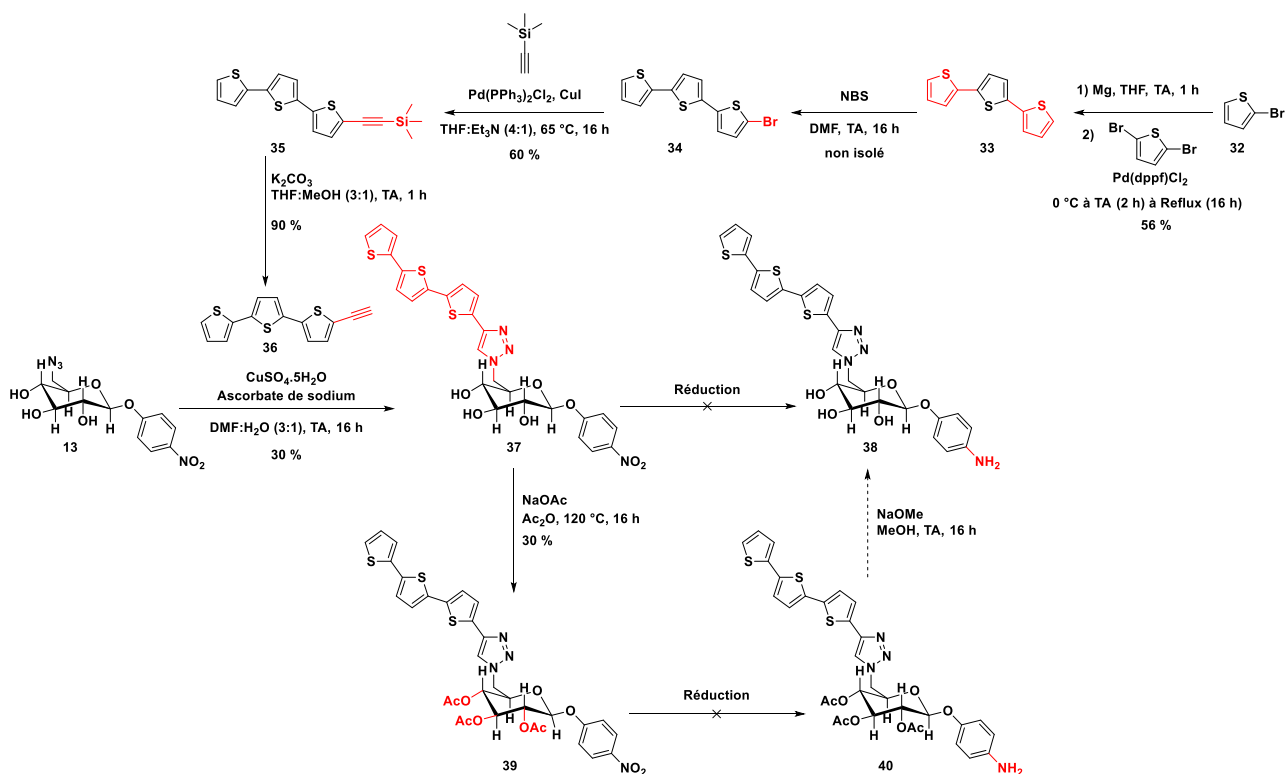


Schéma 4. 6 : Synthèse du terthiophène acétylène **36** et présentation de deux voies de synthèse pour tenter de générer l'aminoterthiophène-glucose **38**.

Étant donné que le terthiophène acétylène **36** n'est pas commercial, il a été synthétisé en quatre étapes à partir du 2-bromothiophène. Tout d'abord, le terthiophène **33** a été généré avec un rendement de 56 % à partir du couplage de Kumada entre le réactif de Grignard du 2-bromothiophène et le 2,5-dibromothiophène. Ensuite, la monobromation du terthiophène a été réalisée afin d'introduire la triple liaison. Ainsi, l'utilisation du *N*-bromosuccinimide (NBS) sur le terthiophène conduit à un mélange de monobromoterthiophène **34** majoritaire, de terthiophène et de dibromoterthiophène minoritaire non séparable par colonne chromatographique sur gel de silice. Un couplage de Sonogashira a été effectué entre le mélange monobromo/dibromoterthiophène/terthiophène et le triméthylsilylacétylène en présence de la base de triéthylamine (Et₃N) ainsi que des catalyseurs de Pd(PPh₃)₂Cl₂ et d'iodure de cuivre (CuI). Le composé **35** a été obtenu avec un rendement de 60 % et son groupement protecteur triméthylsilyle a été éliminé en utilisant une base inorganique, le carbonate de potassium (K₂CO₃), pour former le terthiophène acétylène **36** avec un rendement de 90 %.

La cycloaddition 1,3-dipolaire entre le β-glucoside azoture **13** et le terthiophène acétylène **36** a été réalisée dans un mélange DMF : H₂O (3 : 1) en présence d'ascorbate de sodium et de sulfate de cuivre pour donner le composé nitroterthiophène-glucose **37** avec un rendement de 30 %. Le milieu réactionnel conduit à un précipité très visqueux et peu soluble renfermant le produit **37** majoritaire et une faible quantité de terthiophène acétylène **36** qui n'a pas pu être éliminée lors du traitement aqueux précédent. Le précipité est purifié par colonne chromatographique sur gel de silice, cependant, sa forte adsorption à la base de la colonne est responsable du faible rendement obtenu. Il est très probable qu'une réaction de complexation entre le cuivre (I) et le produit **37** formé ait lieu, ce qui pourrait être à l'origine des difficultés rencontrées lors de la purification.

Enfin, la dernière étape de synthèse correspond à la réduction du groupement nitro du composé **37** pour former la fonction amine du composé **38**. Différentes méthodes de réduction chimique ont été testées et sont récapitulées dans le Tableau 4. 1. L'hydrogénation en présence de Pd/C dans différentes conditions (entrées 1, 2 et 3) ou l'utilisation d'un agent réducteur (SnCl₂·2H₂O, NH₂-NH₂, H₂O et Na₂S, entrées 4, 5 et 7) conservent généralement le groupement nitro intact. Il est cependant possible d'observer la présence du produit souhaité **38** de façon très minoritaire dans certains essais. La seule procédure conduisant au produit désiré **38** de façon majoritaire est l'utilisation de l'étain en milieu acide. Cependant, la purification du composé **38** en mélange avec le produit de départ **37** est relativement complexe due à des polarités très proches et une diffusion importante des composés sur la silice.

Tests de Réduction sur le composé 37	Réactifs	Solvants	Température Pression	Temps	Produit obtenu
1	H ₂ , Pd/C (10 % m, 0,01 eq)	MeOH	TA	16 h	Produit de départ (100 %)
2	H ₂ , Pd/C (10 % m, 0,5 eq)	MeOH	TA	16 h	Produit de départ / produit final (1 : 0,49) + produits secondaires minoritaires
3	H ₂ , Pd/C (10 % m, 0,05 eq)	MeOH : THF (1 : 1)	TA	16 h	Produit de départ (100 %)
4	SnCl ₂ ·2H ₂ O (5 eq)	AcOEt	Reflux	16 h	Produit de départ (100 %)
5	Pd/C (10 % m, 0,1 eq), NH ₂ -NH ₂ , H ₂ O	THF	Reflux	16 h	Produit de départ / produit final (1 : 0,3) + produits secondaires majoritaires
6	Sn (12,3 eq)	Éthanol absolu : HCl concentré (12 M) (1 : 1)	0 °C à TA	16 h	Produit final / produit de départ / produit secondaire (1 : 0,17 : 1)
7	Na ₂ S (3 eq)	THF : H ₂ O (3 : 1)	Reflux	16 h	Produit de départ / produit final (1 : 0,4) + produits secondaires minoritaires

Tableau 4. 1 : Récapitulatif des différents essais réalisés sur le composé nitroterthiophène-glucose **37** pour la réduction du groupement nitro en amine.

Ces problèmes de réactivité sont probablement dus à la structure de la molécule qui empêche l'accès au groupement nitro. Les cristaux obtenus n'ont pas pu aboutir à des structures suffisamment résolues pour confirmer le recroquevillement de la molécule sur elle-même. Cependant, nous avons décidé de protéger les hydroxyles du glucose par des fonctions acétyles qui devraient améliorer la solubilité du composé **37**. Ainsi, ce dernier a été peracétylé en présence de l'acétate de sodium et d'anhydride acétique à 120 °C pour donner le composé **39** avec un rendement de 30 %. Le Tableau 4. 2 présente les différentes méthodes testées pour la réduction du groupement nitro du composé **39** en l'amine correspondante **40**.

Tout d'abord, un premier essai de réduction du composé **39** a été effectué en présence de chlorure d'étain au reflux dans l'acétate d'éthyle conduisant majoritairement au composé **40**. Cependant, cette réaction n'est pas totale et un second essai a été réalisé en ajoutant un catalyseur, le tétrahydruroborate de sodium (NaBH_4) afin d'optimiser le rendement de la procédure précédente. Cependant, cette réaction n'a pas abouti à la transformation chimique attendue.

Un dernier essai a été effectué en présence de dithionite de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) conduisant à la disparition totale du produit de départ **39** et à la formation d'un produit secondaire majoritaire non identifié ainsi que des traces du composé **40** souhaité.

Tests de Réduction sur le produit 39	Réactifs	Solvant	Température Pression	Temps	Produit obtenu
1	$\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (5 eq)	AcOEt	Reflux	16 h	Produit final / produit de départ (1 : 0,57) + produits secondaires minoritaires
2	$\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (5 eq), NaBH_4 (0,5 eq)	AcOEt	Reflux	16 h	Produit de départ (100 %)
3	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (9 eq) NaHCO_3 (9 eq)	THF : H_2O (1 : 1)	TA	16 h	Produit secondaire / produit final (1 : 0,62) + produit de départ consommé

Tableau 4. 2 : Récapitulatif des différents essais réalisés sur le composé nitroterthiophene-glucose acétylé **39** pour la réduction du groupement nitro en amine.

Ainsi, face à ces différents échecs, une seconde voie de synthèse a été envisagée.

2.1.1.2 Stratégie de synthèse par protection de l'amine

L'objectif de la nouvelle stratégie de synthèse est d'effectuer l'étape de réduction du groupement nitro en amine avant d'introduire un groupement en position 6 du β -glucoside. D'après le chapitre 2, l'hydrogénation du β -glucoside **4** donne le dérivé aniline **5** avec un rendement de 64 %. Ainsi, l'idée est de poursuivre cette synthèse multi-étapes à partir du dérivé **5** en protégeant l'amine tout au long de la synthèse (Schéma 4. 7).

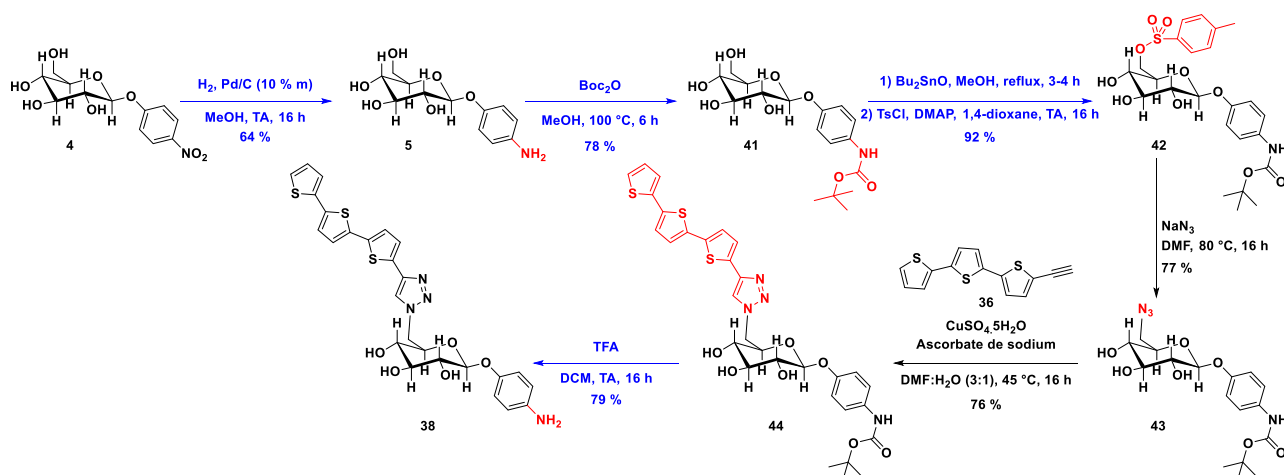


Schéma 4. 7 : Modification de la stratégie de synthèse de l'aminoterthiophène-glucose **38**.

La fonction amine du β -glucoside **5** est ainsi protégée par un groupement protecteur, le *tert*-butoxycarbonyl (Boc), pour former le carbamate **41** avec un rendement de 78 % en utilisant le dicarbonate de di-*tert*-butyle (Boc_2O) dans le méthanol à 100 °C.

L'étape de tosylation a également été optimisée afin d'obtenir uniquement le produit monotosylé en position 6.¹⁵⁵ Ainsi, l'hydroxyle de la position 6 du β -glucoside **41** a été activé par stannilation à l'aide de l'oxyde de dibutyle étain dans le méthanol au reflux pendant 3-4 h. Après l'évaporation du solvant, la réaction entre le résidu obtenu et le chlorure de tosylo (TsCl) en présence du catalyseur 4-diméthylaminopyridine (DMAP) dans le dioxane à température ambiante conduit à la formation du β -glucoside monotosylé **42** en position 6 avec un très bon rendement de 92 %.

La substitution nucléophile du β -glucoside monotosylé **42** par l'ion azoture dans le DMF à 80 °C fournit le β -glucoside azoture **43** avec un rendement de 77 %.

Ensuite, la cycloaddition 1,3-dipolaire entre le terthiophène acétylène **36** et le β -glucoside azoture **43** dans un mélange DMF : H_2O (3 : 1) en présence d'ascorbate de sodium et de sulfate de cuivre conduit au produit de cycloaddition **44**. Le milieu réactionnel a été traité par une solution d'ammoniaque (NH_4OH , 1 M) avec de l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) afin de complexer les ions cuivre et de les éliminer du précipité formé grâce à son fort pouvoir chélatant. Cette réaction offre donc un meilleur rendement que précédemment d'une valeur de 76 % suite à la purification par colonne chromatographique sur gel de silice.

La déprotection de la fonction amine a été effectuée à l'aide de l'acide trifluoroacétique (TFA) dans le dichlorométhane pour donner le composé final **38** avec un rendement de 79 %.

À l'obtention de ce composé, nous avons pu entreprendre différents essais de greffage sur une surface de carbone vitreux.

¹⁵⁵ Tsuda, Y.; Nishimura, M.; Kobayashi, T.; Sato, Y.; Kanemitsu, K., *CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN* **1991**, *39*, 2883-2887.

2.1.2 Électrogreffage du composé **38** sur une surface de carbone vitreux dans une solution organique

2.1.2.1 Étude électrochimique du composé **38** en solution organique

Le comportement électrochimique du composé **38** (1 mM) a été étudié à l'aide d'une électrode de carbone vitreux vierge par voltammétrie cyclique en balayant le potentiel de -0,3 V à +0,9 V pendant 3 cycles à 100 mV/s dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M). Le voltampérogramme de la Figure 4. 1 indique trois systèmes électro-actifs pour le composé **38**.

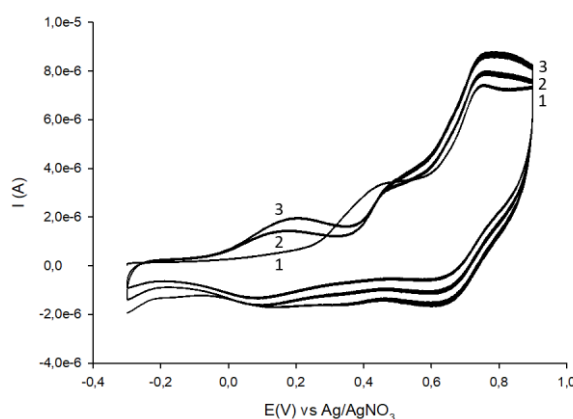


Figure 4. 1 : Réf : Ag/AgNO₃; ET : CV ; CE : Pt. Étude électrochimique du composé aminoterthiophène-glucose **38** (1 mM) dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M), réalisée par voltammétrie cyclique (3 cycles) de -0,3 V à +0,9 V à l'aide d'une électrode de carbone vitreux vierge, $v = 100$ mV/s.

Lors du premier balayage du potentiel, une vague d'oxydation irréversible mono-électronique apparaît à un potentiel +0,46 V (vs Ag/AgNO₃) et pourrait être attribuée à l'oxydation de l'amine aromatique. En poursuivant vers des potentiels positifs, le voltampérogramme montre une seconde vague d'oxydation mono-électronique quasiment irréversible à un potentiel de +0,75 V (vs Ag/AgNO₃) et pourrait représenter l'oxydation du terthiophène. Lors du balayage retour, ce pic d'oxydation est accompagné par une vague de réduction d'une faible intensité à un potentiel de +0,63 V (vs Ag/AgNO₃) et pourrait correspondre à la réduction du radical cation du terthiophène. En continuant sur le balayage retour vers des potentiels plus cathodiques, un système électro-actif réversible apparaît à +0,128 V (vs Ag/AgNO₃) avec une intensité qui augmente au cours des balayages successifs du potentiel. Cette signature électronique à ce potentiel pourrait traduire la formation de produits de couplage issus de l'oxydation de l'amine et/ou de l'oxydation du terthiophène (Schéma 4. 8). Effectivement, lors de l'oxydation de l'amine, le radical cation de l'amine peut subir une réaction de dimérisation avec l'amine neutre pour donner un dérivé de la *para*-aminodiphénylamine, par exemple. Par ailleurs, l'oxydation du terthiophène conduit à la formation d'oligomères qui implique le couplage de deux radicaux cations terthiophènes entre les deux positions α libres générant un sexithiophène.

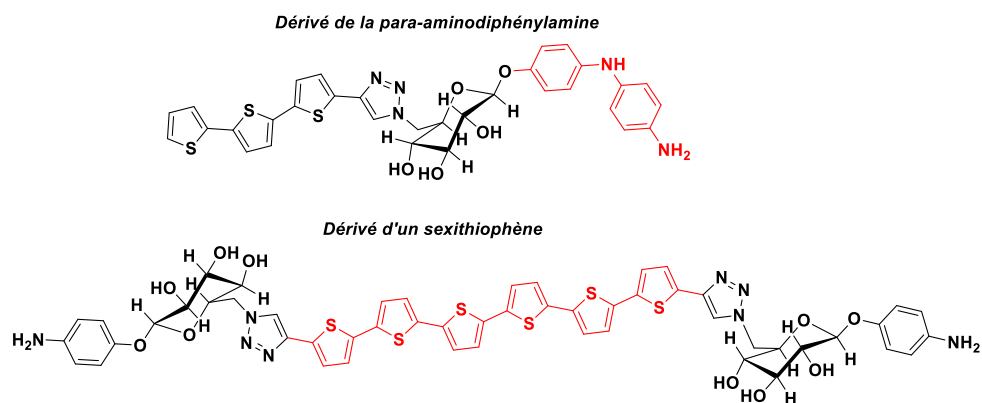


Schéma 4. 8 : Présentation des deux produits de couplage issus de l'oxydation de l'amine (la para-aminodiphénylamine) ou bien de l'oxydation du terthiophène (le sexithiophène).

2.1.2.2 Électrogreffage du composé **38** par oxydation de l'amine aromatique dans une solution organique en l'absence et en présence de base

Le greffage du composé **38** (1 mM) sur une surface de carbone vitreux a été testé en l'absence et en présence de collidine par voltammétrie cyclique en balayant le potentiel au niveau de l'oxydation de l'amine aromatique de -0,3 V à +0,55 V pendant 10 cycles à 100 mV/s dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M). Après le greffage, l'électrode a été rincée et nettoyée aux ultrasons pendant 10 min dans l'acétonitrile avant d'être transférée dans une cellule d'étude contenant uniquement de l'acétonitrile avec l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M). Puis, l'électrode modifiée a été étudiée par voltammétrie cyclique à 100 mV/s.

En l'absence de collidine, le voltampérogramme de greffage (Figure 4. 2 ; a) ne montre aucun phénomène de passivation à l'électrode. En effet, l'intensité et la forme de la vague d'oxydation de l'amine situé à +0,47 V (vs Ag/AgNO_3) restent constantes au cours des cycles. Le système réversible situé vers +0,015 V (vs Ag/AgNO_3), dont l'intensité diminue en fonction des cycles, semble correspondre au produit de couplage issu de l'oxydation l'amine puisque le terthiophène n'est pas oxydé dans la plage de potentiel utilisée.

La réponse de l'électrode modifiée (Figure 4. 2 ; b), réalisée en balayant les potentiels de -0,3 V à +1 V pendant 5 cycles, montre une légère modification de la surface comparée à une électrode de carbone vitreux native. Ceci est probablement dû à la physisorption d'espèces organiques comme le composé **38** et le produit de couplage issu de l'oxydation de l'amine.

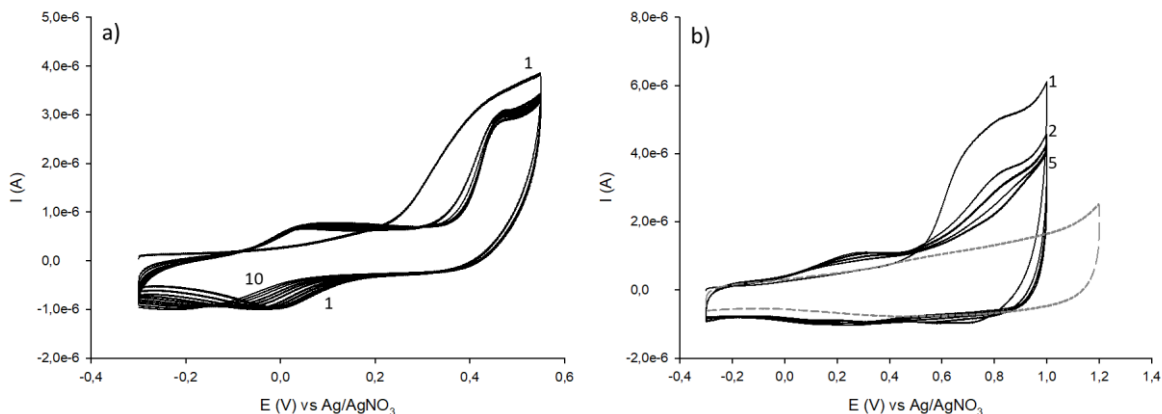


Figure 4. 2 : Réf : Ag/AgNO₃; ET : CV; CE : Pt. **a)** Greffage du composé aminoterthiophène-glucose **38** (1 mM) sur une surface de carbone vitreux par voltammétrie cyclique (10 cycles) de -0,3 V à +0,55 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M) en l'absence de collidine, $\nu = 100$ mV/s. **b)** Réponse de l'électrode modifiée par voltammétrie cyclique (5 cycles) de -0,3 V à +1 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M), $\nu = 100$ mV/s. Voltammétrie cyclique (2^{ème} cycle) enregistrée sur une électrode de carbone vitreux vierge (courbe grise en pointillée) de -0,3 V à +1,2 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M), $\nu = 100$ mV/s.

En présence de cinq équivalents de collidine, le voltampérogramme de greffage (Figure 4. 3 ; a) a complètement évolué par rapport à celui effectué sans base. Tout d'abord, le système réversible du produit de couplage a totalement disparu, signifiant que la réaction de dimérisation entre le radical cation et l'amine neutre n'a pas eu lieu. De plus, l'intensité de la vague d'oxydation de l'amine aromatique située à +0,44 V (vs Ag/AgNO₃) pour le 2^{ème} cycle a augmenté d'un facteur de 2,3 par rapport au 2^{ème} cycle du voltampérogramme obtenu sans base (Figure 4. 3 ; a vs Figure 4. 2 ; a). L'accroissement de l'intensité est dû à l'augmentation de la concentration en anilines oxydées. En effet, la base azotée empêche la réaction de couplage entre le radical cation et l'aniline neutre et favorise désormais la formation du radical aminyle. Ainsi, l'aniline neutre qui était utilisée pour la formation du produit de couplage en l'absence de base est oxydée puis déprotonée de façon irréversible par la base, ce qui augmente le nombre d'anilines oxydées.

La présence de la base azotée dans le milieu a décalé la vague d'oxydation de l'amine, pour le premier cycle, de 73 mV vers des potentiels négatifs. Le pic d'oxydation de l'amine est donc situé à +0,40 V (vs Ag/AgNO₃) pour le premier balayage. De plus, ce système irréversible se déplace vers des potentiels positifs au cours des cycles avec une intensité qui augmente légèrement à partir du second balayage. Ce comportement électrochimique serait dû à la polymérisation du composé **38**. Les derniers cycles mettent en avant un phénomène de passivation à l'électrode, traduisant le dépôt d'une couche organique sur la surface de carbone vitreux.

La réponse de l'électrode modifiée, effectuée par voltammétrie cyclique en balayant le potentiel de -0,3 V à +0,9 V pendant 4 cycles, est caractéristique d'un dépôt de polymère semi-conducteur de dopage p (Figure 4. 3 ; b). Il est possible d'avoir obtenu des courtes chaînes d'oligomères, étant donné que l'une des unités polymérisables du terthiophène est bloquée. Ces chaînes d'oligomères peuvent alors se physisorber directement sur la surface de carbone vitreux ou bien sur des molécules déjà greffées sur le substrat. La stabilité de la couche mériterait d'être étudiée sur un temps suffisamment long.

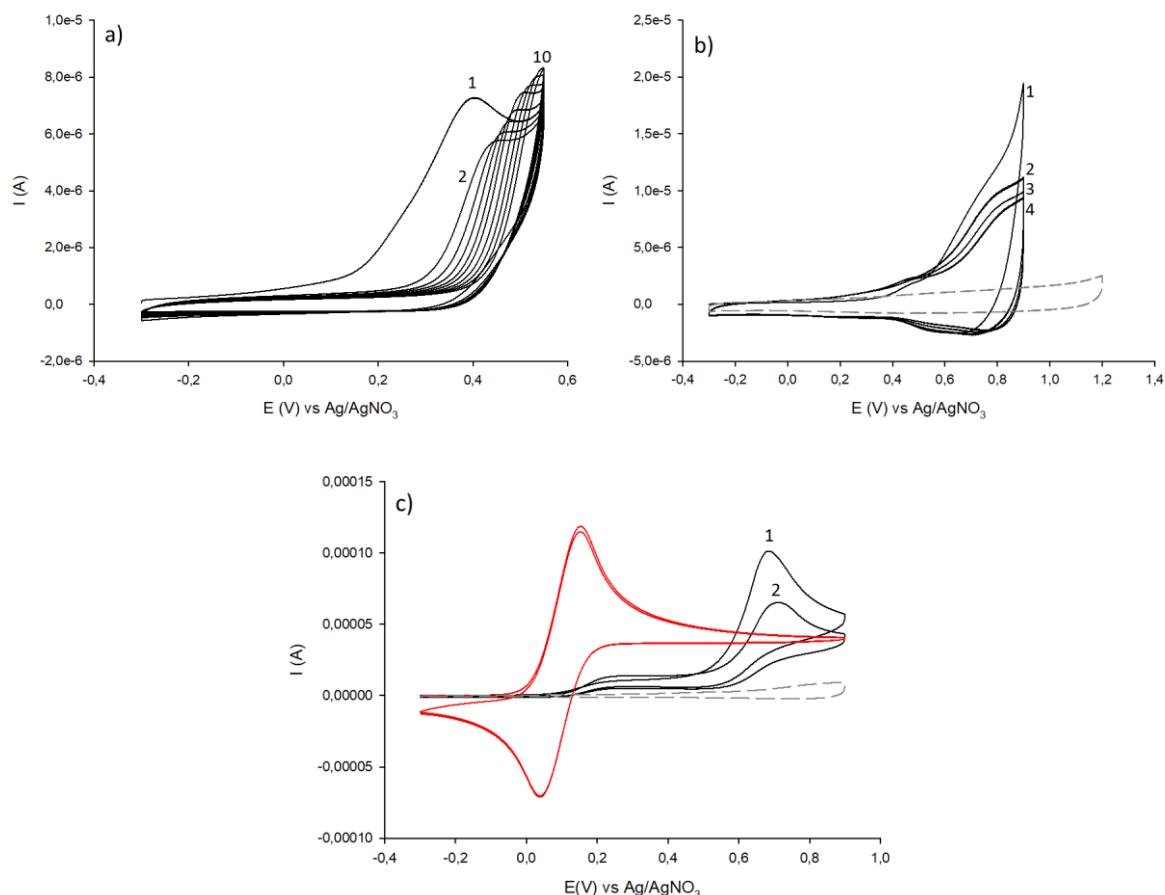


Figure 4. 3 : Réf : Ag/AgNO₃; ET : CV ; CE : Pt. **a)** Greffage du composé aminoterthiophène-glucose **38** (1 mM) sur une surface de carbone vitreux par voltammétrie cyclique (10 cycles) de -0,3 V à +0,55 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M) en présence de collidine (5 eq), $\nu = 100$ mV/s. **b)** Réponse de l'électrode modifiée, par voltammétrie cyclique (4 cycles) de -0,3 V à +0,9 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M), $\nu = 100$ mV/s. Voltammétrie cyclique (2^{ème} cycle) enregistrée sur une électrode de carbone vitreux vierge (courbe grise en pointillée) de -0,3 V à +1,2 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M), $\nu = 100$ mV/s. **c)** Réponse de l'électrode modifiée (courbe noire) par voltammétrie cyclique (2 cycles) de -0,3 V à +0,9 V, comparé à une électrode de carbone vitreux vierge (courbe rouge), dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M) et du ferrocène (5 mM), $\nu = 100$ mV/s. Représentation du 4^{ème} cycle (courbe grise en pointillée) du voltampérogramme b).

Nous avons utilisé une seconde procédure électrochimique afin de confirmer le dépôt d'une couche organique sur la surface de l'électrode. Il s'agit d'étudier le comportement électrochimique d'une sonde redox comme le ferrocène (5 mM) dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M) par voltammétrie cyclique de -0,3 V à +0,9 V à 100 mV/s à l'aide de l'électrode modifiée. La réponse électrochimique de l'électrode modifiée sera comparée à une électrode de carbone vitreux fraîchement polie (Figure 4. 3 ; c).

Ainsi, le voltampérogramme enregistré à partir de l'électrode de carbone vitreux vierge (Figure 4. 3 ; c ; courbe rouge) montre que le système réversible du ferrocène est obtenu à un potentiel de +0,096 V (vs Ag/AgNO₃) avec un écart pic à pic de $\Delta E = 111,5$ mV. D'un autre côté, la réponse électrochimique de l'électrode modifiée (Figure 4. 3 ; c ; courbe noire) montre une vague d'oxydation irréversible à +0,68 V (vs Ag/AgNO₃) qui est attribuée à l'oxydation du ferrocène en cation ferrocénium. Le pic d'oxydation s'est donc déplacé de 530 mV vers des potentiels positifs par rapport à celui obtenu avec l'électrode vierge.

Ce résultat électrochimique met en avant la présence d'une couche organique sur la surface de l'électrode qui bloque le transfert électronique entre l'électrode et le ferrocène dans la plage de potentiels où le ferrocène a l'habitude de s'oxyder et de se réduire lorsque l'électrode est vierge. Le dépôt organique est donc isolant à ces potentiels.

Pour des potentiels supérieurs à +0,5 V (vs Ag/AgNO₃), les propriétés électrochimiques de la couche organique changent puisque c'est à partir de ce potentiel que les terthiophènes ou les oligothiophènes greffés sur la surface commencent à s'oxyder (Schéma 4. 9). Le revêtement se comporte désormais comme un matériau conducteur. Le transfert électronique entre l'électrode modifiée et le ferrocène est donc possible, c'est pourquoi, nous avons observé le pic d'oxydation du ferrocène à +0,68 V (vs Ag/AgNO₃).

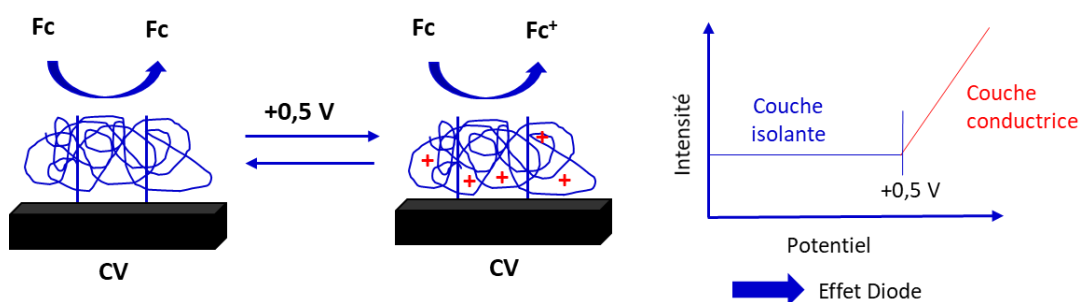


Schéma 4. 9 : Illustration du comportement de l'électrode modifiée par le composé 38.

Par contre, nous avons constaté l'absence de la vague de réduction du ferrocène. Effectivement, lors du balayage retour, la couche organique redevient isolante à partir de +0,5 V (vs Ag/AgNO₃), ce qui bloque l'électroréduction du cation ferrocénium qui s'effectue normalement à + 0,040 V (vs Ag/AgNO₃).

Enfin, le voltampérogramme (Figure 4. 3 ; c ; courbe noire) montre un épaulement anodique au potentiel d'oxydation du ferrocène obtenu avec une électrode de carbone vitreux vierge. Il est attribué à la perméabilité de la couche organique qui laisse des espaces vides à la surface de l'électrode permettant aux molécules du ferrocène en solution d'atteindre le substrat et de s'oxyder au potentiel classique du ferrocène.

Jean-Christophe Lacroix a obtenu un résultat similaire en greffant des terthiophènes sur une surface de carbone vitreux par réduction du 2-diazoterthiophène généré *in situ* (Schéma 4. 10). La réponse électrochimique de l'électrode modifiée a été étudiée dans différentes solutions contenant des sondes électro-actives comme le décaméthylferrocène, le ferrocène et le thianthrène. Il a démontré que la couche organique se comporte comme une diode en bloquant le transfert électronique lorsque le potentiel redox de la sonde est inférieur à un potentiel de +0,5 V (vs ECS), c'est le cas pour le décaméthylferrocène et le ferrocène. Par contre, lorsque le potentiel redox de la sonde est supérieur à +0,5 V (vs ECS) comme le thianthrène, la couche organique est conductrice, elle n'affecte donc pas l'oxydation et la réduction du thianthrène qui sont obtenues aux potentiels classiques.¹⁵⁶

¹⁵⁶ Stockhausen, V.; Ghilane, J.; Martin, P.; Trippé-Allard, G.; Randriamahazaka, H.; Lacroix, J.-C., *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 14920-14927.

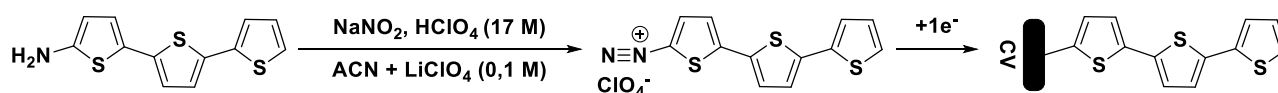


Schéma 4. 10 : Formation *in situ* de sels de diazonium à partir du 2-aminoterthiophène suivie d'une électroréduction pour réaliser le greffage sur une électrode de carbone vitreux.¹⁵⁶

Des mesures d'angle de contact pourront être effectuées lorsque la couche organique déposée sur la surface de carbone vitreux sera dans son état neutre et dans son état oxydé afin d'évaluer la différence de mouillabilité entre les deux états. Il serait également intéressant d'effectuer des analyses XPS et d'évaluer l'épaisseur du dépôt semi-conducteur sur la surface de carbone vitreux par AFM.

2.1.3 Étude électrochimique du composé **38** dans une solution aqueuse

Le comportement électrochimique du composé **38** (1 mM) a également été analysé dans une solution d'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), à pH = 8,3, à l'aide d'une électrode de carbone vitreux vierge par voltammétrie cyclique (Figure 4. 4 ; courbe rouge) en balayant les potentiels de -0,3 V à +1,1 V à 100 mV/s. Cependant, ni l'oxydation de l'amine (vers +0,4 V - +0,6 V vs ECS) ni l'oxydation du terthiophène (vers +0,7 V - +0,9 V vs ECS) n'ont été observées. Cette voltammétrie cyclique est comparable à une étude électrochimique réalisée dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), à pH = 8,3, en l'absence de molécules électro-actives. Cette absence de signature électrochimique serait peut-être due à une solubilité relativement faible de la molécule dans l'eau de mer artificielle car le milieu reste totalement trouble après le passage aux ultrasons.

Ainsi, une seconde étude électrochimique du composé **38** (1 mM) a été réalisée dans une solution d'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) contenant 10 % d'éthanol afin d'améliorer la solubilité (Figure 4. 4 ; courbe verte). Le milieu d'étude est resté trouble et aucune oxydation n'a été observée sur le voltampérogramme.

La quantité d'éthanol a été augmentée jusqu'à 25 % (Figure 4. 4 ; courbe rose) sans évolution visible en voltammétrie cyclique. L'ajout de 40 équivalents d'hydroxyde de sodium (1 M) (Figure 4. 4 ; courbe bleue) n'a pas non plus permis de révéler les sondes électro-actives de l'amine et du terthiophène.

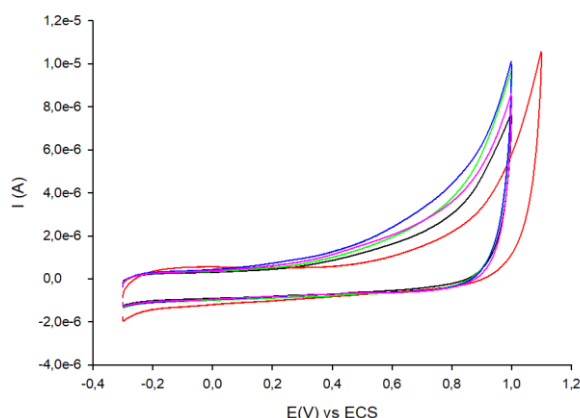


Figure 4. 4 : Réf : ECS ; ET : CV ; CE : Pt. Études électrochimiques de l'aminoterthiophène-glucose **38** (1 mM) réalisées par voltammétrie cyclique (1^{er} cycle) à l'aide d'une électrode de carbone vitreux dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L, pH = 8,3) de -0,3 V à +1,1 V (courbe rouge), dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) contenant 10 % d'éthanol (courbe verte) de -0,3 V à +1 V, dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) contenant 25 % d'éthanol (courbe rose) de -0,3 V à +1 V et dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) contenant 25 % d'éthanol en présence d'hydroxyde sodium (40 eq, 1M) de -0,3 V à +1 V (courbe bleue), $v = 100$ mV/s. Voltammétrie cyclique (1^{er} cycle) enregistrée sur une

électrode de carbone vitreux vierge de -0,3 V à +1 V dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) contenant 10 % d'éthanol (courbe noire), $v = 100 \text{ mV/s}$.

Il est possible que le terthiophène ne soit pas électro-actif à cause de son caractère hydrophobe qui rend la molécule insoluble dans l'eau de mer artificielle. De plus, la molécule **38** pourrait adopter une certaine conformation dans l'eau de mer artificielle qui rendrait l'amine inaccessible, ce qui défavoriserait son oxydation.

Devant le manque de temps, nous n'avons pas poursuivi notre investigation sur les conditions qui auraient pu permettre le greffage du composé **38** sur une surface de carbone vitreux à partir d'une solution aqueuse.

2.2 Travaux sur un glucide à base d'EDOT comme sonde électro-active

L'EDOT a également été choisi comme sonde électro-active en raison de son potentiel d'oxydation qui est supérieur à celui du terthiophène et de sa capacité à s'électropolymériser pour générer de longues chaînes électro-actives dont leur potentiel d'oxydation est plus faible.

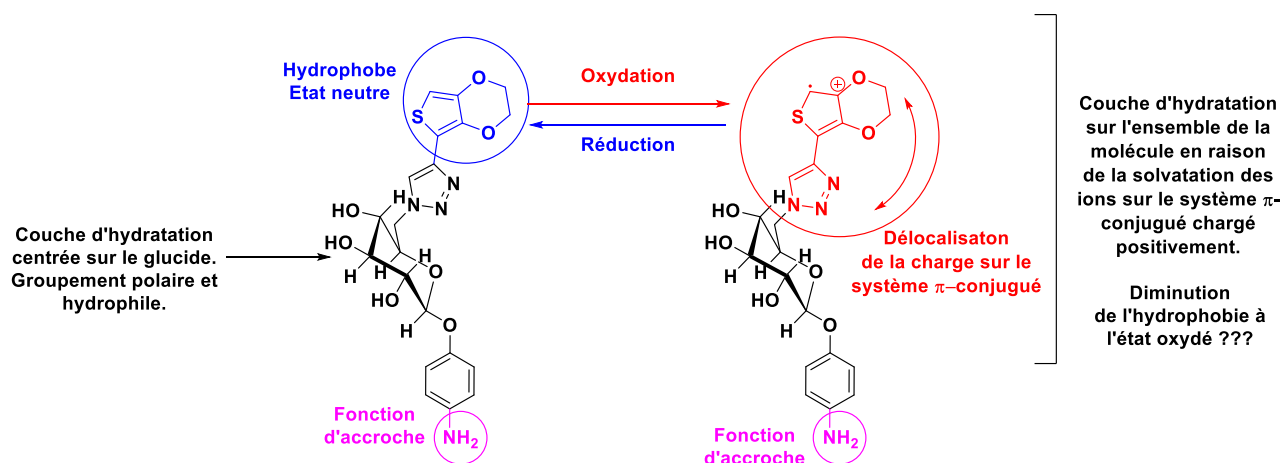


Schéma 4. 11 : Présentation des différentes propriétés de surface du composé **49** dans son état réduit et son état oxydé capables d'influer sur l'activité antifouling.

L'EDOT est hydrophobe dans son état réduit mais il est possible qu'il devienne hydrophile dans son état oxydé. Les propriétés que nous cherchons à développer pour l'aminoEDOT-glucose **49** sont similaires à celles décrites pour le terthiophène (Schéma 4. 11). Ainsi, nous n'allons pas les redéfinir dans cet exemple.

De son côté, la littérature montre que le poly (3,4-éthylènedioxythiophène) (PEDOT) est très utilisé dans la bio-ingénierie et la bio-électronique grâce à ses conductivités électriques et ioniques élevées, sa faible cytotoxicité, sa flexibilité mécanique et ses stabilités chimiques, thermiques et électrochimiques.¹⁵⁷

D'ailleurs, l'électrodéposition d'un PEDOT sur une surface d'or a permis de diminuer l'adhésion de la souche bactérienne marine TC8 de 60 % en comparaison à une plaque de polystyrène (PS).¹⁵⁸ Le PEDOT possède donc une activité antibactérienne intrinsèque qui peut être attribuée à sa nature hydrophobe ou à sa topographie qui est plus rugueuse que celle du polystyrène. L'application d'un courant électrique par

¹⁵⁷ Goda, T.; Miyahara, Y., *Langmuir* **2019**, *35*, 1126-1133.

¹⁵⁸ Brisset, H.; Briand, J.-F.; Barry-Martin, R.; Duong, T. H.; Frère, P.; Gohier, F.; Leriche, P.; Bressy, C., *Analytical Chemistry* **2018**, *90*, 4978-4981.

balayage de potentiel pendant 15 h a provoqué un effet synergique anti-adhésion conduisant à la suppression totale des bactéries sur la surface. De plus, un test « live-dead » a confirmé que le monomère de l'EDOT n'est pas toxique pour les bactéries marines, signifiant que la réduction du taux d'adhésion est bien due aux propriétés anti-adhésives du PEDOT.

Cependant, son mode d'action est limité quand il est utilisé dans l'environnement naturel biologique car il fait face à des interactions non spécifiques avec des biomolécules. Pour améliorer sa biocompatibilité, il est possible d'intégrer des polymères zwitterioniques au PEDOT pour développer un matériau qui possède à la fois des propriétés antifouling et conductrices. Le poly (sulfobétaine-3,4-éthylènedioxythiophène) (PSBEDOT)¹⁵⁹ électrodéposé sur une surface d'or a montré qu'il pouvait résister à l'adsorption des protéines du plasma sanguin humain, mais aussi à l'adhésion des cellules endothéliales, des fibroblastes et de la bactérie *Escherichia coli*. De plus, l'application d'un potentiel électrique permet de modifier les propriétés antifouling de la surface de PSBEDOT. Effectivement, à l'état réduit (à $E = +0$ V vs ECS), le polymère se trouve sous sa forme zwitterionique capable de repousser efficacement les bactéries de la surface contrairement à l'état oxydé ($E = +0,6$ V vs ECS) où le polymère, sous la forme cationique, développe une activité bactéricide capable de tuer jusqu'à 89 % des bactéries adsorbées sur la surface. Le retour à son état réduit permet d'enlever toutes les cellules mortes déposées sur le substrat (Schéma 4. 12).

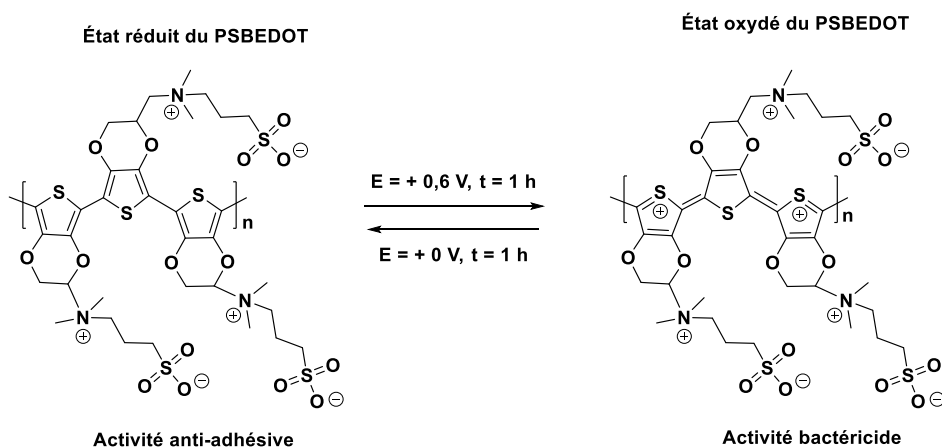


Schéma 4. 12 : Représentation schématique de l'activité antifouling du PSBEDOT dans un état réduit et dans un état oxydé.

Les propriétés du composé **49** pourraient être optimisées en faisant croître un polymère à partir de la position électropolymérisable de l'unité EDOT. Il s'agit, par exemple, de réaliser une post-fonctionnalisation d'un PEDOT sur le composé **49** préalablement greffé sur une surface de carbone vitreux, en effectuant une électropolymérisation de l'unité EDOT du composé **49** à partir d'une solution contenant le monomère EDOT (Schéma 4. 13). Ensuite, l'application d'un courant électrique par un balayage de potentiel permettra de modifier l'état de surface en passant d'un état réduit à un état oxydé de façon continue. Il sera possible de travailler sur une gamme différente de potentiel en fonction de la longueur de chaîne.

¹⁵⁹ Cao, B.; Lee, C.-J.; Zeng, Z.; Cheng, F.; Xu, F.; Cong, H.; Cheng, G., *Chemical Science* **2016**, 7, 1976-1981.

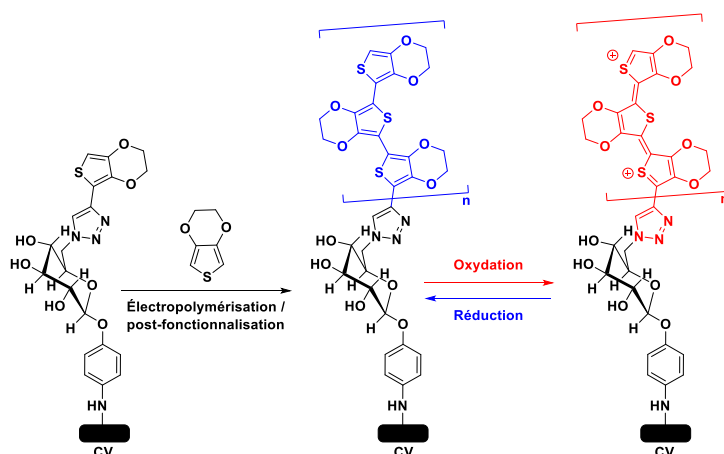


Schéma 4. 13 : Représentation schématique de la post-fonctionnalisation d'un PEDOT par électropolymérisation de l'unité EDOT du composé **49** greffé sur une surface de carbone vitreux à partir d'une solution du monomère de l'EDOT. Application d'un courant électrique par balayage de potentiel sur la nouvelle couche organique formée.

Ainsi, les parties suivantes porteront sur la synthèse et les greffages en milieux organiques et aqueux du composé **49** sur une surface de carbone vitreux par oxydation de l'amine aromatique.

2.2.1 Synthèse du 4-Aminophényl-6-(4-(3,4-Éthylènedioxythiényl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy- β -D-glucopyranoside **49**

La stratégie de synthèse passant par la protection de l'amine a été appliquée pour former le composé aminoEDOT-glucose **49** en remplaçant l'unité terthiophène par l'unité EDOT (Schéma 4. 14).

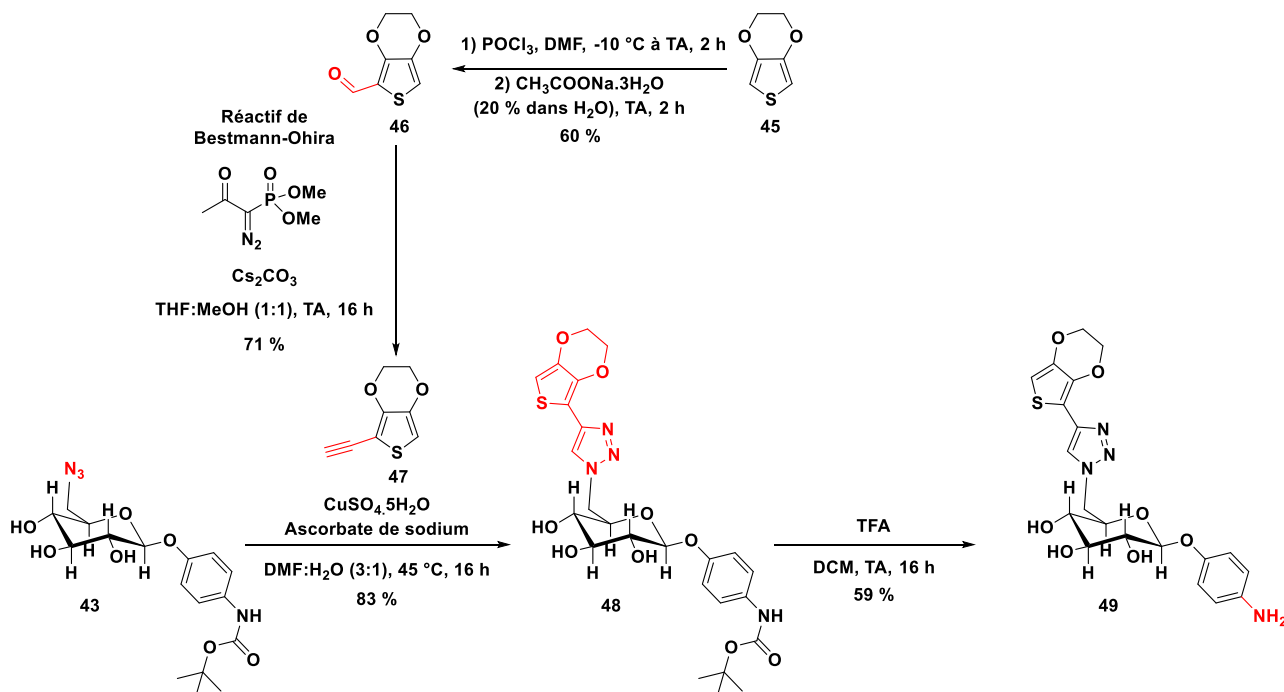


Schéma 4. 14 : Synthèses de l'EDOT acétylène **47** et de l'aminoEDOT-glucose **49**.

L'EDOT acétylène **47** a été préparé en deux étapes seulement à partir de l'EDOT **45** en passant par la formation d'un aldéhyde. Ainsi, la réaction de Vilsmeier-Haack entre l'EDOT, le *N,N*-diméthylformamide

(DMF) et le trichlorure de phosphore (POCl_3) conduit à l'EDOT-2-carbaldéhyde **46** avec un rendement de 60 %.

Le passage de l'aldéhyde à la fonction acétylène a été réalisé à l'aide de l'homologation Seyfert-Gilbert. Cette réaction a mis en jeu l'EDOT-2-carbaldéhyde **46**, le carbonate de césium (Cs_2CO_3) et le réactif de Bestmann-Ohira qui n'est autre que le diméthyl-1-diazo-2-oxopropylphosphonate dans un mélange THF : MeOH (1 : 1) à température ambiante. Cette procédure conduit à l'acétylène terminal souhaité **47** avec un rendement de 71 %.

Puis, une cycloaddition 1,3-dipolaire entre le β -NHBoc-glucoside azoture **43** et l'EDOT-acétylène **47** a été réalisée en présence d'ascorbate de sodium et de sulfate de cuivre dans un mélange DMF : H_2O (3 : 1). Le milieu réactionnel a ensuite été traité par une solution d'ammoniaque (NH_4OH , 1 M) avec de l'EDTA pour complexer les ions cuivre. Après purification par colonne chromatographique sur gel de silice, le composé NHBoc-EDOT-glucose **48** a été obtenu avec un rendement de 83 %.

La déprotection de l'amine aromatique a été effectuée en présence de l'acide trifluoroacétique dans le dichlorométhane pour produire le composé aminoEDOT-glucose **49** avec un rendement de 59 %.

2.2.2 Électrogreffage du composé **49** sur une surface de carbone vitreux dans une solution organique

2.2.2.1 Étude électrochimique du composé **49** dans une solution organique

Le comportement électrochimique du composé **49** (1 mM) a été enregistré sur une électrode de carbone vitreux par voltammétrie cyclique en balayant le potentiel de -0,3 V à +1,2 V pendant 3 cycles à 100 mV/s dans une solution organique d'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M) (Figure 4. 5).

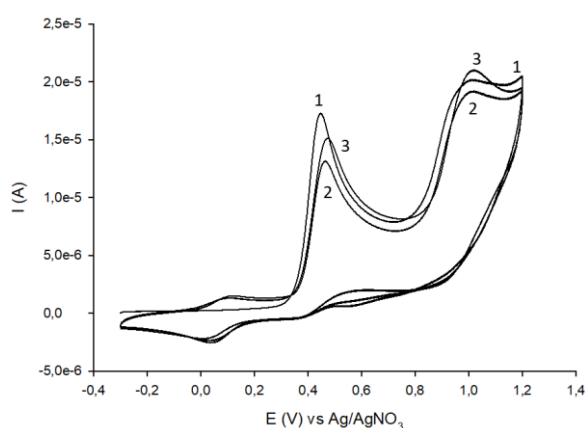


Figure 4. 5 : Réf : Ag/AgNO_3 ; ET : CV ; CE : Pt. Étude électrochimique du composé aminoEDOT-glucose **49** (1 mM) par voltammétrie cyclique (3 cycles) de -0,3 V à +1,2 V, enregistrée sur une électrode de carbone vitreux, dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M), $v = 100$ mV/s.

Le voltampérogramme (Figure 4. 5) du composé **49** présente trois systèmes électroactifs. Lors du premier balayage, un pic irréversible mono-électronique apparaît à +0,46 V (vs Ag/AgNO_3) et serait attribué à l'oxydation de l'amine aromatique. Puis, en poursuivant vers des potentiels plus anodiques, l'intensité du courant montre une seconde vague d'oxydation irréversible à un potentiel de +1,00 V (vs Ag/AgNO_3) qui caractériserait l'oxydation de l'unité EDOT. En effet, l'étude électrochimique du monomère EDOT (5 mM),

réalisée dans l'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M) et enregistrée sur une électrode de carbone vitreux dans les mêmes conditions de balayage, a présenté un système électro-actif irréversible à un potentiel d'oxydation de +1,12 V (*vs* Ag/AgNO₃).

Lors du balayage retour, un système réversible apparaît à un potentiel de +0,064 V (*vs* Ag/AgNO₃) et représenterait un produit de couplage (probablement, la *para*-aminodiphénylamine) issu de l'oxydation de l'amine aromatique.

2.2.2.2 Électrogreffage du composé 49 par oxydation de l'amine aromatique dans une solution organique en l'absence et en présence de base

Le greffage du composé 49 (1 mM) sur une électrode de carbone vitreux a été réalisé en l'absence puis en présence de collidine (5 eq) dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M) par voltammétrie cyclique en balayant le potentiel de -0,3 V à +0,65 V pendant 10 cycles à 100 mV/s. Cette électrode modifiée a été rincée et nettoyée aux ultrasons dans l'acétonitrile pendant 10 min avant d'être transférée dans une cellule d'étude contenant uniquement une solution d'acétonitrile avec l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M) afin d'analyser sa réponse par voltammétrie cyclique.

En l'absence de collidine, le voltampérogramme (Figure 4. 6 ; a), centré sur l'oxydation de l'amine aromatique, montre que le greffage n'a pas eu lieu. Effectivement, aucun phénomène de passivation à l'électrode n'est observé puisque l'intensité de la vague d'oxydation de l'amine à un potentiel de +0,45 V (*vs* Ag/AgNO₃) reste quasiment constante au cours des cycles sans montrer de déformation. Quant au produit de couplage situé à +0,02 V (*vs* Ag/AgNO₃), son intensité a tendance à rester stable ou à diminuer très légèrement avec le nombre de cycles. Durant le balayage, il est possible que certains produits se physisorbent sur la surface de l'électrode comme le produit de couplage ou le composé 49.

La réponse électrochimique de l'électrode modifiée (Figure 4. 6 ; b), effectuée par voltammétrie cyclique en balayant le potentiel de -0,3 V à +1,13 V, montre qu'aucun système électro-actif n'est présent sur la surface de l'électrode. Si le greffage avait lieu, le système électro-actif de l'EDOT apparaîtrait vers +1 V (*vs* Ag/AgNO₃) et ce n'est pas le cas. Il y a juste un léger épaulement autour de +0,3 V et +0,4 V (*vs* Ag/AgNO₃) faisant penser à un système réversible qui pourrait représenter un produit physisorbé sur la surface.

L'électrode modifiée a également été analysée dans une solution d'eau ultra pure contenant l'électrolyte KCl (0,1 M) en présence de la sonde redox ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (5 mM) / $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (5 mM)) par voltammétrie cyclique en balayant le potentiel de -0,8 V à +1,1 V à 100 mV/s afin de vérifier l'état de surface. La réponse électrochimique montre que le système réversible de la sonde redox est obtenu à un potentiel de +0,196 V (*vs* ECS) avec un écart pic à pic de $\Delta E = 162$ mV (calcul par rapport au 2^{ème} cycle) (Figure 4. 6 ; c ; courbe noire). Une expérience similaire réalisée sur une électrode de carbone vitreux vierge conduit à un voltampérogramme quasi identique présentant un système réversible situé à +0,198 V (*vs* ECS) avec un écart pic à pic de $\Delta E = 101$ mV (Figure 4. 6 ; c ; courbe rouge). Ainsi, le comportement électrochimique de la sonde redox enregistrée sur l'électrode modifiée ne montre aucune résistance du transfert de charge, confirmant l'absence d'une couche organique sur la surface de l'électrode.

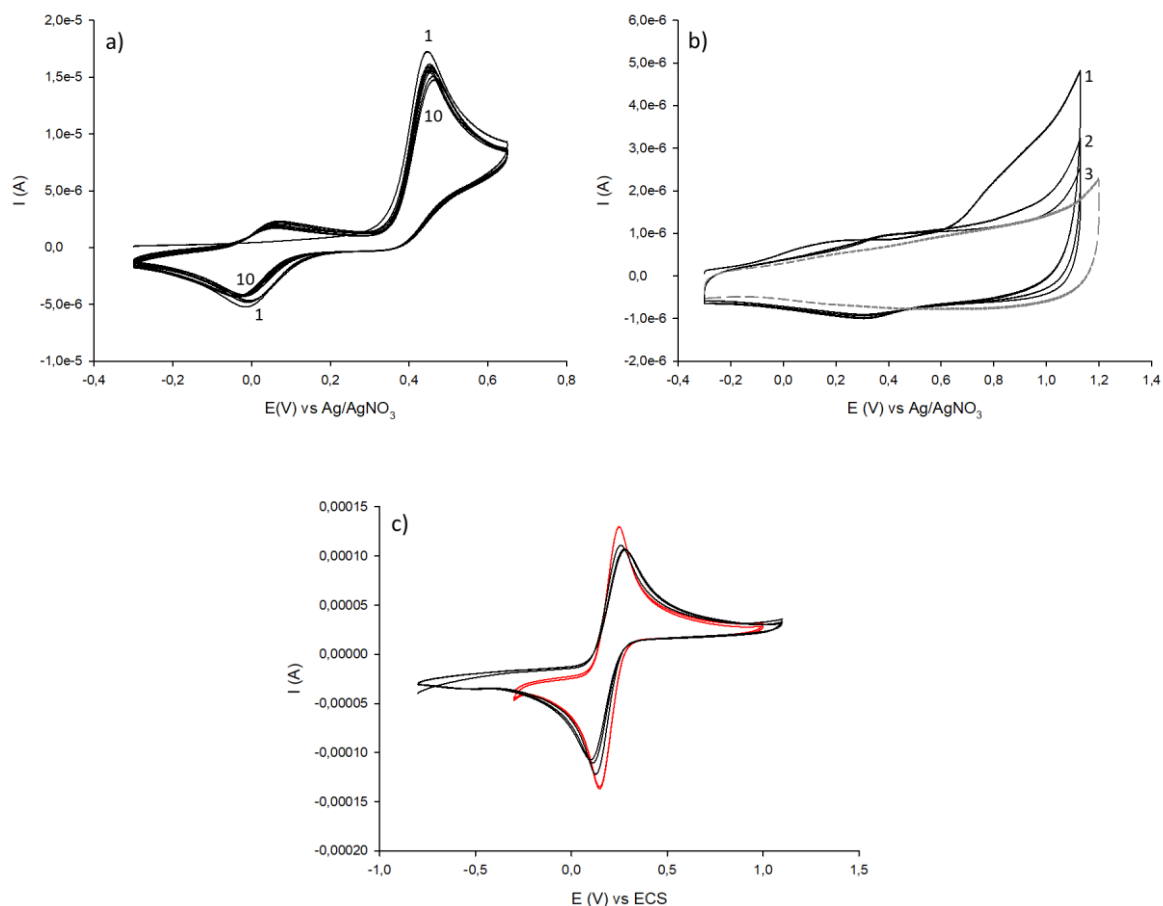


Figure 4. 6: Réf : Ag/AgNO₃; ET : CV; CE : Pt. **a)** Greffage du composé aminoEDOT-glucose **49** (1 mM) par voltammétrie cyclique (10 cycles) de -0,3 V à +0,65 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M) en l'absence de collidine, $\nu = 100$ mV/s. **b)** Réponse de l'électrode modifiée par voltammétrie cyclique (3 cycles) de -0,3 V à +1,13 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M), $\nu = 100$ mV/s. Voltammétrie cyclique (2^{ème} cycle) enregistrée sur une électrode de carbone vitreux vierge (courbe grise en pointillée) de -0,3 V à +1,2 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M), $\nu = 100$ mV/s. **c)** Réf : ECS; ET : CV; CE : Pt. Réponse de l'électrode modifiée (courbe noire) par voltammétrie cyclique de -0,8 V à +1,1 V (3 cycles) comparé à une électrode de carbone vitreux vierge (courbe rouge) de -0,3 V à +1 V (2 cycles) dans une solution d'eau ultra pure contenant l'électrolyte KCl (0,1 M) en présence de K₃[Fe(CN)₆] (5 mM) et K₄[Fe(CN)₆] (5 mM), $\nu = 100$ mV/s.

En présence de cinq équivalents de collidine, le voltampérogramme de greffage (Figure 4. 7 ; a), centré sur l'oxydation de l'amine aromatique, montre un phénomène de passivation à l'électrode signifiant qu'une couche organique se dépose sur la surface. En effet, le premier cycle montre une augmentation de l'intensité de la vague d'oxydation de l'amine d'un facteur 1,5 accompagnée d'un élargissement de la vague à mi-hauteur et d'un léger déplacement vers des potentiels cathodiques. Effectivement, le pic d'oxydation est désormais situé à +0,43 V (vs Ag/AgNO₃). Dès le second balayage, la vague d'oxydation s'est totalement aplatie ce qui est un signe de passivation à l'électrode. De plus, le système électro-actif du produit de couplage a totalement disparu. La base a donc déplacé l'équilibre vers la formation du radical aminyle en déprotonant irréversiblement le radical cation de l'amine.

La réponse de l'électrode modifiée, réalisée par voltammétrie cyclique en balayant le potentiel de -0,3 V à +1 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M), montre un épaulement irréversible à un potentiel de +0,85 V (vs Ag/AgNO₃) lors du premier cycle qui pourrait être attribué à l'oxydation de l'EDOT (Figure 4. 7 ; b). Cependant, cette vague d'oxydation n'apparaît plus pour les cycles

suivants dont la réponse électrochimique est similaire à celle obtenue pour une électrode de carbone vitreux vierge. C'est comme si la couche organique avait disparu de la surface après le premier balayage.

L'électrode modifiée est ensuite analysée dans une solution d'eau ultra pure contenant la sonde redox $K_3[Fe(CN)_6]$ (5 mM) / $K_4[Fe(CN)_6]$ (5 mM) ainsi que l'électrolyte KCl (0,1 M) en balayant le potentiel de -0,8 V à +1,1 V. Le système réversible de la sonde redox est donc obtenu à un potentiel de +0,213 V (vs ECS) avec un écart pic à pic de $\Delta E = 273$ mV (Figure 4. 7 ; c ; courbe noire). Par conséquent, l'électrode modifiée provoque un élargissement de l'écart pic à pic du système électro-actif qui est, de plus, accompagné par une perte d'intensité, signalant une augmentation de la résistance du transfert de charge par rapport à l'électrode vierge. Cette réponse électrochimique est donc en cohérence avec le phénomène de passivation à l'électrode caractéristique d'un dépôt d'une couche organique sur la surface. Cette expérience montre également que la couche organique est toujours présente sur la surface malgré l'extinction de l'oxydation de l'EDOT après le premier cycle.

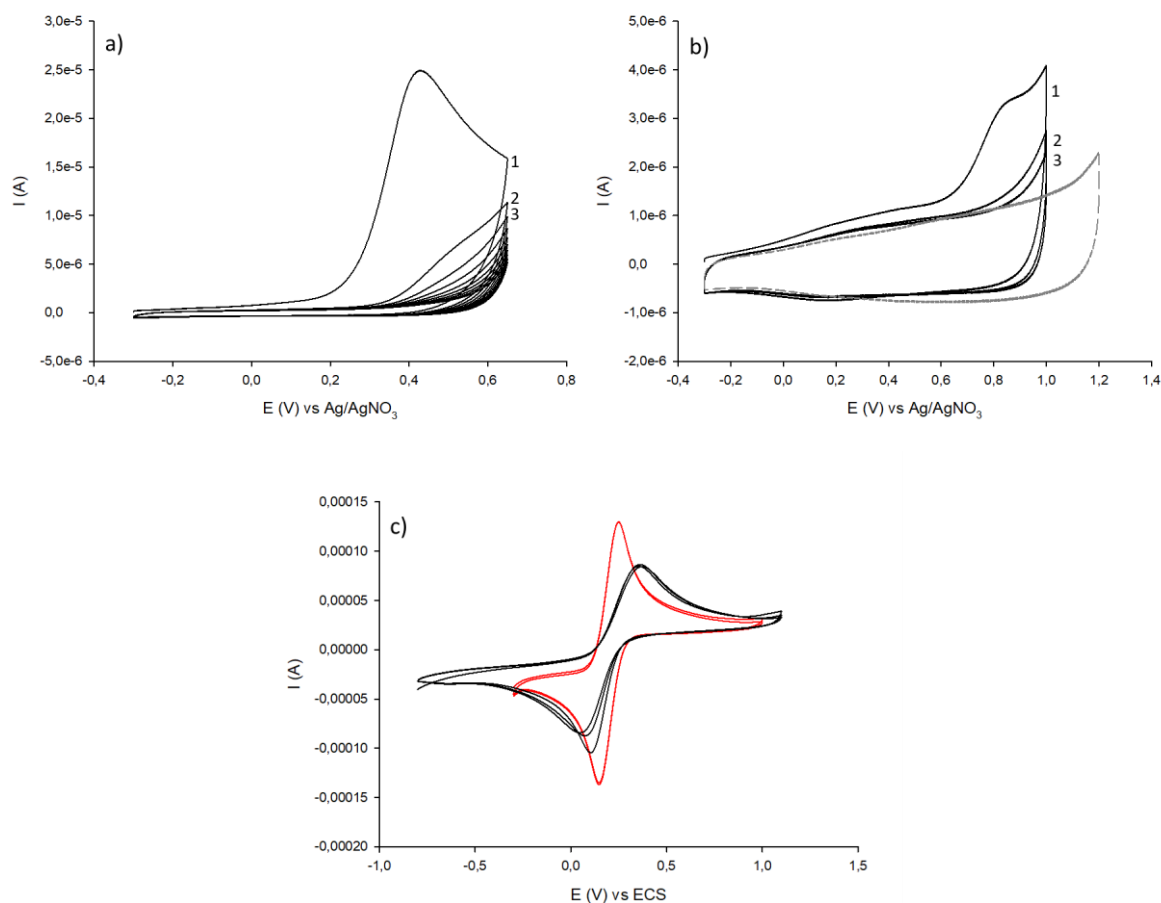


Figure 4. 7 : Réf : Ag/AgNO₃; ET : CV; CE : Pt. **a)** Greffage du composé aminoEDOT-glucose **49** (1 mM) par voltammétrie cyclique (10 cycles) de -0,3 V à +0,65 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M) en présence de collidine (5 eq), $\nu = 100$ mV/s. **b)** Réponse de l'électrode modifiée par voltammétrie cyclique (3 cycles) de -0,3 V à +1 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M), $\nu = 100$ mV/s. Voltammétrie cyclique (2^{ème} cycle) enregistrée sur une électrode de carbone vitreux vierge (courbe grise en pointillée) de -0,3 V à +1,2 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M), $\nu = 100$ mV/s. **c)** Réf : ECS; ET : CV; CE : Pt. Réponse de l'électrode modifiée (courbe noire) par voltammétrie cyclique de -0,8 V à +1,1 V (3 cycles) comparé à une électrode de carbone vitreux vierge (courbe rouge) de -0,3 V à +1 V (2 cycles) dans une solution d'eau ultra pure contenant l'électrolyte KCl (0,1 M) en présence de $K_3[Fe(CN)_6]$ (5 mM) et $K_4[Fe(CN)_6]$ (5 mM), $\nu = 100$ mV/s.

Cette étude électrochimique devra être complétée par une analyse XPS qui permettra de vraiment confirmer la présence de la couche organique sur la surface de carbone vitreux. Si l'analyse XPS s'avère positive, l'épaisseur de la couche organique pourra également être mesurée par AFM.

2.2.3 Électrogreffage du composé **49** sur une surface de carbone vitreux dans une solution aqueuse

2.2.3.1 Étude électrochimique du composé **49** en solution aqueuse

Le comportement électrochimique du composé **49** (1 mM) a été évalué dans une solution d'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), à pH = 8,3, à l'aide d'une électrode de carbone vitreux, par voltammétrie cyclique en balayant les potentiels de -0,3 V à +1,1 V à 100 mV/s. Le voltampérogramme de la Figure 4. 8 montre seulement deux systèmes électro-actifs en comparaison au milieu organique qui en révélait trois.

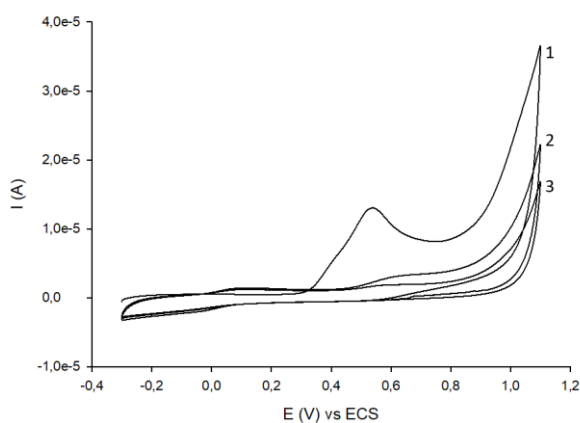


Figure 4. 8 : Réf : ECS ; ET : CV ; CE : Pt. Étude électrochimique du composé aminoEDOT-glucose **49** (1 mM) dans une solution d'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), à pH = 8,3, réalisée par voltammétrie cyclique (3 cycles) de -0,3 V à +1,1 V, $v = 100$ mV/s.

Le premier balayage montre une vague d'oxydation irréversible mono-électronique à un potentiel de +0,54 V (vs ECS) qui correspondrait à l'oxydation de l'amine aromatique. En poursuivant vers des potentiels plus positifs, on devrait apercevoir l'oxydation de l'EDOT autour de +0,8 V et +1,0 V (vs ECS) mais à première vue, l'EDOT semble ne pas être électro-actif dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L). Ensuite, lors du balayage retour, un système électro-actif réversible apparaît autour de -0,2 V et +0,2 V (vs ECS) caractérisant la formation d'un produit de couplage issu de l'oxydation de l'amine. Lors du second cycle, l'intensité du pic d'oxydation de l'amine diminue fortement jusqu'à disparaître lors du cycle suivant.

2.2.3.2 Électrogreffage du composé **49** dans une solution aqueuse en l'absence et en présence de base

Le greffage du composé **49** (1 mM) sur une surface de carbone vitreux a été réalisé par voltammétrie cyclique en balayant le potentiel au niveau de l'oxydation de l'amine de -0,3 V à +0,7 V pendant 10 cycles, à pH = 8,3, dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) et à pH = 12,2 en ajoutant 120 équivalents d'hydroxyde de sodium (2 M) dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L). Puis, l'électrode modifiée a été nettoyée aux ultrasons dans l'eau ultra pure pendant 10 min avant d'être transférée dans une cellule d'étude contenant uniquement de l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), à pH = 8,3, afin de contrôler le greffage par voltammétrie cyclique en balayant le potentiel de -0,3 V à +1,1 V à 100 mV/s.

Le voltampérogramme de greffage du composé **49** (Figure 4. 9 ; a) dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) à pH = 8,3 montre une diminution progressive de l'intensité de la vague d'oxydation de l'amine (située à +0,53 V vs ECS) au fur et à mesure des cycles jusqu'à obtenir une passivation à l'électrode. Le système réversible du produit de couplage est présent à un potentiel de -0,024 V (vs ECS) et son intensité diminue avec le nombre de cycles. Ainsi, le radical cation formé peut être déprotoné par l'aniline neutre du composé **49** (si elle est suffisamment basique) pour donner le radical aminyle qui peut soit évoluer vers la formation d'un produit de couplage ou soit s'accrocher sur la surface de l'électrode. Par conséquent, la surface pourrait être recouverte par le greffage covalent d'une partie des molécules du composé **49** tandis que l'autre partie pourrait se retrouver physisorbée sous la forme de produit de couplage.

La réponse de l'électrode modifiée, réalisée par voltammétrie cyclique dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) à pH = 8,3, montre un épaulement irréversible à un potentiel de +1,01 V (vs ECS) qui est uniquement observé pour le premier balayage (Figure 4. 9 ; b). Cette signature électrochimique pourrait peut-être représenter l'oxydation de l'EDOT.

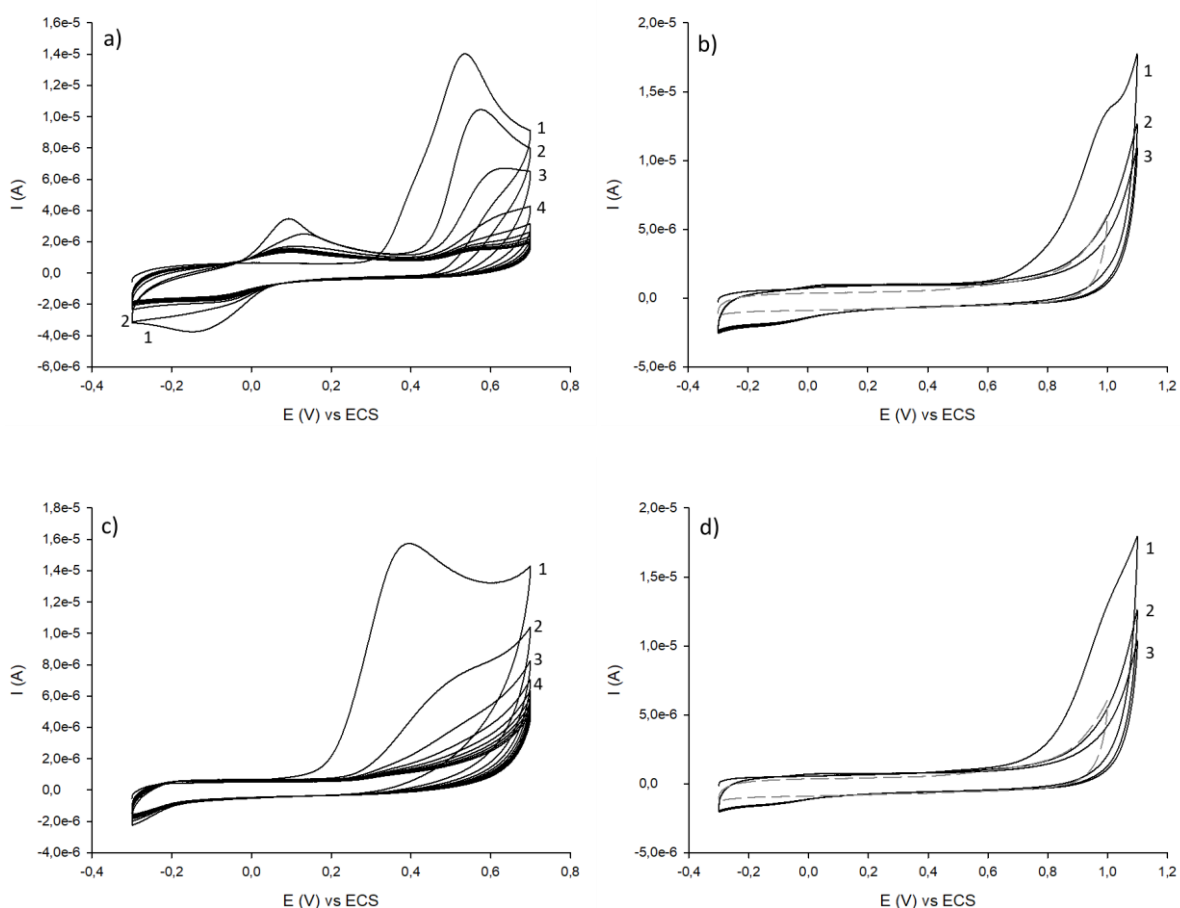


Figure 4. 9 : Réf : ECS ; ET : CV ; CE : Pt. **a)** Greffage du composé aminoEDOT-glucose **49** (1 mM) par voltammétrie cyclique (10 cycles) de -0,3 V à +0,7 V dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), à pH = 8,3, $\nu = 100$ mV/s. **b)** Réponse de l'électrode modifiée par voltammétrie cyclique (3 cycles) de -0,3 V à +1,1 V dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), à pH = 8,3, $\nu = 100$ mV/s. Voltammétrie cyclique (2^{ème} cycle) enregistrée sur une électrode de carbone vitreux vierge (courbe grise en pointillée) de -0,3 V à +1 V dans une solution d'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), à pH = 8,3, $\nu = 100$ mV/s. **c)** Greffage du composé aminoEDOT-glucose **49** (1 mM) par voltammétrie cyclique (10 cycles) de -0,3 V à +0,7 V dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), à pH = 12,2, en présence d'hydroxyde de sodium (120 eq, 2 M), $\nu = 100$ mV/s. **d)** Réponse de l'électrode modifiée par voltammétrie cyclique (3 cycles) de -0,3 V à +1,1 V dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), à pH = 8,3, $\nu = 100$ mV/s. Voltammétrie cyclique (2^{ème} cycle) enregistrée sur une électrode de

carbone vitreux vierge (courbe grise en pointillée) de -0,3 V à +1 V dans une solution d'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L), à pH = 8,3, $v = 100$ mV/s.

D'après les chapitres précédents, la condition optimale de greffage dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) est de se placer à pH = 12 pour favoriser la formation du radical aminyle. Ainsi, en présence de 120 équivalents d'hydroxyde de sodium (2 M), le premier cycle du voltampérogramme de greffage du composé **49** montre que la vague d'oxydation de l'amine aromatique a quasiment conservé son intensité par rapport au milieu sans base mais elle s'est déplacée de 144 mV vers des potentiels cathodiques (Figure 4. 9 ; c). Son potentiel d'oxydation est donc de +0,39 V (vs ECS). De plus, le système électro-actif du produit de couplage a totalement disparu à pH = 12,2. La base empêche donc la formation du produit de couplage et favorise une transformation totale du radical cation en radical aminyle. L'intensité de la vague d'oxydation de l'amine diminue plus rapidement qu'en l'absence de base et se termine par une passivation à l'électrode, ce qui est caractéristique d'un dépôt d'une couche organique sur la surface.

La réponse de l'électrode modifiée, réalisée par voltammétrie cyclique dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) à pH = 8,3, est similaire à celle obtenue pour une électrode de carbone vitreux vierge (Figure 4. 9 ; d). Le voltampérogramme ne montre aucun épaulement à un potentiel de +1,01 V (vs ECS) caractérisant l'oxydation de l'EDOT.

Ainsi, les voltampérogrammes des greffages obtenus dans l'eau de mer artificielle (ASW, 35 g/L) avec et sans base montrent une passivation de l'électrode au niveau de l'oxydation de l'amine aromatique, signalant le dépôt d'une couche organique sur la surface. Cependant, les réponses électrochimiques n'indiquent pas le système électro-actif de l'EDOT qui pourrait confirmer la présence d'une couche organique sur la surface. Il faudrait donc étudier l'électrode modifiée dans une solution aqueuse contenant une sonde redox afin d'évaluer la résistance du transfert de charge. Une analyse XPS confirmerait véritablement la présence de cette couche organique sur la surface. De plus, la croissance de PEDOT est pour le moment compromise s'il n'est pas possible de voir la partie EDOT sur l'électrode.

3 Deuxième approche : sonde électro-active proche de la surface du substrat

Cette partie propose une nouvelle stratégie pour l'application antifouling. L'idée serait d'évaluer le comportement antiprotéinique/antibactérien lorsque le système conjugué représente la couche interne du revêtement proche du substrat tandis que le glucide constitue la couche externe au contact de l'environnement biologique (Schéma 4. 15).

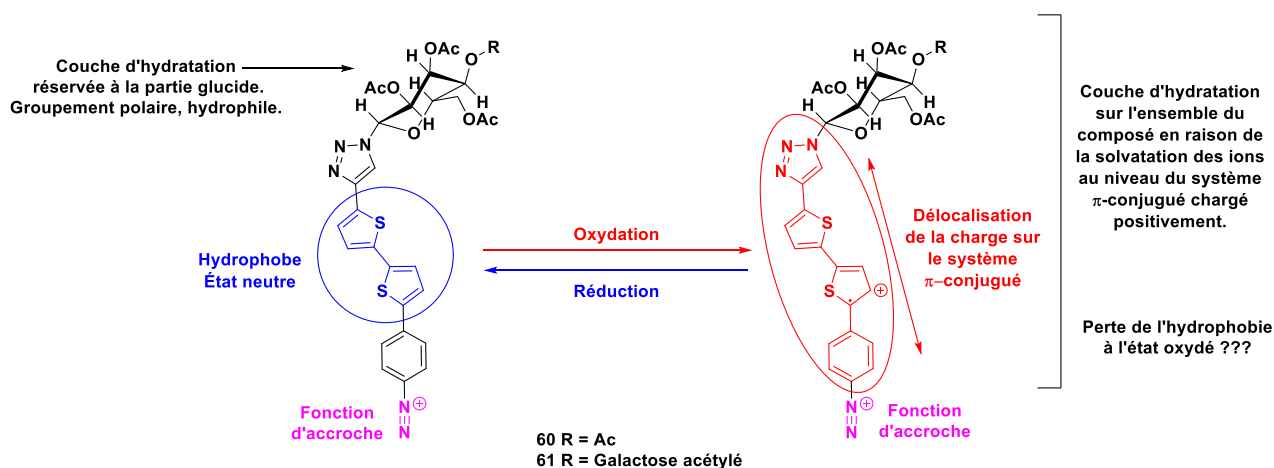


Schéma 4. 15 : Présentation des différentes propriétés de surface des composés **60** et **61** dans leur état réduit et oxydé capables d'influer sur l'activité antifouling.

D'une part, les glucides seront protégés par des fonctions acétyles et se déclineront sous forme de monosaccharide et de disaccharide. Le glucide devrait être moins hydrophile que s'il avait les fonctions hydroxyles libres mais il devrait être capable de former une couche d'hydratation autour de lui.

D'autre part, l'unité électro-active choisie pour les composés **60** et **61** est le bithiophène dont le potentiel d'oxydation est légèrement supérieur à celui du terthiophène. Le bithiophène sera entouré de deux noyaux aromatiques, le phényle et le 1,2,3-triazole, qui abaisseront son potentiel d'oxydation dû à l'augmentation de la conjugaison. Lorsque le système conjugué est oxydé, la charge positive devrait se déplacer le long de la chaîne par effet de résonance. À l'état oxydé, la couche d'hydratation devrait s'étaler sur l'ensemble du composé par la solvation des ions sur le système π -conjugué chargé positivement. La question qui se pose ici est de savoir si les bactéries seront plus sensibles à l'état de charge à l'intérieur de la couche organique greffée plutôt qu'à l'extérieur de cette dernière sachant que la couche d'hydratation jouera sûrement un rôle dans le ralentissement de l'arrivée des bactéries sur la surface. Enfin, la fonction d'accroche choisie pour les composés **60** et **61** sera le sel de diazonium.

Ainsi, les parties suivantes présenteront les synthèses et les greffages en solution organique des composés **60** et **61** par réduction de sels de diazonium.

5.1 Synthèses des composés 1-(4-[5-(4-aminophényl)-2,2'-bithiophène]-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-2,3,4,6-tétra-O-acétyl- β -D-glucopyranoside **60** et 1-(4-[5-(4-aminophényl)-2,2'-bithiophène]-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-2,3,6-tri-O-acétyl-4-O-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranoside **61**

Deux stratégies ont été envisagées pour la synthèse des composés **60** et **61**. D'un côté, le groupement nitro précurseur de l'amine sera conservé jusqu'à la dernière étape de la synthèse. D'un autre côté, la fonction amine présente sur le système π -conjugué sera générée dans les premières étapes et sera protégée sous la forme de carbamate jusqu'à la dernière étape. Cette deuxième voie de synthèse nécessite plus d'étapes mais elle a toujours conduit au produit souhaité pour les synthèses précédentes comparées à la première voie employée.

3.1.1 1^{ère} voie de synthèse : conservation du groupement nitro jusqu'à l'étape finale

La première voie de synthèse envisagée pour former les composés **60** et **61** nécessite beaucoup moins d'étapes que les synthèses précédentes (composé **38** et composé **49**) où le système conjugué se trouvait en position 6 du β -glucoside (Schéma 4. 16). En effet, dans le cas présent, seule la position anomérique est fonctionnalisée permettant aux hydroxyles de rester protégés par les fonctions acétyles tout au long de la synthèse.

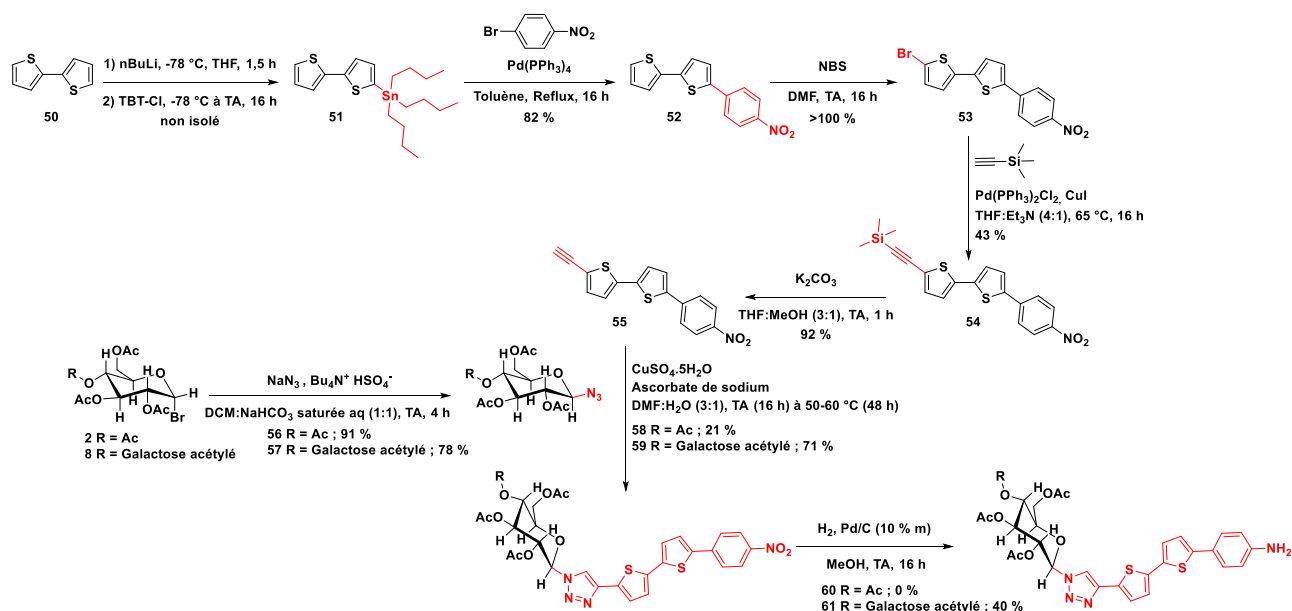


Schéma 4. 16 : Synthèse du nitrophénylbithiophène acétylène **55** et présentation de la première voie de synthèse pour préparer les composés **60** et **61**.

Le glucide et le système conjugué sont préparés de façon indépendante pour une synthèse convergente.

Tout d'abord, le saccharide peracétylé et monobromé en position anomérique (composé **2** ou composé **8**) subit une réaction de substitution nucléophile par l'ion azoture dans un mélange biphasique avec un catalyseur de transfert de phase, le sulfate d'hydrogène de tétrabutylammonium (NBu₄⁺ HSO₄⁻), conduisant avec de bons rendements, au saccharide peracétylé avec l'azoture en position anomérique (composé **56** ou composé **57**).

Le nitrophénylbithiophèneacétylène **55** est synthétisé à partir du bithiophène **50** en 5 étapes. Tout d'abord, le bithiophène est déprotoné par le butyllithium pour former un organolithien qui réagit par substitution nucléophile sur le chlorure de tributylétain pour donner le stannique **51**. Ce dernier est engagé sans purification dans un couplage de Stille avec le 1-bromo-4-nitrobenzène en présence du Pd(PPh₃)₄ utilisé comme catalyseur pour donner le nitrophénylbithiophène **52** avec un rendement de 82 %. Celui-ci est alors monobromé en présence du *N*-bromosuccinimide (NBS) pour fournir le composé bromé **53** sur lequel est introduit le triméthylsilylacétylène par le couplage de Sonogashira avec un rendement de 43 %. La fonction acétylène du composé **54** est ensuite déprotégée en présence de carbonate de potassium pour fournir le nitrophénylbithiophène acétylène **55** avec un rendement de 92 %.

La cycloaddition 1,3-dipolaire entre le saccharide peracétylé azoture (composé **56** ou composé **57**) et le nitrophénylbithiophène acétylène **55**, en présence d'ascorbate de sodium et de sulfate de cuivre, conduit au produit correspondant (composé **58** ou composé **59**) avec un plus ou moins bon rendement. L'hydrogénation

en présence de 0,05 équivalents de palladium sur charbon (Pd/C : 10 % m) a été testée sur les composés **58** et **59** pour réduire le groupement nitro en amine. L'hydrogénation du composé **58** n'a pas abouti tandis que l'hydrogénation du composé **59** a fourni l'amine correspondante **61** avec un rendement de 40 %. Un second essai a été effectué sur une faible quantité du composé **58** (50 mg) en présence de chlorure d'étain dans l'acétate d'éthyle au reflux pendant 48 h et le composé **60** a été obtenu avec un rendement de 33 %.

Une deuxième stratégie de synthèse a été envisagée afin d'optimiser les rendements de la cycloaddition 1,3-dipolaire en déplaçant la réduction du groupement nitro en amine dans les premières étapes de la synthèse car cette dernière peut se révéler difficile.

3.1.2 Modification de la stratégie de synthèse pour préparer les composés **60** et **61**

L'idée de la nouvelle stratégie de synthèse est d'effectuer la réduction du groupement nitro en amine directement après la formation du nitrophénylbithiophène **52** (Schéma 4. 17).

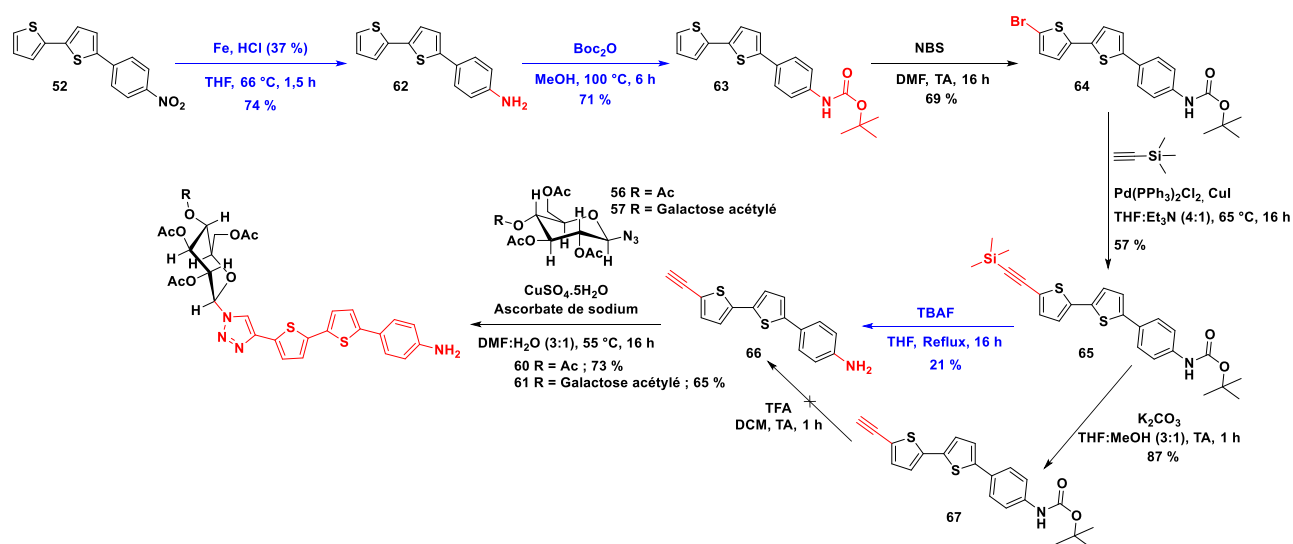


Schéma 4. 17 : Modification de la stratégie de synthèse pour préparer les composés **60** et **61**.

Ainsi, le groupement nitro du composé **52** est réduit en l'amine correspondante **62** en utilisant du fer comme agent réducteur en présence d'acide chlorhydrique concentré avec un rendement de 74 %. La fonction amine est ensuite protégée par le groupement protecteur *tert*-butoxycarbonyle (Boc) pour donner le carbamate **63** avec un rendement de 71 %. Ce dernier est engagé dans une monobromation en présence du *N*-bromosuccinimide pour fournir le composé bromé **64** avec un rendement de 69 %. Celui-ci a réagi par la suite avec le triméthylsilylacétylène en présence de « Pd » pour fournir le composé de couplage **65** avec un rendement de 57 %. Puis, l'élimination du groupement triméthylsilyle a été effectuée par l'utilisation du carbonate de potassium conduisant à l'acétylène **67** avec un rendement de 87 %. La déprotection de la fonction amine en présence d'acide trifluoroacétique dans le dichlorométhane conduit à la dégradation du milieu réactionnel. Un second essai réalisé à partir du composé **65** en présence du fluorure de tétra-*n*-butylammonium (TBAF) au reflux dans le tétrahydrofurane (THF) a permis la double déprotection des fonctions acétylène et amine conduisant au composé **66** avec un rendement de 21 %. Une partie du produit est perdue lors de la purification par colonne chromatographique dû à la forte adsorption du composé **66** sur le gel de silice.

Enfin, la cycloaddition 1,3-dipolaire entre le saccharide peracétylé azoture (composé **56** ou composé **57**) et l'aminophénylbithiophène acétylène **66**, en présence d'ascorbate de sodium et de sulfate de cuivre, suivi d'un traitement aqueux à base d'une solution d'ammoniaque (NH₄OH, 1 M) et d'EDTA, conduit au composé correspondant (composé **60** ou composé **61**) avec un bon rendement.

Cette deuxième voie de synthèse a permis d'obtenir les deux composés souhaités **60** et **61** en passant par une étape limitante représentée par la déprotection de la fonction amine.

3.2 Électrogreffage des composés **60** et **61** sur une surface de carbone vitreux en solution organique

3.2.1 Étude électrochimique des composés **60** et **61** en solution organique

Les comportements électrochimiques des composés **60** (1 mM) et **61** (1 mM) en solution dans l'acétonitrile contenant l'électrolyte *n*Bu₄NPF₆ (0,1 M) ont été effectués en utilisant une électrode de carbone vitreux par voltammétrie cyclique en balayant le potentiel de -0,3 V à +1 V pour le composé **60** et de -0,3 V à +0,9 V pour le composé **61** à 100 mV/s pendant 3 cycles. Les voltampérogrammes obtenus pour les composés **60** (Figure 4. 10 ; a) et **61** (Figure 4. 10 ; b) indiquent deux systèmes électro-actifs.

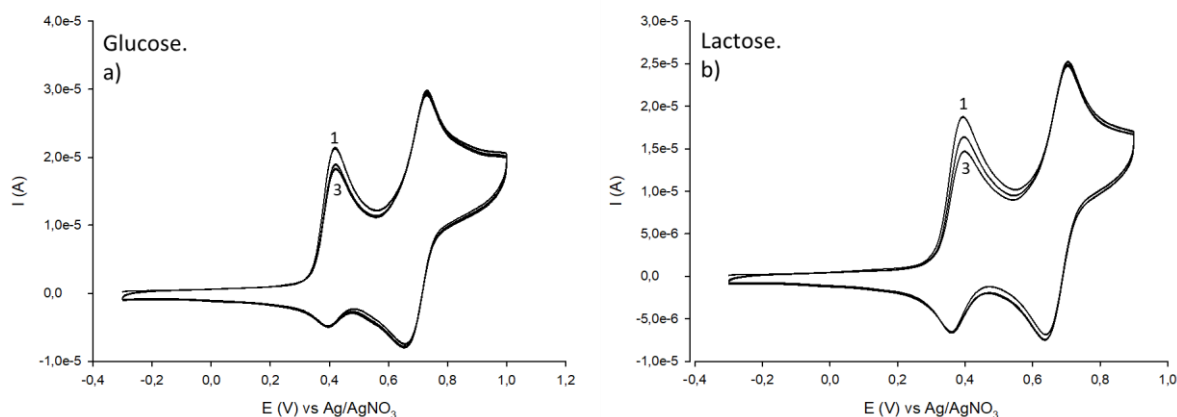


Figure 4. 10 : Réf : Ag/AgNO₃; ET : CV; CE : Pt. **a)** Étude électrochimique du composé aminophénylbithiophène-glucose acétylé **60** (1 mM) dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte *n*Bu₄NPF₆ (0,1 M), réalisée par voltammétrie cyclique (3 cycles) de -0,3 V à +1 V à l'aide d'une électrode de carbone vitreux vierge, $\nu = 100$ mV/s. **b)** Étude électrochimique du composé aminophénylbithiophène-lactose acétylé **61** (1 mM) dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte *n*Bu₄NPF₆ (0,1 M), réalisée par voltammétrie cyclique (3 cycles) de -0,3 V à +0,9 V à l'aide d'une électrode de carbone vitreux vierge, $\nu = 100$ mV/s.

Le premier cycle du voltampérogramme du composé **60** (Figure 4. 10 ; a) (ou composé **61**, Figure 4. 10 ; b) montre un système mono-électronique à un potentiel de +0,41 V (vs Ag/AgNO₃) (ou + 0,38 V vs Ag/AgNO₃ pour le composé **61**) avec une réversibilité partielle qui pourrait caractériser l'oxydation de l'amine aromatique. D'ailleurs, cette réversibilité partielle montre que le radical cation de l'amine est stabilisé par la délocalisation de la charge le long du système π -conjugué. Un second système électro-actif réversible et mono-électronique est obtenu à un potentiel de +0,69 V (vs Ag/AgNO₃) (ou +0,67 V vs Ag/AgNO₃ pour le composé **61**). Il serait caractéristique de la signature électrochimique du système π -conjugué.

3.2.2 Électrogreffage des composés **60** et **61** par réduction de sels de diazonium dans une solution organique

La procédure de greffage par réduction de sels de diazonium a été choisie pour fonctionnaliser la surface du carbone vitreux par les composés **60** et **61** (Schéma 4. 18). Effectivement, les études électrochimiques de ces composés en solution ont indiqué un système électro-actif partiellement réversible pour l'oxydation de l'amine signifiant que le radical cation est plutôt stable et donc moins réactif pour se transformer en radical aminyle. C'est pourquoi, la procédure de greffage par oxydation de l'amine n'a pas été retenue pour ces composés.

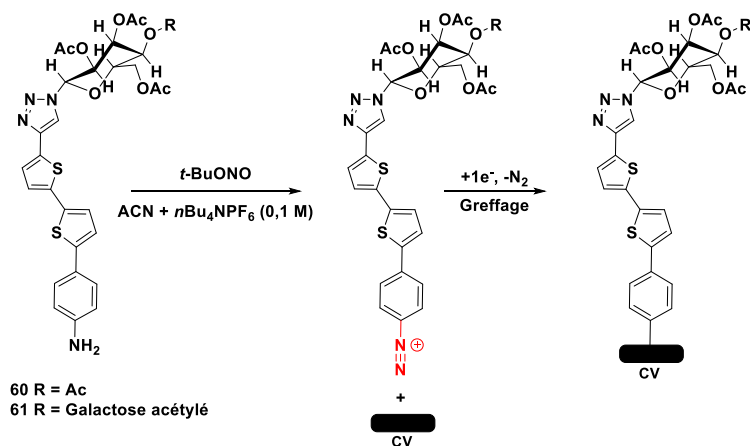


Schéma 4. 18 : Représentation schématique de la formation *in situ* des sels de diazonium et du greffage par réduction de sels de diazonium des composés **60** et **61**.

Tout d'abord, le composé **60** (1 mM) (ou composé **61** à 1 mM) a été mis en solution dans l'acétonitrile contenant l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M) en présence de trois équivalents de nitrite de *tert*-butyle ($t\text{BuONO}$) sous agitation pendant 2-3 min pour synthétiser le sel de diazonium *in situ*. Puis, le greffage peut s'effectuer à partir de cette même solution par voltammétrie cyclique en balayant les potentiels de +0,2 V à -0,7 V (ou de +0,2 V à -0,8 V pour le composé **61**) pendant 5 cycles à 100 mV/s. L'électrode modifiée a ensuite été nettoyée aux ultrasons dans l'acétonitrile pendant 10 min avant d'être transférée dans une cellule d'étude contenant uniquement de l'acétonitrile avec l'électrolyte $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ (0,1 M) afin d'analyser le greffage par voltammétrie cyclique en balayant le potentiel de -0,3 V à +1 V (de même pour le composé **61**) à 100 mV/s pendant 3 cycles (Figure 4. 11 et Figure 4. 12).

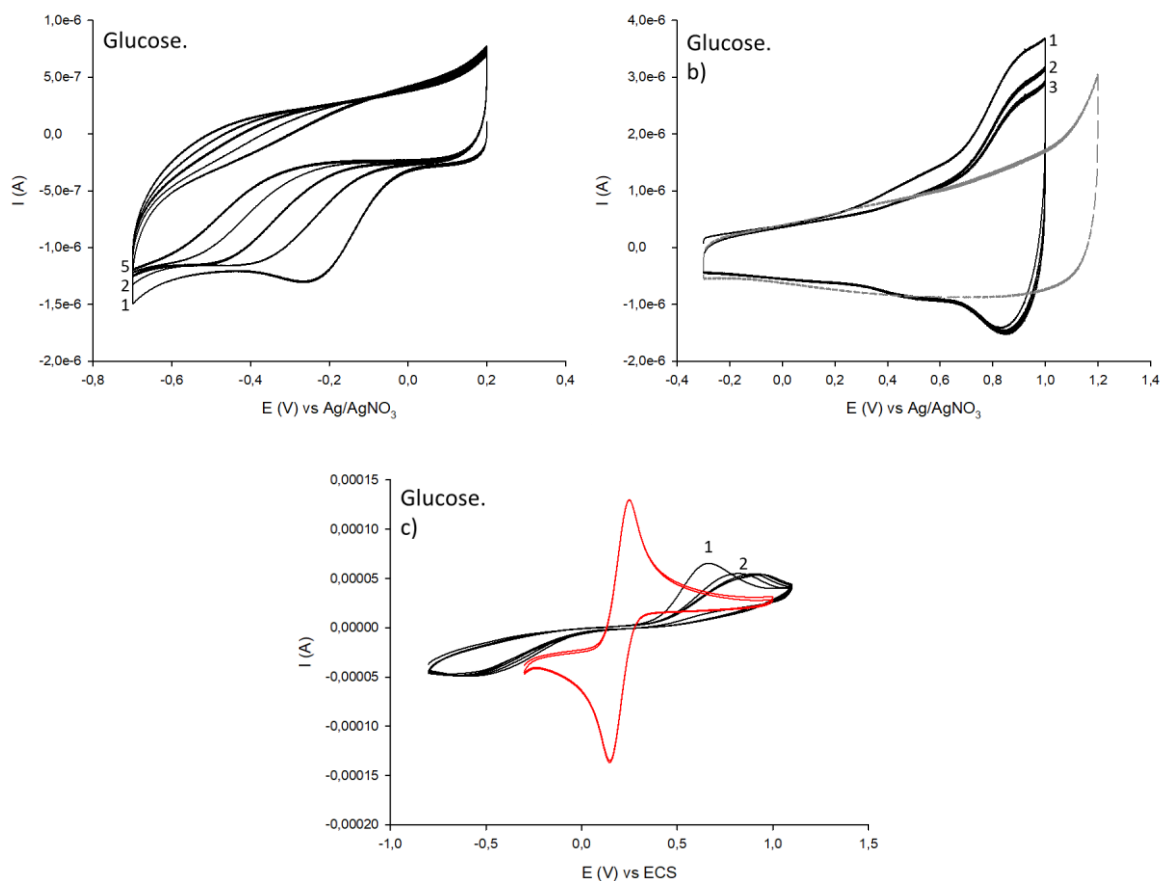


Figure 4. 11 : Réf : Ag/AgNO₃; ET : CV; CE : Pt. **a)** Greffage du composé **60** (1 mM) par voltamétrie cyclique (5 cycles) de +0,2 V à -0,7 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M) en présence de tBuONO (3 eq), $\nu = 100$ mV/s. **b)** Réponse de l'électrode modifiée par voltamétrie cyclique (3 cycles) de -0,3 V à +1 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M), $\nu = 100$ mV/s. Voltamétrie cyclique (2^{ème} cycle) enregistrée sur une électrode de carbone vitreux vierge (courbe grise en pointillée) de -0,3 V à +1,2 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M), $\nu = 100$ mV/s. **c)** Réf : ECS; ET : CV; CE : Pt. Réponse de l'électrode modifiée (courbe noire) par voltamétrie cyclique de -0,8 V à +1,1 V (5 cycles) comparé à une électrode de carbone vitreux vierge (courbe rouge) de -0,3 V à +1 V (2 cycles) dans une solution d'eau ultra pure contenant l'électrolyte KCl (0,1 M) en présence de K₃[Fe(CN)₆] (5 mM) et K₄[Fe(CN)₆] (5 mM), $\nu = 100$ mV/s.

Le voltampérogramme de greffage du composé **60** (Figure 4. 11 ; a) (ou composé **61**, Figure 4. 12 ; a) montre une vague de réduction irréversible à un potentiel de -0,24 V (vs Ag/AgNO₃) (ou -0,26 V vs Ag/AgNO₃ pour le composé **61**) qui est associée à la réduction du sel de diazonium correspondant au composé **60** (ou composé **61**). De plus, l'intensité de la vague de réduction diminue au fur et à mesure des cycles jusqu'à sa disparition au 5^{ème} cycle. Ce comportement peut être attribué à une modification progressive de l'électrode par la formation d'une couche organique qui se dépose sur la surface. Cet électrodépôt par réduction de sels de diazonium devrait fournir une couche organique épaisse et robuste reliée à la surface par une liaison covalente carbone-carbone.

Concernant la réponse électrochimique, de l'électrode modifiée par le composé **60** (ou le composé **61**), effectuée dans la solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M), le voltampérogramme de la Figure 4. 11 ; b (ou Figure 4. 12 ; b) montre un léger épaulement d'oxydation à un potentiel de +0,87 V (vs Ag/AgNO₃) (ou +0,88 V vs Ag/AgNO₃ pour le composé **61**) qui est accompagné par une vague de réduction à un potentiel de +0,86 V (vs Ag/AgNO₃) lors du balayage retour. Ce système réversible serait associé à

l'oxydation et à la réduction du système π -conjugué, démontrant que le composé **60** (ou le composé **61**) est présent sur la surface.

De plus, ces réponses électrochimiques dans l'acétonitrile des composés **60** et **61** montrent une certaine différence au niveau du taux de recouvrement électrochimique qui semble supérieur pour le composé **60**. Ceci peut être justifié par l'encombrement stérique de l'unité lactose qui réduit l'accès à la surface de l'électrode par rapport à l'unité glucose.

Pour terminer, le voltampérogramme de la Figure 4. 11 ; c (ou Figure 4. 12 ; c) représentant la réponse électrochimique de l'électrode modifiée dans une solution d'eau ultra pure contenant la sonde redox $K_3[Fe(CN)_6]$ (5 mM) / $K_4[Fe(CN)_6]$ (5 mM) et l'électrolyte KCl (0,1 M) montre un système électro-actif réversible complètement déformé par rapport à celui obtenu pour une électrode de carbone vitreux vierge. En effet, le système réversible apparaît à un potentiel de +0,08 V (vs ECS) pour les composés **60** et **61** avec un écart pic à pic de $\Delta E = 1,47$ V (ou $\Delta E = 1,64$ V pour le composé **61**) contrairement à l'électrode de carbone vitreux vierge dont le système redox est situé à un potentiel de +0,198 V (vs ECS) et l'écart pic à pic est de $\Delta E = 101$ mV. De plus, les vagues d'oxydation et de réduction se sont élargies et leur intensité a diminué, conduisant à un aplatissement du système redox. Ces différentes indications sont caractéristiques d'une forte augmentation de la résistance du transfert de charge démontrant et confirmant le dépôt d'une couche organique sur la surface de l'électrode dont la perméabilité est fortement réduite au contact de la sonde redox choisie.

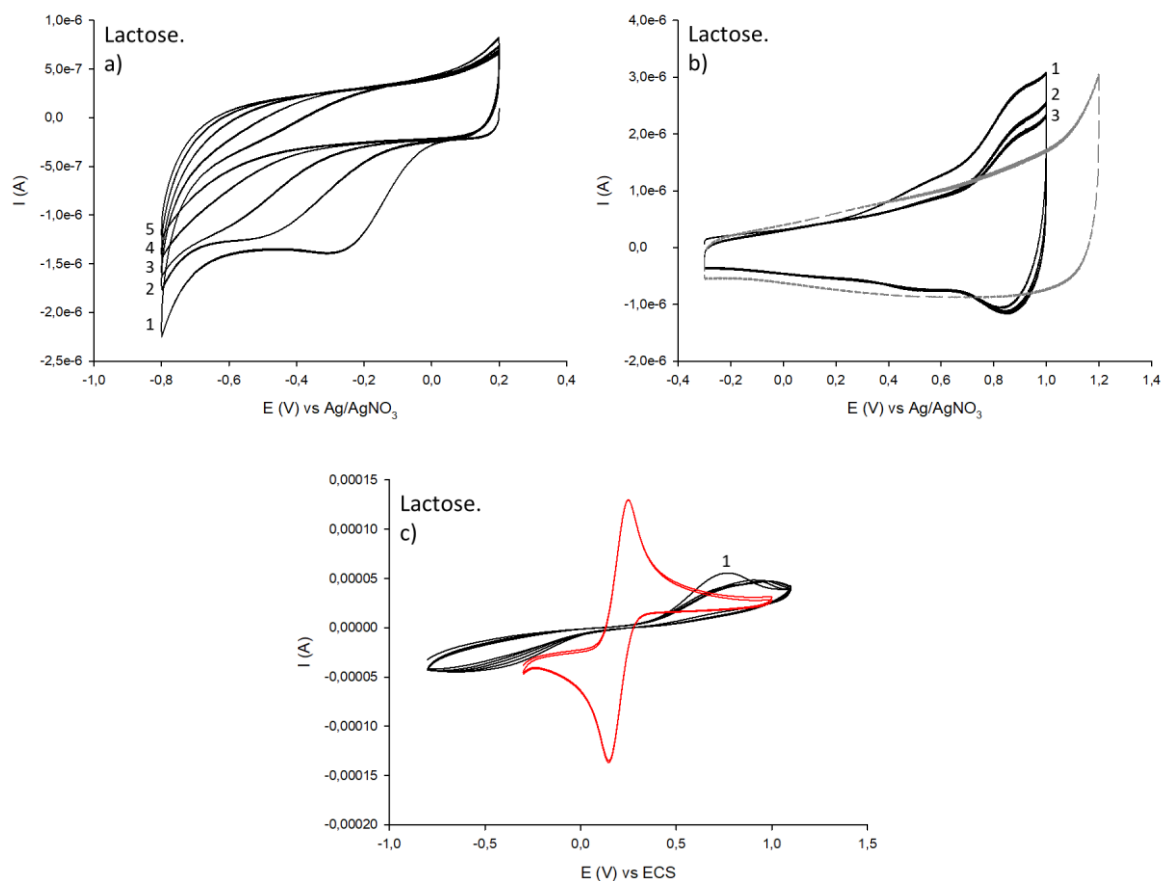


Figure 4. 12 : Réf : Ag/AgNO₃; ET : CV; CE : Pt. **a)** Greffage du composé **61** (1 mM) par voltammétrie cyclique (5 cycles) de +0,2 V à -0,8 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M) en présence de tBuONO (3 eq), $\nu = 100$ mV/s. **b)** Réponse de l'électrode modifiée par voltammétrie cyclique (3 cycles) de -0,3 V à +1 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M), $\nu = 100$ mV/s. Voltammétrie cyclique (2^{ème} cycle) enregistrée sur une électrode de carbone vitreux vierge (courbe grise en pointillée) de -0,3 V à +1,2 V dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte nBu₄NPF₆ (0,1 M), $\nu = 100$ mV/s. **c)** Réf : ECS; ET : CV; CE : Pt. Réponse de l'électrode modifiée (courbe noire) par voltammétrie cyclique (5 cycles) de -0,8 V à +1,1 V comparé à une électrode de carbone vitreux vierge (courbe rouge) de -0,3 V à +1 V (2 cycles) dans une solution d'eau ultra pure contenant l'électrolyte KCl (0,1 M) en présence de K₃[Fe(CN)₆] (5 mM) et K₄[Fe(CN)₆] (5 mM), $\nu = 100$ mV/s.

Les électrodépôts des composés **60** et **61** sur des surfaces de carbone vitreux devront être confirmés par des analyses XPS avant d'être caractérisés par des mesures AFM pour évaluer les épaisseurs des couches organiques formées. De plus, des mesures d'angle de contact pourront également être réalisées lorsque les couches organiques sont dans leur état réduit et oxydé. Les électrogreffages des composés **60** et **61** devront également être testés en milieu aqueux afin de pouvoir effectuer les tests microbiologiques dans la microplaque de 96 puits.

4 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons étudié dans un premier temps la synthèse et l'immobilisation de l'aminoterthiophène-glucose **38** par oxydation de l'amine aromatique dans une solution organique puis dans une solution aqueuse.

Pour la synthèse du composé **38**, il est nécessaire de réduire le groupement nitro dans les premières étapes afin de pouvoir obtenir l'amine qui est la fonction d'ancrage pour le greffage.

L'électrogreffage du composé **38** a été réalisé dans l'acétonitrile en présence de collidine. La réponse électrochimique de l'électrode modifiée dans une solution organique contenant du ferrocène montre que le dépôt organique est isolant en dessous de +0,5 V (vs Ag/AgNO₃) et devient conducteur au-delà de cette valeur. Le matériau se comporte donc comme une diode.

Le comportement électrochimique du composé **38** a été étudié dans l'eau de mer artificielle mais son électro-activité est imperceptible. Il semblerait que le composé **38** soit très insoluble en milieu aqueux à cause de l'hydrophobie du terthiophène et que la fonction amine soit inaccessible en raison peut être de la conformation de la molécule dans l'eau de mer artificielle.

Dans un second temps, nous avons étudié la synthèse et le greffage de l'aminoEDOT-glucose **49** sur une surface de carbone vitreux par oxydation de l'amine aromatique en milieux organiques et aqueux. Le greffage en milieu organique est démontré par une passivation à l'électrode en présence de collidine cependant l'électro-activité de l'EDOT est difficile à déceler lors de la réponse de l'électrode modifiée. Pourtant, lorsque l'électrode modifiée est au contact d'une sonde redox, le voltampérogramme démontre bien la présence d'un dépôt organique par une légère augmentation de la résistance du transfert de charge. Nous avons également démontré qu'il était possible d'obtenir une passivation à l'électrode lorsque le composé **49** est oxydé par balayage de potentiel en présence et en l'absence de base dans l'eau de mer artificielle. Il serait également nécessaire d'étudier l'électrode modifiée dans une solution contenant une sonde redox pour évaluer l'effet bloquant.

La dernière partie concerne les synthèses et les immobilisations d'un glucose **60** et d'un lactose **61** peracétylés dont leur position anomérique est substituée par un système conjugué à base de bithiophène. Ces nouveaux composés répondent à la 2^{ème} approche antifouling. Leur greffage par réduction de sels de diazonium conduit à une couche organique épaisse sur la surface qui augmente la résistance du transfert de charge entre l'électrode modifiée et une sonde redox externe.

Toutes les études électrochimiques présentées dans ce chapitre sont incomplètes dû au manque de temps. Les surfaces modifiées devront être caractérisées par des analyses autres que par voie électrochimique comme l'AFM, l'XPS ou les mesures d'angle de contact à l'eau. De plus, le terthiophène et l'EDOT ne semblent pas électro-actifs dans l'eau de mer artificielle. Ces composés pourront uniquement être testés pour des applications antifouling sans stimulation électrique. Il faudrait alors modifier la structure de nos composés pour augmenter leur polarité en introduisant par exemple des groupements zwitterioniques.

CONCLUSION GÉNÉRALE et PERSPECTIVES

Conclusion générale et Perspectives

Conclusion générale

L'objectif principal de ce travail de thèse consistait à synthétiser et à immobiliser des glucides reliés à des systèmes conjugués électrostimulables afin d'évaluer leurs propriétés antibactériennes.

Tout d'abord, le chapitre 2 a démontré qu'il était possible de greffer des glucides simples (le β -glucopyranoside **5** et le β -lactoside **11**) en milieux organiques et aqueux sur une surface de carbone vitreux par oxydation de l'amine aromatique en présence d'une base.

En milieu organique, la collidine (la base azotée) effectue des liaisons hydrogène avec l'aniline neutre du β -glucopyranoside **5**, ce qui décale la vague d'oxydation de l'amine aromatique vers des potentiels cathodiques. De plus, l'utilisation de cette base azotée permet de déprotoner le radical cation de l'amine afin de donner le radical aminyle qui est l'espèce chimique responsable de la formation d'un dépôt organique sur la surface de l'électrode. Cette modification de surface a été confirmée par voltampérométrie cyclique, par des mesures d'angle de contact, des analyses AFM et XPS. Au contraire, en l'absence de base azotée, la formation du radical aminyle est défavorisée par l'incapacité de l'aniline neutre à déprotoner le radical cation à cause de sa faible acidité. Cela conduit donc à des réactions de couplage entre le radical cation de l'amine et l'aniline neutre pour donner des produits de dimérisation comme la *para*-aminodiphénylamine.

En milieu aqueux, la formation du produit de couplage est beaucoup plus prononcée qu'en milieu organique. Cependant, celle-ci peut être limitée en milieu basique à pH = 12 en présence d'une base forte comme l'hydroxyde de sodium. Ces conditions expérimentales facilitent donc la formation du radical aminyle qui est responsable du phénomène de passivation à l'électrode. Le dépôt organique a été confirmé en étudiant l'effet bloquant de l'électrode modifiée par le β -lactoside **11** dans une solution d'eau ultra pure contenant le couple redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$. Cependant, des analyses AFM, XPS et des mesures d'angle de contact restent à réaliser afin de compléter cette étude électrochimique et de la comparer à celle effectuée en milieu organique.

Dans le chapitre 3, nous avons étudié la synthèse et l'immobilisation du complexe aminoferrocène-glucose **15** sur une surface de carbone vitreux par oxydation de l'amine aromatique en milieux organiques et aqueux afin d'évaluer son activité antibactérienne vis-à-vis de la bactérie marine TC8.

Les travaux montrent que le greffage en milieu organique en présence de collidine peut être effectué par oxydation de l'amine aromatique mais aussi par oxydation du ferrocène qui est utilisé comme médiateur redox. Les résultats obtenus par voltammétrie cyclique et par XPS, pour ce dernier cas, suggèrent qu'un transfert électronique a lieu de l'amine aromatique vers le cation ferrocénium à travers l'espace grâce à la proximité de l'amine et du ferrocène, ceci ayant été démontré par DRX. Il serait intéressant d'analyser les deux procédures de greffage par AFM afin de mesurer l'épaisseur des couches formées.

Les expériences montrent également que le greffage du composé **15** en milieu aqueux a bien lieu à pH = 12 en présence d'hydroxyde de sodium. De plus, il a été démontré par des mesures d'angle de contact que la couche organique greffée conserve ses propriétés hydrophiles après un vieillissement de 14 h par voltammétrie cyclique. Il serait toutefois nécessaire de compléter cette étude par des analyses AFM et XPS afin de comparer les résultats avec ceux obtenus pour le milieu organique.

L'activité antibactérienne du composé **15** a été évaluée dans les puits d'une microplaque contenant des cellules électrochimiques connectées à un potentiostat. Immobilisé sur la surface de carbone vitreux, le

composé **15** a été au contact de la suspension bactérienne TC8 et a montré des propriétés anti-adhésives par rapport au carbone vitreux vierge et au témoin polystyrène. Puis, l'application d'un courant électrique par balayage de potentiel pendant 16 h a eu un effet synergique sur ses propriétés anti-adhésives qui se sont accentuées. La modification de l'état de charge a permis de perturber le comportement physiologique de la bactérie, réduisant ainsi son adhésion à la surface.

Dans le chapitre 4, la synthèse et l'immobilisation de l'aminoterthiophène-glucose **38** sur une surface de carbone vitreux par oxydation de l'amine aromatique en milieux organiques et aqueux ont été présentées dans un premier temps.

Le greffage du composé **38** en milieu organique en présence de collidine donne une couche organique semi-conductrice, qui est isolante pour des potentiels inférieurs à +0,5 V (vs Ag/AgNO₃) et qui devient conductrice au-delà de +0,5 V (vs Ag/AgNO₃). Cette couche organique se comporte alors comme une diode à la surface de l'électrode de carbone vitreux. Il serait intéressant de mesurer l'épaisseur de la couche formée ainsi que les angles de contact lorsque le dépôt organique est dans son état réduit et oxydé.

Cependant, en milieu aqueux, les électro-activités de la fonction amine et de l'unité terthiophène sont totalement imperceptibles. Cela est peut-être dû à l'hydrophobie du terthiophène et à la conformation de la molécule dans le milieu aqueux qui rendent à la fois, la substance insoluble et l'amine inaccessible.

Dans un second temps, la synthèse et l'immobilisation de l'aminoEDOT-glucose **49** sur une surface de carbone vitreux par oxydation de l'amine aromatique en milieux organiques et aqueux ont été étudiées.

Pour le milieu organique, le greffage du composé **49** en présence de collidine montre une passivation à l'électrode, indiquant le dépôt d'une couche organique sur la surface. De plus, l'électrode modifiée présente une légère augmentation de la résistance du transfert de charge dans une solution d'eau ultra pure contenant le couple redox Fe(CN)₆^{3-/4-}. Pour confirmer le greffage, une analyse XPS pourrait être effectuée.

Les greffages du composé **49** en milieu aqueux, en l'absence ou en présence de base, ont démontré un phénomène de passivation à l'électrode. Pourtant, la réponse électrochimique de l'électrode modifiée est semblable à celle obtenue pour une électrode fraîchement polie car l'oxydation de l'EDOT n'est pas visible. L'électrode modifiée devra être étudiée dans une solution d'eau ultra pure contenant le couple redox Fe(CN)₆^{3-/4-} pour évaluer son effet bloquant avant d'effectuer une analyse XPS pour confirmer le dépôt d'une couche organique sur la surface.

Enfin, dans le chapitre 4, les synthèses et les greffages de mono- et di-saccharides acétylés, portant le bithiophène comme unité électro-active (composés **60** et **61**), sur une surface de carbone vitreux par réduction de sels de diazonium en milieu organique, ont été présentés. Les greffages de ces deux composés semblent produire une couche épaisse sur la surface caractérisée par une augmentation élevée de la résistance du transfert de charge dans une solution d'eau ultra pure contenant le couple redox Fe(CN)₆^{3-/4-}. Les greffages de ces composés en milieu aqueux devront également être étudiés.

Enfin, les sondes électro-actives utilisées dans ce chapitre 4 semblent inactives en milieu aqueux, ce qui empêche l'application d'un courant électrique pour le test anti-adhésion bactérienne. Il sera sûrement nécessaire de modifier les structures moléculaires de ces composés (**38**, **49**, **60** et **61**) en introduisant un groupement zwitterionique afin d'augmenter leur polarité.

Perspectives

• Glycosylation électrochimique sur la surface

En s'inspirant des essais de glycosylation électrochimique en solution décrits dans la littérature¹⁶⁰, il serait intéressant de réaliser une glycosylation électrochimique sur une surface de carbone vitreux à partir des composés synthétisés durant cette thèse. Cette technique permettrait d'introduire des disaccharides voire des trisaccharides sur la surface en s'affranchissant de la glycosylation chimique qui est une réaction difficile à réaliser en synthèse. L'objectif premier serait d'immobiliser l'aminophényl- β -glucopyranoside **5** sur une surface de carbone vitreux par oxydation de l'amine aromatique en milieu organique en présence de collidine, comme ce qui est décrit dans le chapitre 2. Puis, dans une seconde cellule de travail contenant le nitroferrocène-glucose **14** dissous dans une solution d'acétonitrile contenant l'électrolyte LiClO₄ (0,1 M), il s'agirait de polariser une deuxième électrode de carbone vitreux vierge pendant un temps donné au potentiel d'oxydation de la position anomérique afin de former le cation ferrocèneglycosyle. Enfin, l'électrode modifiée par l'aminophényl- β -glucopyranoside **5** serait plongée dans la solution contenant le cation ferrocèneglycosyle afin de réaliser la glycosylation sur surface par l'addition de l'hydroxyle de la position 6 de l'aminophényl- β -glucopyranoside **5** sur le cation ferrocèneglycosyle en solution. Cette post-fonctionnalisation serait analysée dans un premier temps par voltampérométrie cyclique afin d'observer le système réversible du ferrocène, avant d'être caractérisée par d'autres techniques d'analyses de surface (Schéma 1).

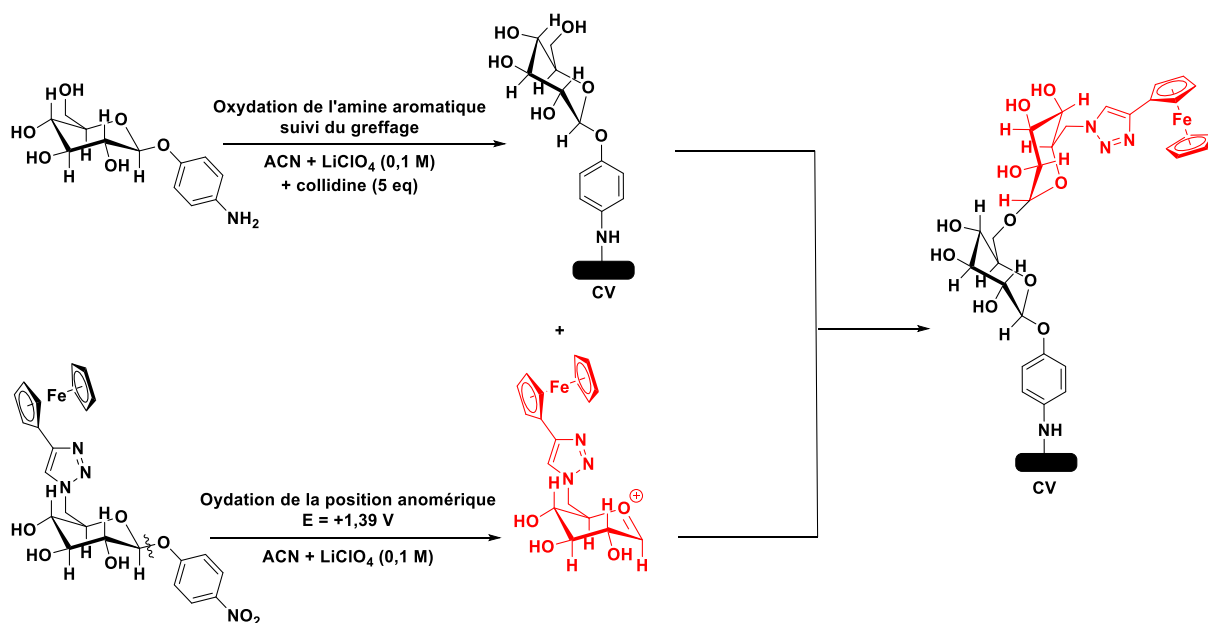


Schéma 1 : Représentation schématique de la glycosylation électrochimique sur une surface de carbone vitreux à partir de l'aminophényl- β -glucoside **5** greffé sur une surface de carbone vitreux et d'un cation ferrocèneglycosyle en solution.

¹⁶⁰ (a) Amatore, C.; Jutand, A.; Meyer, G.; Bourhis, P.; Machetto, F.; Mallet, J. M.; Sinaÿ, P.; Tabeur, C.; Zhang, Y. M., *Journal of Applied Electrochemistry* **1994**, *24*, 725-729. (b) France, R. R.; Compton, R. G.; Davis, B. G.; Fairbanks, A. J.; Rees, N. V.; Wadhawan, J. D., *Organic & Biomolecular Chemistry* **2004**, *2*, 2195-2202. (c) Suzuki, S.; Matsumoto, K.; Kawamura, K.; Suga, S.; Yoshida, J.-i., *Organic Letters* **2004**, *6*, 3755-3758. (d) Amatore, C.; Jutand, A.; Mallet, J.-M.; Meyer, G.; Sinaÿ, P., *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1990**, 718-719. (e) Noyori, R.; Kurimoto, I., *The Journal of Organic Chemistry* **1986**, *51*, 4320-4322.

• Synthèse d'un glucide photostimulable pour des applications antifouling

La fonctionnalisation de surface par une unité photo-isomérisable de type azobenzène présente des propriétés antibactériennes en présence d'une irradiation lumineuse utilisée comme un stimulus externe. L'azobenzène *trans* subit une isomérisation *cis* par une irradiation dans le domaine de l'UV ($\lambda \sim 365$ nm) et reprend sa conformation de départ (*trans*) lors d'une irradiation dans le domaine du visible ($\lambda \sim 450$ nm) ou par la chaleur. Ainsi, l'objectif est d'irradier l'azobenzène en alternant rapidement une longueur d'onde de l'UV puis du visible de façon continue afin de perturber le biofilm et de le supprimer mécaniquement du substrat.¹⁶¹

Pour cette étude, il s'agira de fonctionnaliser une surface de carbone vitreux par un glucose, relié à une sonde photostimulable par un lien triazole, via l'oxydation de l'amine aromatique qui est la fonction d'accroche. Le Disperse Red 1 a été choisi comme sonde photostimulable car il était disponible dans le laboratoire et de plus, il présente une fonction hydroxyle qui apporte un caractère hydrophile à l'azobenzène. Pour le mécanisme antibactérien, l'hydrophilie du glucide retiendra la couche d'hydratation capable de repousser les protéines tandis que l'action mécanique de l'azobenzène agira comme un essuie-glace par l'irradiation lumineuse UV/visible et perturbera l'installation du biofilm (Schéma 2).

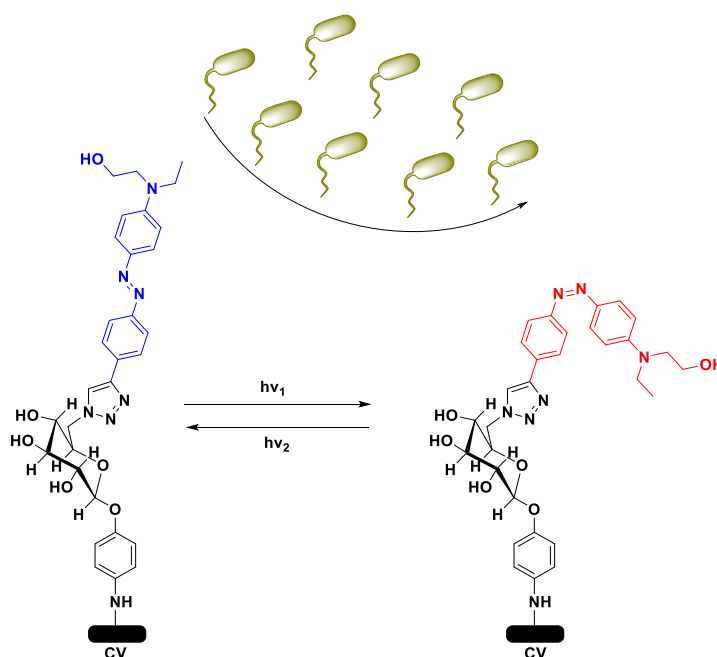


Schéma 2 : Représentation de l'activité antibactérienne du composé aminodispersered1-glucose **74** lors de l'irradiation lumineuse UV/visible.

La synthèse du composé aminodispersered1-glucose **74** (Schéma 3) se décompose en trois grandes étapes :

- La synthèse du Disperse Red 1 acétylène **72** en passant par le couplage de Sonogashira,
- Puis, la cycloaddition 1,3-dipolaire entre le Disperse Red 1 acétylène **72** et le β -NHBoc-glucoside azoture **43** pour donner le composé NHBocdispersed1-glucose **73**
- Et, enfin, la déprotection de l'amine aromatique pour donner le composé **74**.

¹⁶¹ Kehe, G. M.; Mori, D. I.; Schurr, M. J.; Nair, D. P., *ACS applied materials & interfaces* **2019**, *11*, 1760-1765.

Conclusion générale et Perspectives

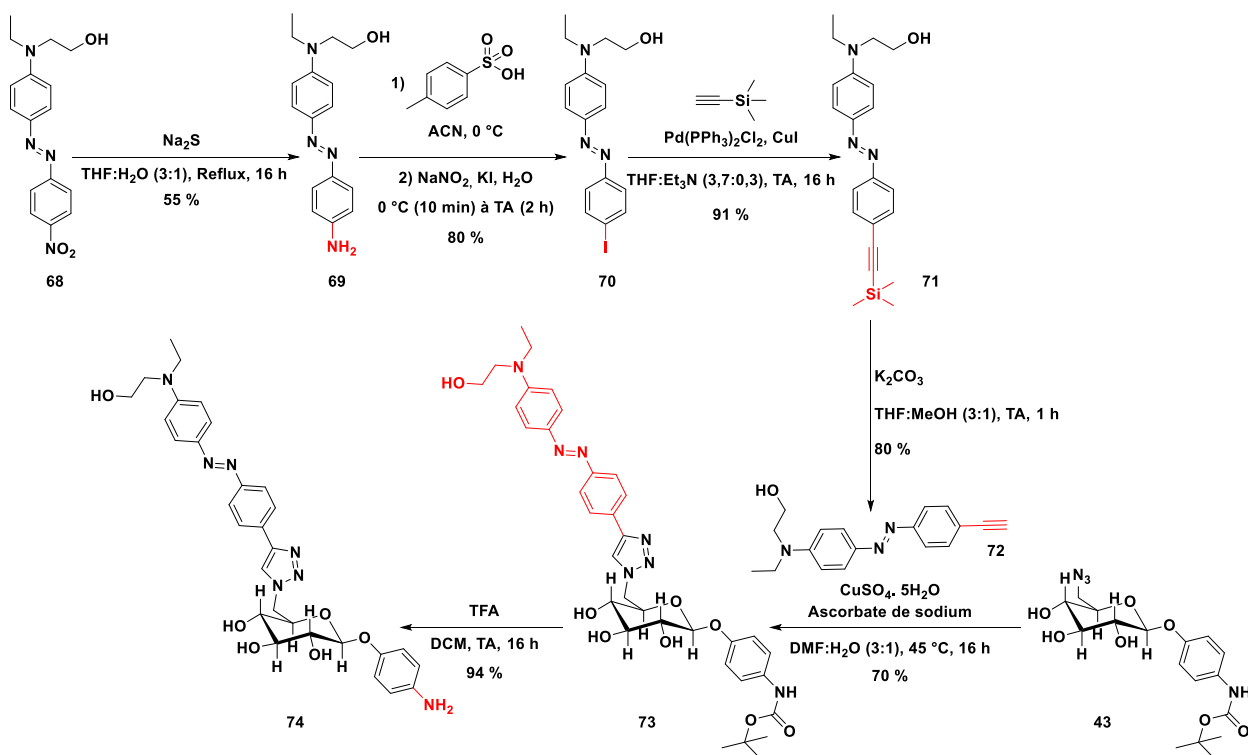


Schéma 3 : Synthèse du Disperse Red 1 acétylène **72** et de l'aminodispersered1-glucose **74**.

Ce composé **74** devra être étudié par RMN¹H et spectroscopie UV-visible dans ses deux conformations *cis* et *trans*. Puis, il faudra effectuer l'électrogreffage du composé **74** en milieux organiques et aqueux avant d'évaluer ses propriétés antibactériennes en présence ou en l'absence d'irradiation UV/visible.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Experimental part

Chemicals

All used reagents for the organic synthesis were purchased from suppliers as Sigma Aldrich, Acros Organics, TCI, Combi-blocks and were used without purification.

Dry solvents as tetrahydrofuran (THF), *N,N*-dimethylformamide (DMF), 1,4-dioxane, pyridine come from commercial sources quoted above. Dichloromethane was dried by distillation from CaH₂ if necessary. Otherwise, HPLC grade solvents freshly opened and sometimes dried over 4 Å activated molecular sieves were used as acetonitrile, methanol, ethanol and dichloromethane.

The starting materials mainly coming from carbohydrate synthesis were produced under air atmosphere with HPLC grade solvents whereas the air-sensitive reactions were realized under argon atmosphere with anhydrous solvents or HPLC grade solvents freshly opened.

Purification was performed using column chromatography on silica gel SiO₂ from Sigma Aldrich (technical grade, pore size 60 Å, 230-400 mesh particle size) and analytical standard solvents as eluent.

Thin-layer chromatography (TLC) was carried out with ALUGRAM aluminum sheets coated on silica gel (SiOH, normal phase, Xtra SIL G UV254, 20 x 20 cm) from MACHEREY-NAGEL. Compounds were detected with UV irradiation ($\lambda = 254$ nm and $\lambda = 365$ nm) from Bioblock Scientific and with vanillin stain which was prepared into the lab (vanillin (15 g) was dissolved in ethanol (250 mL) and concentrated sulfuric acid (2.5 mL)).

Instrumentation

Melting points were measured with the Stuart SMP30 Advanced Digital Melting Point Apparatus. The heating climbs from room temperature to 350 °C with a ramp rate equal to 10 °C per minutes in 0.1 °C increments.

¹H and ¹³C Nuclear Magnetic Resonance (NMR) were recorded on a Bruker AVANCE III 300 (¹H: 300 MHz; ¹³C: 75 MHz) or on Bruker AVANCE III HD 500 (¹H 500 MHz; ¹³C 125 MHz). Chemical shifts (δ) are given in parts-per-million (ppm) relative to TMS and coupling constants (J) are represented in Hertz (Hz). NMR spectra were recorded in the next deuterated solvents: CDCl₃ (¹H: 7.26 ppm; ¹³C: 77.16 ppm) and DMSO-*d*₆ (¹H: 2.5 ppm; ¹³C: 39.52 ppm). The multiplicity is indicated as follows: s = singlet; d = doublet; dd = doublet of doublet; ddd = doublet of doublet of doublet; td = triplet of doublet; q = quartet; m = multiplet; br = broad. DEPT-135, COSY and HMQC were also used to complete the NMR studies.

High resolution mass spectrometry (HRMS) was achieved on Jeol JMS 700 (CI, EI, FAB), on a Bruker Esquire 3000 + (ESI), on Bruker Biflex III (MALDI-TOF) or Jeol JMS 3000 (SPIRAL-TOF-TOF) mass spectrometers. For the MALDI, the most used matrixes were DCTB (*trans*-2-[3-(4-*tert*-Butylphenyl)-2-methyl-2-propenylidene] malononitrile), HABA (2-(4-Hydroxyphenylazo) benzoic acid) and DIT (Dithranol). For the FAB, the matrix used was mNBA (m-nitrobenzyl alcohol) with Xenon gas bombardment.

Infrared (IR) spectra were recorded on a Bruker spectrometer Vertex 70.

X-Ray single-crystal diffraction data were collected on a SuperNova single-crystal diffractometer from Rigaku Oxford Diffraction, equipped with an Atlas CCD detector and a micro-focus Cu-K α radiation ($\lambda = 1.54184 \text{ \AA}$). The structures were solved by direct methods, expanded and refined on F2 by full matrix least-squares techniques using SHELX programs (G. M. Sheldrick 2013-2016, SHELXS 2013/1 and SHELXL 2016/4).

Electrochemical measurements were realized using a bipotentiostat from CH Instruments (model 920C) or a potentiostat/galvanostat model VSP from Biologic monitored by ECLab software. The experiments were done in organic or aqueous medium in a three-electrode-cell with platinum wire as a counter electrode (CE: Pt), a glassy carbon as a working electrode (WE: GC; 3 mm in diameter) and a reference electrode. AgNO₃/Ag (0.01 M AgNO₃ and 0.1 M TBAP in acetonitrile) was used as a nonaqueous reference electrode for organic solution whereas SCE (Hg₂Cl₂/Hg in saturated KCl) was used as reference electrode for the aqueous medium. All potential values were referred to the AgNO₃/Ag or SCE system. Tetrabutylammonium hexafluorophosphate (*n*Bu₄NPF₆) was used as an electrolyte in non-aqueous solution whereas sea salt was used as an electrolyte for aqueous solution. Glassy carbon electrode was polished with a mixture of ultra-pure water and alumina (0.04 μm , 0.05 μm or 0.3 μm) and was sonicated in acetonitrile or water for 5 min before each analysis.

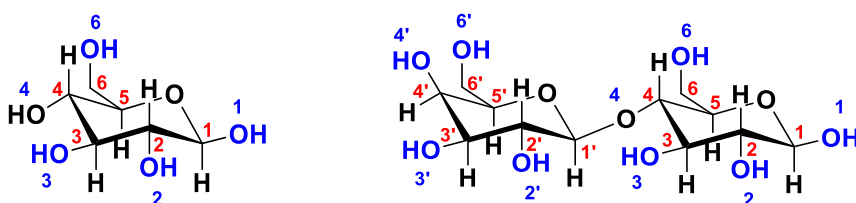
X-Ray photoelectron spectroscopy (XPS) measurements were carried out on a modified/non-modified glassy carbon sheets using a Kratos Axis Ultra spectrometer with a Al K α monochromatic beam working at 1486.6 eV. All spectra were recorded in the constant energy mode at a pass energy of 40 eV. Data treatment was performed with CasaXPS software and all spectra were calibrated taking 284.5 eV (graphite-like carbon) as a reference binding energy.

Atomic force microscopy (AFM) studies were performed on a modified PPF surface using a NanoObserver microscope from CSInstruments in tapping mode. The acquired images were analyzed using the Gwyddion free SPM data analysis software. The thickness of the electrografted layer on PPF surface was evaluated from the profile obtained by scratching the surface with the AFM tip in contact mode.

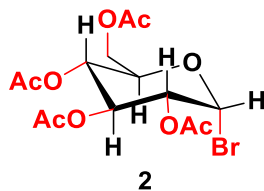
Contact angles were measured using a GBX Digidrop MCAT instrument. A water droplet of 2.5 μL was formed at the end of a syringe and was deposited on the modified/non-modified glassy carbon surface. Polynomial mode was used to calculate the contact angle values on the left, on the right and the average of both. Six measurements were taken on different areas of each substrate.

Synthetic procedures

We have numbered the hydrogen of glucose and lactose as follows:



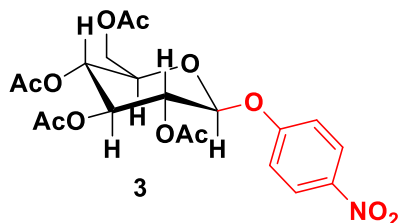
Chapter 2

2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosyl bromide **2**¹⁶²

Chemical Formula: C₁₄H₁₉BrO₉
Molecular Weight: 411,20

Anhydrous D-glucose **1** (5 g, 27.7 mmol, 1 eq) was dissolved in acetic acid (50 mL). Then, anhydride acetic (17.56 g, 16.23 mL, 17.2 mmol, 6.2 eq) and four drops of HClO₄ were added to the solution which was stirred at room temperature during 30 min. The solution became transparent when the peracetylated sugar was synthesized. Acetyl bromide (10.23 g, 6.15 mL, 83.2 mmol, 3 eq) and MeOH (3.20 g, 4.04 mL, 99.9 mmol, 3.6 eq, HPLC grade) were then added and the reaction mixture was stirred for 1.5 h at room temperature in the absence of light. The reaction mixture was poured in cold water and the product was extracted with dichloromethane. The organic phase was washed with a saturated aqueous NaHCO₃ until neutral pH and brine, was dried over anhydrous MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude material was purified by column chromatography on silica gel (PE:EtOAc, 7:3) to afford a white solid (9.25 g, 81 %).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.61 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 5.56 (t, *J* = 9.8 Hz, 1H), 5.19-5.13 (m, 1H), 4.83 (dd, *J* = 10.0, 4.1 Hz, 1H), 4.36-4.26 (m, 2H), 4.15-4.09 (m, 1H), 2.10 (s, 3H, COCH₃), 2.10 (s, 3H, COCH₃), 2.05 (s, 3H, COCH₃), 2.03 (s, 3H, COCH₃).

4-Nitrophenyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranoside **3**¹⁶³

Chemical Formula: C₂₀H₂₃NO₁₂
Molecular Weight: 469,40

In a flask (1 L), 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosyl bromide **2** (18 g, 43.7 mmol, 1 eq) was dissolved in acetonitrile (250 mL, HPLC grade). Silver oxide (12.2 g, 52.5 mmol, 1.2 eq) was then added to the solution which was stirred at room temperature in the absence of light. In parallel, a solution of 4-nitrophenol (6.1 g, 43.7 mmol, 1 eq) in acetonitrile (110 mL) was prepared and added dropwise to the reaction mixture via a dropping funnel. The reaction was stirred vigorously at room temperature in the dark overnight. Then, the green suspension was filtered on celite under vacuum to remove the silver salts and the filtrate was

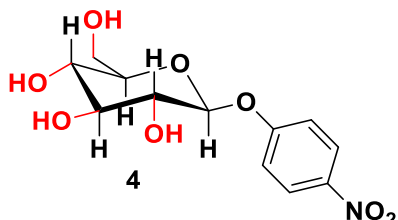
¹⁶² Hunsen, M.; Long, D. A.; D'Ardenne, C. R.; Smith, A. L., *Carbohydrate research* **2005**, *340*, 2670-2674.

¹⁶³ Winum, J.-Y.; Leydet, A.; Seman, M.; Montero, J.-L., *Il Farmaco* **2001**, *56*, 319-324.

concentrated in half *in vacuo* to be filtered two other times. The crude material was purified using column chromatography on silica gel (PE:EtOAc, 7:3 to 6:4 to 5:5) to afford a white solid (10.40 g, 50 %).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 8.21 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H, Ar-H), 7.07 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H, Ar-H), 5.36-5.27 (m, 2H), 5.25-5.14 (m, 2H), 4.28 (dd, $J = 12.4, 5.4$ Hz, 1H), 4.18 (dd, $J = 12.4, 2.4$ Hz, 1H), 3.93 (ddd, $J = 9.9, 5.4, 2.4$ Hz, 1H), 2.07 (s, 3H, COCH_3), 2.06 (s, 3H, COCH_3), 2.06 (s, 3H, COCH_3), 2.04 (s, 3H, COCH_3).

4-Nitrophenyl- β -D-glucopyranoside **4**¹⁶⁴



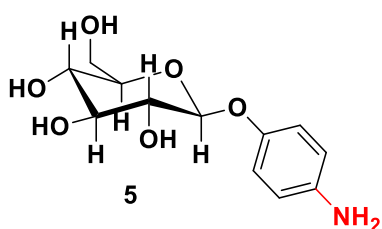
Chemical Formula: $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_8$

Molecular Weight: 301,25

In a flask (1 L), 4-Nitrophenyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranoside **3** (13.3 g, 28.3 mmol, 1 eq) was suspended in MeOH (700 mL, grade HPLC). A solution of sodium methoxide in methanol (13.9 mL, 76.5 mmol, 2.7 eq, 30 wt. %) was added to the mixture which was stirred at room temperature overnight. Amberlyst 15, (dry) ion-exchange resin was poured to neutralize the reaction mixture which was stirred until observing a color change from yellow to grey. The solution was filtered under vacuum to remove the Amberlyst and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The crude material was purified using silica gel chromatography (EtOAc:EtOH, 10:0 to 9:1) to afford a white solid (7.76 g, 90 %).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.21 (d, $J = 9.3$ Hz, 2H, Ar-H), 7.22 (d, $J = 9.3$ Hz, 2H, Ar-H), 5.44 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H, OH), 5.15 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H, OH), 5.10-5.07 (m, 2H), 4.58 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H, OH), 3.72-3.66 (m, 1H), 3.51-3.38 (m, 2H), 3.31-3.24 (m, 2H), 3.22-3.15 (m, 1H).

4-Aminophenyl- β -D-glucopyranoside **5**¹⁶⁴



Chemical Formula: $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NO}_6$

Molecular Weight: 271,27

In a flask (250 mL), 4-Nitrophenyl- β -D-glucopyranoside **4** (1.5 g, 4.97 mmol, 1 eq) was dissolved in MeOH (150 mL, HPLC grade) and the solution was degassed by argon bubbling for 10 min. Then, palladium on activated carbon (264 mg, 0.25 mmol, 0.05 eq, 10 wt. %) was added and the mixture was purged with H_2 for 10 min. The reaction mixture was stirred at room temperature overnight under hydrogen atmosphere. The solution was filtered on celite under vacuum to remove the catalyst and the filtrate was concentrated in half

¹⁶⁴ Capicciotti, C. J.; Mancini, R. S.; Turner, T. R.; Koyama, T.; Alteen, M. G.; Doshi, M.; Inada, T.; Acker, J. P.; Ben, R. N., *ACS Omega* **2016**, *1*, 656-662.

in vacuo to be filtered two other times. Then, the residue was purified using column chromatography on silica gel (EtOAc:EtOH, 10:0 to 9:1) to give a white solid (875 mg, 64 %).

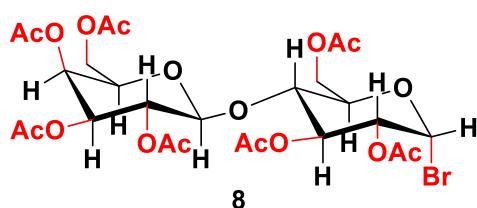
Mp: 155-156 °C.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.76 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, Ar-H), 6.48 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, Ar-H), 5.22 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H, OH-2), 5.04 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H, OH), 4.97 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H, OH), 4.68 (s, 2H, NH₂), 4.58-4.53 (m, 2H, H-1, OH-6), 3.68 (ddd, *J* = 11.6, 5.4, 1.5 Hz, 1H, H-6), 3.49-3.41 (m, 1H, H-6), 3.25-3.08 (m, 4H, H-5, H-4, H-3, H-2).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 148.8, 143.6, 117.7, 114.5, 102.1, 76.9, 76.7, 73.4, 69.9, 60.9.

HRMS (CI⁺) *m/z*: calculated for C₁₂H₁₈NO₆ [M+H]⁺ 272.1128; found 272.1137 (Δ = 3.3 ppm).

2,3,6-tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-α-D-glucopyranosyl bromide **8¹⁶²**



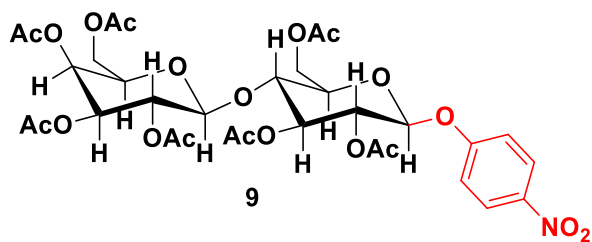
Chemical Formula: C₂₆H₃₅BrO₁₇

Molecular Weight: 699,45

Anhydrous D-lactose **7** (5 g, 14.6 mmol, 1 eq) was dissolved in acetic acid (26 mL). Then, anhydride acetic (14.31 g, 13.23 mL, 0.14 mol, 9.6 eq) and four drops of HClO₄ were added to the solution which was stirred at room temperature during 30 min. The solution became transparent when the peracetylated sugar was synthesized. Acetyl bromide (5.38 g, 3.23 mL, 43.8 mmol, 3 eq) and MeOH (1.59 g, 2.0 mL, 49.6 mmol, 3.4 eq, HPLC grade) were then added and the reaction mixture was stirred for 1.5 h at room temperature in the absence of light. The reaction mixture was poured in cold water and the product was extracted with dichloromethane. The organic phase was washed with a saturated aqueous NaHCO₃ until neutral pH and brine, was dried over anhydrous MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude material was purified by column chromatography on silica gel (PE:EtOAc, 5:5) to afford a white solid (8.03 g, 78 %).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.53 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H, H-1), 5.56 (t, *J* = 9.7 Hz, 1H), 5.36 (dd, *J* = 3.4, 0.9 Hz, 1H), 5.13 (dd, *J* = 10.4, 7.9 Hz, 1H), 4.96 (dd, *J* = 10.4, 3.4 Hz, 1H), 4.76 (dd, *J* = 10.0, 4.1 Hz, 1H), 4.53-4.48 (m, 2H), 4.24-4.05 (m, 4H), 3.91-3.83 (m, 2H), 2.16 (s, 3H, COCH₃), 2.14 (s, 3H, COCH₃), 2.10 (s, 3H, COCH₃), 2.07 (s, 3H, COCH₃), 2.06 (s, 3H, COCH₃), 2.06 (s, 3H, COCH₃), 1.97 (s, 3H, COCH₃).

4-Nitrophenyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-tri-*O*-acetyl- β -D-glucopyranoside **9**¹⁶⁵

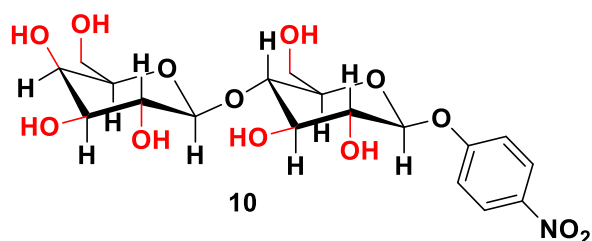


Chemical Formula: $C_{32}H_{39}NO_{20}$
Molecular Weight: 757,65

To a solution of lactose bromide **8** (2 g, 2.85 mmol, 1 eq) in acetonitrile (10 mL, HPLC grade) was added 4-nitrophenol (795 mg, 5.71 mmol, 2 eq), silver carbonate (1.57 g, 5.71 mmol, 2 eq) and 2,6-lutidine (612 mg, 0.66 mL, 5.71 mmol, 2 eq). The reaction mixture was stirred vigorously at room temperature overnight in the absence of light. Then, the green suspension was filtered on celite under vacuum to remove the silver salts and the filtrate was concentrated in half *in vacuo* to be filtered two other times. The crude material was purified using column chromatography on silica gel (PE:EtOAc, 7:3 to 5:5) to afford a white solid (1 g, 46 %).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.20 (d, J = 9.3 Hz, 2H, Ar-H), 7.05 (d, J = 9.3 Hz, 2H, Ar-H), 5.36 (dd, J = 3.4, 1.0 Hz, 1H), 5.33-5.26 (m, 1H), 5.24-5.17 (m, 2H), 5.13 (dd, J = 10.4, 7.8 Hz, 1H), 4.97 (dd, J = 10.4, 3.4 Hz, 1H), 4.54-4.49 (m, 2H), 4.19-4.05 (m, 3H), 3.94-3.81 (m, 3H), 2.16 (s, 3H, COCH₃), 2.09 (s, 3H, COCH₃), 2.07 (s, 6H, 2 X COCH₃), 2.06 (s, 3H, COCH₃), 2.06 (s, 3H, COCH₃), 1.97 (s, 3H, COCH₃).

4-Nitrophenyl- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranose **10**¹⁶⁵



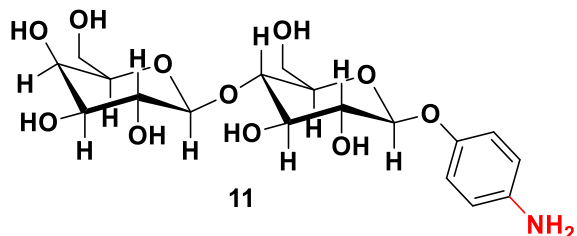
Chemical Formula: $C_{18}H_{25}NO_{13}$
Molecular Weight: 463,39

In a flask (50 mL), 4-Nitrophenyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-lactoside **9** (3.13 g, 4.13 mmol, 1 eq) was suspended in methanol (45 mL, grade HPLC). A solution of sodium methoxide in methanol (2.01 mL, 11.1 mmol, 2.7 eq, 30 wt. %) was added to the mixture which was stirred at room temperature overnight. Amberlyst 15 (dry), ion-exchange resin was poured to neutralize the reaction mixture which was stirred until observing a color change from yellow to grey. Furthermore, a precipitation of a white product was observed. The solution was filtered under vacuum to remove the Amberlyst and get back the desired product as a white solid (1.79 g, 93 %).

¹⁶⁵ Angione, M. D.; Duff, T.; Bell, A. P.; Stamatina, S. N.; Fay, C.; Diamond, D.; Scanlan, E. M.; Colavita, P. E., *ACS Applied Materials & Interfaces* **2015**, 7, 17238-17246.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.21 (d, $J = 9.3$ Hz, 2H, Ar-H), 7.24 (d, $J = 9.3$ Hz, 2H, Ar-H), 5.60 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H, OH), 5.19 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, H-1), 5.11 (d, $J = 4.41$ Hz, 1H, OH), 4.84 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, OH), 4.80 (d, $J = 5.12$ Hz, 1H, OH), 4.69-4.62 (m, 2H, 2 X OH), 4.54 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H, OH), 4.24 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, H-1'), 3.78-3.72 (m, 1H), 3.68-3.63 (m, 3H), 3.57-3.42 (m, 5H), 3.34-3.31 (m, 3H).

4-Aminophenyl- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranose **11**¹⁶⁵



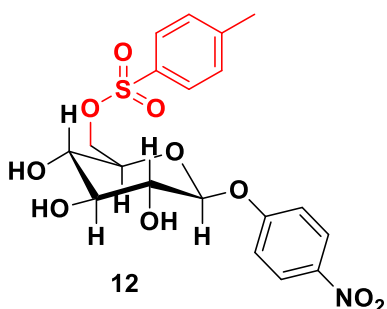
Chemical Formula: $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{NO}_{11}$

Molecular Weight: 433,41

In a flask (20 mL), 4-Nitrophenyl- β -D-lactoside **10** (435 mg, 0.938 mmol, 1 eq) was dissolved in a mixture (1:1, v/v) of ethanol and water and the solution was degassed by argon bubbling for 10 min. Then, palladium hydroxide on carbon (21.7 mg, 28.16 μmol , 0.03 eq, 20 wt. %) was added and the mixture was purged with H_2 for 10 min. The reaction mixture was stirred at room temperature overnight under hydrogen atmosphere. The solution was filtered on celite under vacuum to remove the catalyst and the filtrate was concentrated in half *in vacuo* to be filtered two other times. Finally, the filtrate was concentrated to give a white product (243 mg, 60 %).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 6.76 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, Ar-H), 6.48 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, Ar-H), 5.34 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H, OH), 5.09 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H, OH), 4.79 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H, OH), 4.73-4.64 (m, 5H, 2 X OH, H-1, NH_2), 4.58 (dd, $J = 6.5, 5.7$ Hz, 1H, OH), 4.52 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H, OH), 4.22 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, H-1'), 3.75 (ddd, $J = 10.8, 5.5, 1.1$ Hz, 1H), 3.65-3.58 (m, 2H), 3.56-3.46 (m, 3H), 3.44-3.38 (m, 3H), 3.33-3.30 (m, 2H), 3.25-3.18 (m, 1H).

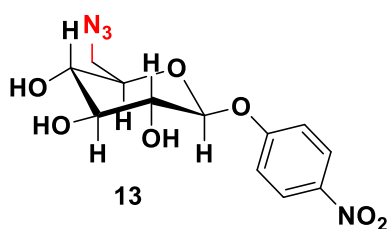
Chapter 3

Ferrocene Unit4-Nitrophenyl-6-O-(4-toluenesulfonyl)- β -D-glucopyranoside **12**¹⁶⁶

Chemical Formula: $C_{19}H_{21}NO_{10}S$
Molecular Weight: 455,43

In a flask (25 mL), 4-Nitrophenyl- β -D-glucopyranoside **4** (3 g, 9.95 mmol, 1 eq), 4-(*N,N*-dimethylamino)pyridine (2.18 g, 17.9 mmol, 1.8 eq), triethylamine (2.01 g, 2.77 mL, 19.9 mmol, 2 eq) and tosyl chloride (4.18 g, 21.9 mmol, 2.2 eq) were suspended in dichloromethane (45 mL, grade HPLC) at 0 °C using an ice bath. The reaction was allowed to stir at room temperature overnight. The crude product was extracted with ethyl acetate, was washed with water and brine, dried over $MgSO_4$ and evaporated under reduced pressure. The crude material was purified using silica gel chromatography (EtOAc:EtOH, 10:0 to 9:1) to afford a white foamy solid (1.76 g, 39 %).

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.17 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H, Ar-H), 7.70 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, Ar-H), 7.31 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.16 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H, Ar-H), 5.51 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H, OH), 5.38 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H, OH), 5.26 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H, OH), 5.12 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H, H-1), 4.26 (dd, *J* = 10.7, 1.5 Hz, 1H, H-6), 4.10 (dd, *J* = 10.8, 6.2 Hz, 1H, H-6), 3.73 (ddd, *J* = 9.6, 6.3, 1.6 Hz, 1H, H-5), 3.3-3.21 (m, 2H), 3.18-3.10 (m, 1H), 2.33 (s, 3H, CH₃).

4-Nitrophenyl-6-azido-6-deoxy- β -D-glucopyranoside **13**¹⁶⁶

Chemical Formula: $C_{12}H_{14}N_4O_7$
Molecular Weight: 326,27

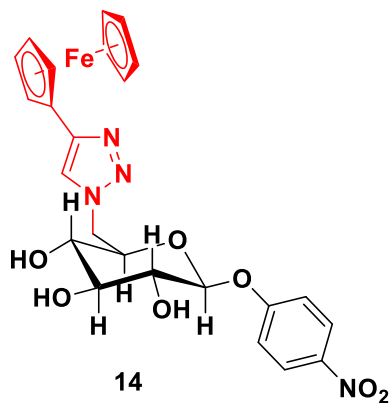
A mixture of 4-Nitrophenyl-6-O-(4-toluenesulfonyl)- β -D-glucopyranoside **12** (3.86 g, 14.4 mmol, 1 eq) and sodium azide (1.25 g, 19.3 mmol, 5 eq) in dry DMF was stirred and heated at 80 °C overnight under argon atmosphere. Then, the reaction mixture was filtered to remove NaN_3 and the filtrate was extracted with ethyl acetate, washed with water and brine, dried over $MgSO_4$ and concentrated *in vacuo*. The crude material was

¹⁶⁶ Codera, V.; Edgar, K. J.; Fajjes, M.; Planas, A., *Biomacromolecules* **2016**, *17*, 1272-1279.

purified by column chromatography on silica gel (EtOAc:EtOH, 10:0 to 9:1) to afford a white solid (861 mg, 68 %).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.21 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H, Ar-H), 7.25 (d, $J = 9.3$ Hz, 2H, Ar-H), 5.54 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H, OH), 5.36 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H, OH), 5.26 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H, OH), 5.22 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, H-1), 3.74-3.68 (m, 1H), 3.51-3.40 (m, 2H), 3.33-3.27 (m, 2H), 3.19-3.11 (m, 1H).

4-Nitrophenyl-6-(4-ferrocenyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy- β -D-glucopyranoside **14**



Chemical Formula: $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{FeN}_4\text{O}_7$

Molecular Weight: 536,32

4-Nitrophenyl-6-azido-6-deoxy- β -D-glucopyranoside **13** (861.3 mg, 2.63 mmol, 1 eq) and ethynylferrocene (609 mg, 2.90 mmol, 1.1 eq) were placed into a Schlenk flask (25 mL) and degassed under vacuum/argon atmosphere five times. A mixture (3:1, v/v) of dry DMF (12 mL) and degassed water (4 mL) was added to the powders. Then, sodium ascorbate (417 mg, 2.11 mmol, 0.8 eq) and copper sulfate pentahydrate (263 mg, 1.05 mmol, 0.4 eq) were introduced into the solution which was stirred at room temperature overnight. A precipitation was observed. A mixture of saturated aqueous NH_4Cl and ethyl acetate was poured into the solution which was stirred and sonicated. The suspension was filtered to get back a red precipitate. The filtrate was extracted with ethyl acetate, was washed with saturated aqueous NH_4Cl and brine, dried over MgSO_4 and concentrated *in vacuo*. The precipitate and the crude material were purified using the same column chromatography on silica gel (EtOAc:EtOH, 10:0 to 9:1) to afford an orange-brown solid (991 mg, 70 %).

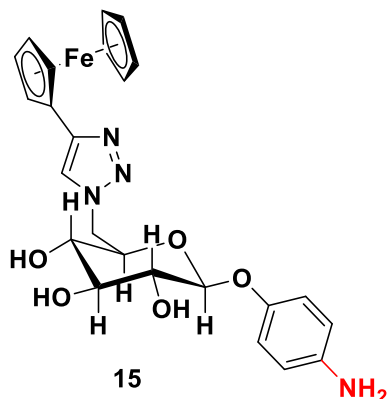
Mp: 210 °C.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 7.99 (d, $J = 9.3$ Hz, 2H, Ar-H), 7.90 (s, 1H, H-triazole), 6.92 (d, $J = 9.3$ Hz, 2H, Ar-H), 5.61 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H, OH-4), 5.57 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H, OH-2), 5.37 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H, OH-3), 5.10 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, H-1), 4.78 (dd, $J = 14.3, 2.1$ Hz, 1H, H-6), 4.68-4.66 (m, 1H, Cp-H), 4.47-4.46 (m, 1H, Cp-H), 4.44-4.35 (m, 1H, H-6), 4.29-4.27 (m, Cp-H), 4.24-4.22 (m, 1H, Cp-H), 4.01-3.96 (m, 1H, H-5), 3.95 (s, 5H, Cp-H), 3.39-3.28 (m, 2H, H-2, H-3), 3.19 (m, 1H, H-4).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 161.9, 145.0, 141.6, 125.5, 121.8, 116.4, 99.3, 76.0, 76.0, 74.4, 72.9, 71.3, 69.1, 68.2 (d, $J = 5.3$ Hz), 66.2, 50.8.

HRMS (FAB $^+$) m/z : calculated for $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{FeN}_4\text{O}_7$ $[\text{M}]^+$ 536.0988; found 536.0993 ($\Delta = 0.9$ ppm).

IR (cm $^{-1}$) ν 3345, 3117, 2881, 1652, 1592, 1513, 1418, 1386, 1339, 1243, 1060, 813, 750, 668, 585, 485.

4-Aminophenyl-6-(4-ferrocenyl-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy- β -D-glucopyranoside **15**

Chemical Formula: $C_{24}H_{26}FeN_4O_5$
Molecular Weight: 506,34

In a flask (50 mL), nitrophenyl derivative **14** (900 mg, 1.67 mmol, 1 eq) was suspended in ethyl acetate (40 mL). Then, tin (II) chloride dihydrate (1.89 g, 8.39 mmol, 5 eq) was added to the mixture which was stirred and was refluxed overnight. Saturated aqueous $NaHCO_3$ was poured into the solution at room temperature to come back to the desired product. During the addition of $NaHCO_3$, a precipitation was observed and the suspension was filtered under vacuum to remove the precipitate. Then, the filtrate was extracted with ethyl acetate, was washed with saturated aqueous $NaHCO_3$ and brine, was dried over $MgSO_4$ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel chromatography (EtOAc:EtOH, 10:0 to 9:1) to afford an orange solid (363 mg, 42 %).

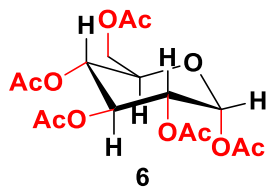
Mp: 199-200 °C.

1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 7.95 (s, 1H, H-triazole), 6.56 (d, J = 8.7 Hz, 2H, Ar-H), 6.38 (d, J = 8.7 Hz, 2H, Ar-H), 5.47 (d, J = 5.5 Hz, 1H, OH-4), 5.33 (d, J = 5.1 Hz, 1H, OH-2), 5.21 (d, J = 4.9 Hz, 1H, OH-3), 4.75 (dd, J = 14.3, 1.8 Hz, 2H, H-6), 4.71 (s, 2H, NH_2), 4.68-4.66 (m, 1H, Cp-H), 4.64-4.61 (m, 1H, Cp-H), 4.55 (d, J = 7.7 Hz, 1H, H-1), 4.40 (dd, J = 14.3, 8.8 Hz, 1H, H-6), 4.30-4.29 (m, 2H, Cp-H), 4.00 (s, 5H, Cp-H), 3.72 (td, J = 9.1 Hz, 1.7 Hz, 1H, H-5), 3.32-3.26 (m, 1H, H-3), 3.22-3.07 (m, 2H, H-2, H-4).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ 148.4, 145.1, 143.8, 121.5, 118.0, 114.4, 102.3, 76.1, 76.0, 74.3, 73.2, 71.3, 69.2, 68.2 (d, J = 3.3 Hz), 66.4 (d, J = 6.6 Hz), 50.9.

HRMS (EI) m/z : calculated for $C_{24}H_{26}FeN_4O_5$ $[M]^+$ 506.1247; found 506.1258 (Δ = 2.2 ppm).

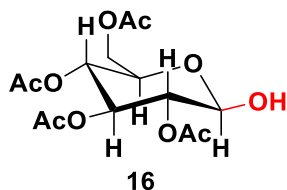
IR (cm^{-1}) ν 3334, 3130, 2877, 1624, 1508, 1388, 1220, 1063, 821, 609, 506, 486.

α -D-glucosepentacetate **6**¹⁶⁷

Chemical Formula: $C_{16}H_{22}O_{11}$
Molecular Weight: 390,34

Anhydrous D-glucose **1** (5 g, 0.027 mol, 1 eq) and DMAP (0.46 g, 3.78 mmol, 0.14 eq) were dissolved in pyridine (40 mL) and cooled to 0 °C using an ice bath. Acetic anhydride (18.9 g, 17.4 mL, 0.185 mol, 6.8 eq) was added dropwise to the solution. The mixture was allowed to stir at room temperature overnight. After completion of the reaction, the mixture was poured in ice water with vigorous stirring. The residue was extracted with ethyl acetate, then was washed with saturated aqueous solution $NaHCO_3$ until pH = 7, with brine and was concentrated *in vacuo*. The crude material was purified using column chromatography on silica gel (PE:EtOAc, 7:3) to give a white product (9.4 g, 86 %).

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6.33 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 5.47 (t, J = 9.9 Hz, 1H), 5.18-5.08 (m, 2H), 4.27 (dd, J = 12.4, 4.1 Hz, 1H), 4.15-4.07 (m, 2H), 2.18 (s, 3H, $COCH_3$), 2.09 (s, 3H, $COCH_3$), 2.04 (s, 3H, $COCH_3$), 2.03 (s, 3H, $COCH_3$), 2.02 (s, 3H, $COCH_3$).

2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose **16**¹⁶⁸

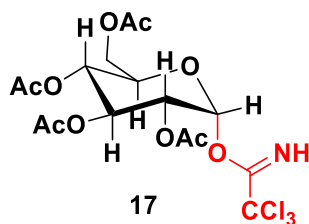
Chemical Formula: $C_{14}H_{20}O_{10}$
Molecular Weight: 348,30

To a solution of α -D-glucosepentacetate **6** (5.02 mmol, 1 eq) in dry DMF (60 mL) was added hydrazine acetate (5.53 mmol, 1.1 eq). After stirring for 2 h at 40 °C, the mixture was concentrated and the residue was diluted with ethyl acetate, was washed with cold brine and was concentrated again to yield colorless oil (100 %). Spectral data were consistent with the results reported in the literature.

1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 5.53 (td, J = 9.8, 1.5 Hz, 1H), 5.46 (t, J = 3.7 Hz, 1H), 5.12-5.04 (m, 1H), 4.94-4.83 (m, 1H), 4.29-4.20 (m, 2H), 4.17-4.08 (m, 1H), 2.93-2.89 (m, 1H), 2.09 (d, J = 10 Hz, 6H), 2.02 (d, J = 10.7 Hz, 6H).

¹⁶⁷ Huang, G.; Gao, H.; Yi, C.; Ai, Y.; Huang, D., *Pharmaceutical Chemistry Journal* **2017**, *51*, 111-114.

¹⁶⁸ Wu, L.; Sampson, N. S., *ACS Chemical Biology* **2014**, *9*, 468-475.

2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosyl trichloroacetimidate **17¹⁶⁹****Chemical Formula:** C₁₆H₂₀Cl₃NO₁₀**Molecular Weight:** 492,68

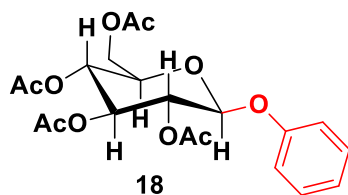
2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose oil **16** (16.05 g, 46 mmol, 1 eq) was dissolved in dichloromethane (75 ml, HPLC grade) and was cooled to 0 °C using an ice bath. Cl₃CCN (46.11 ml, 230 mmol, 5 eq) was added to the reaction dropwise using a syringe, followed by the addition of DBU (0.68 ml, 0.1 eq). After two hours of stirring, the solution was allowed to warm to room temperature. The solvent was removed under reduce pressure. The crude mixture was purified on silica gel chromatography (DCM:Et₂O, 1:1) to afford yellow viscous oil (20.37 g, 90 %). Spectral data were consistent with the results reported in the literature.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.70 (s, 1H, NH), 6.57 (d, J = 3.7 Hz, 1H, H-1), 5.57 (t, J = 9.9 Hz, 1H, H-3), 5.18 (t, J = 9.9 Hz, 1H, H-4), 5.14 (dd, J = 9.9, 3.7 Hz, 1H, H-2), 4.28 (dd, J = 12.4, 4.2 Hz, 1H, H-6), 4.22 (ddd, J = 9.9 Hz, J = 4.2 Hz, 2.1 Hz, 1H, H-5), 4.14 (dd, J = 12.4, 2.1 Hz, 1H, H-6), 2.08 (s, 3H, COCH₃), 2.05 (s, 3H, COCH₃), 2.03 (s, 3H, COCH₃), 2.02 (s, 3H, COCH₃).

General procedure for the glycosylation (18**, **19**)**

A mixture of 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosyl trichloroacetimidate **17** (0.2 mmol, 1 eq) and acceptor group (0.17 mmol, 0.85 eq) in dichloromethane (5 mL, HPLC grade) was stirred under argon atmosphere at 0 °C for 10 min. Then, BF₃.Et₂O (0.02 mmol, 0.1 eq) was added through a syringe and the stirring continued for 3 h. Triethylamine (1 mL) was then added and the resulting mixture was filtered through celite. The filtrate was concentrated and the residue was purified by silica gel column chromatography with dichloromethane to give the desired product. Spectral data were consistent with the results reported in the literature.

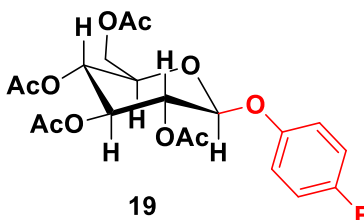
¹⁶⁹ Pilgrim, W.; Murphy, P. V., *The Journal of Organic Chemistry* **2010**, *75*, 6747-6755.

Phenyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranoside **18**¹⁷⁰Chemical Formula: $C_{20}H_{24}O_{10}$

Molecular Weight: 424,40

Yield: 63 %.

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.32-7.29 (m, 2H, Ar-H), 7.09-7.06 (m, 2H, Ar-H), 7.00-6.98 (m, 1H, Ar-H), 5.33-5.26 (m, 2H), 5.17 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H), 5.08 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, H-1), 4.18 (dd, $J = 12.0, 2.2$ Hz, 1H, H-6), 4.18 (dd, $J = 12.2, 5.2$ Hz, 1H, H-6), 3.86 (ddd, $J = 9.7, 5.3, 2.2$ Hz, 1H, H-5), 2.08 (s, 3H, $COCH_3$), 2.07 (s, 3H, $COCH_3$), 2.05 (s, 3H, $COCH_3$), 2.04 (s, 3H, $COCH_3$).

4-Fluorophenyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranoside **19**¹⁷¹Chemical Formula: $C_{20}H_{23}FO_{10}$

Molecular Weight: 442,39

Yield: 77 %.

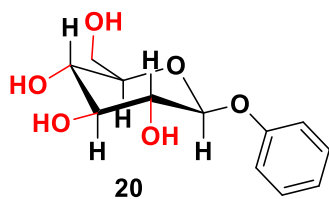
1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.10-7.08 (m, 2H, Ar-H), 6.91-6.88 (m, 2H, Ar-H), 5.30-5.25 (m, 2H), 5.16 (t, $J = 9.7$ Hz, 1H), 5.03-5.01 (m, 1H), 4.29 (dd, $J = 12.2, 5.2$ Hz, 1H), 4.17 (dd, $J = 12.2, 2.5$ Hz, 1H), 3.83 (ddd, $J = 10.0, 5.3, 2.5$ Hz, 1H), 2.08 (s, 3H, $COCH_3$), 2.06 (s, 3H, $COCH_3$), 2.04 (s, 3H, $COCH_3$), 2.03 (s, 3H, $COCH_3$).

General procedure for the deprotection (**20**, **21**)

To a solution of 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranoside (39.6 mmol, 1 eq) in methanol (150 mL, HPLC grade), sodium methoxide (3.96 mmol, 0.1 eq) was added and the reaction mixture was stirred for 1 h at room temperature. Then, the solution was neutralized by the addition of Amberlite IR 120H ion exchange resin[®]. The mixture was filtered and concentrated *in vacuo* to give a white solid which was used directly for the next step. Spectral data were consistent with the results reported in the literature.

¹⁷⁰ Cocinero, E. J.; Gamblin, D. P.; Davis, B. G.; Simons, J. P., *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 11117-11123.

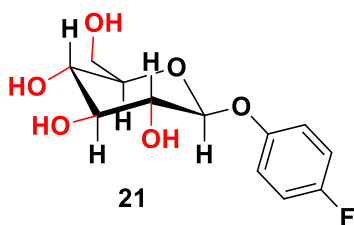
¹⁷¹ Capicciotti, C. J.; Kurach, J. D. R.; Turner, T. R.; Mancini, R. S.; Acker, J. P.; Ben, R. N., *Scientific Reports* **2015**, *5*, 9692.

Phenyl- β -D-glucopyranoside 20¹⁷⁰Chemical Formula: C₁₂H₁₆O₆

Molecular Weight: 256,25

Yield: 96 %.

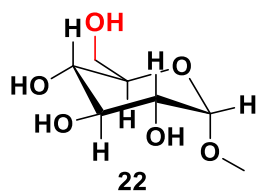
¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.32-7.28 (m, 2H, Ar-H), 7.12-7.09 (m, 2H, Ar-H), 7.03-6.99 (m, 1H, Ar-H), 4.91 (d, J = 10.1 Hz, 1H, H-1), 3.91 (dd, J = 12.1, 2.2 Hz, 1H, H-6), 3.72 (dd, J = 12.1, 5.3 Hz, 1H, H-6), 3.49-3.39 (m, 4H, H-2, H-3, H-4, H-5).

4-Fluorophenyl- β -D-glucopyranoside 21¹⁷²Chemical Formula: C₁₂H₁₅FO₆

Molecular Weight: 274,24

Yield: 98 %.

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 7.15-7.09 (m, 4H, Ar-H), 5.06 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 3.93 (dd, J = 12.4, 2.3 Hz, 1H), 3.75 (dd, J = 12.4, 5.6 Hz, 1H), 3.63-3.53 (m, 3H), 3.52-3.47 (m, 1H).

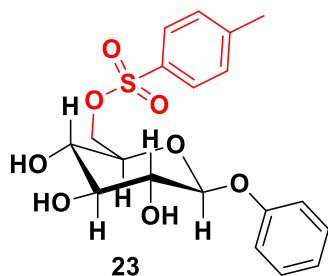
Methyl- α -D-glucopyranoside 22 (commercial)Chemical Formula: C₇H₁₄O₆

Molecular Weight: 194,18

¹⁷² Gantt, R. W.; Peltier-Pain, P.; Cournoyer, W. J.; Thorson, J. S., *Nature Chemical Biology* **2011**, 7, 685-691.

General procedure for the 6-*O*-(4-toluenesulfonyl)-D-glucopyranoside 23, 24, 25

In a flask (50 mL), D-glucopyranoside (10.4 mmol, 1 eq) was dissolved in dry pyridine (26 mL) and the solution was cooled to 0 °C using an ice bath. Then, tosyl chloride (13.6 mmol, 1.3 eq) was added to the mixture at 0 °C. Once the addition is finished, the reaction mixture was allowed to warm at room temperature and stirred overnight. The residue was extracted with ethyl acetate, was washed with water and brine, dried over MgSO₄ and evaporated under reduced pressure. The crude material was purified using a column chromatography on silica gel to afford the desired product. Spectral data were consistent with the results reported in the literature.

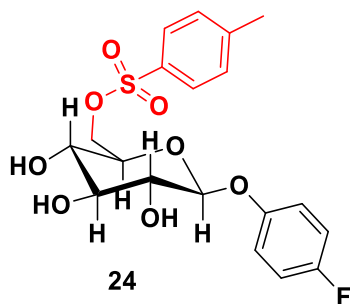
Phenyl-6-*O*-(4-toluenesulfonyl)-β-D-glucopyranoside 23¹⁷³

Chemical Formula: C₁₉H₂₂O₈S

Molecular Weight: 410,44

Yield: 41 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.71-6.96 (m, 9H, Ar-H), 5.40 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H, H-1), 5.30 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H, H-2), 5.20 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H, H-6), 4.90 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, H-6), 4.30 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H, H-4), 4.04 (dd, *J* = 10.5, 5.5 Hz, 1H, H-5), 3.60 (m, 1H, H-3), 2.36 (s, 3H, CH₃).

4-Fluorophenyl-6-*O*-(4-toluenesulfonyl)-β-D-glucopyranoside 24

Chemical Formula: C₁₉H₂₁FO₈S

Molecular Weight: 428,43

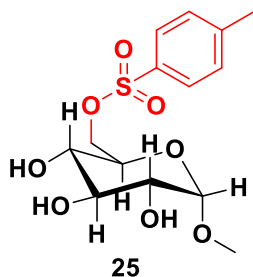
Yield: 16 %.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.72 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.35 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.10 (dd, *J* = 8.6, 8.5 Hz, 2H, ArF-H), 7.00 (dd, *J* = 8.6, 4.6 Hz, 2H, ArF-H), 6.96 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H, OH), 5.43 (d, *J* = 6.2 Hz, 1H),

¹⁷³ Wang, L.; Li, Y.-M.; Yip, C.-w.; Qiu, L.; Zhou, Z.; Chan, A. S. C., *Advanced Synthesis & Catalysis* **2004**, 346, 947-953.

5.33 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H, OH), 5.21 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H, OH), 4.82 (m, 1H), 4.24 (m, 1H), 4.08 (m, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.16 (m, 2H), 2.37 (s, 3H, CH₃).

Methyl-6-*O*-(4-toluenesulfonyl)- α -D-glucopyranoside 25¹⁷⁴



Chemical Formula: C₁₄H₂₀O₈S

Molecular Weight: 348,37

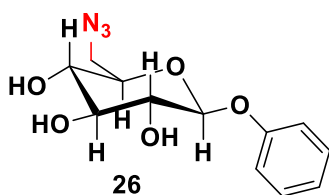
Yield: 76 %.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.78 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, Ar-H), 7.49 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, Ar-H), 5.21 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H, OH-3), 4.95 (d, $J = 4.9$ Hz, OH-4), 4.85 (d, $J = 6.2$ Hz, 1H, OH-2), 4.48 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, H-1), 4.22 (dd, $J = 10.6$, 1.7 Hz, H-6), 4.06 (dd, $J = 10.6$, 6.4 Hz, 1H, H-6), 3.49 (ddd, $J = 8.1$, 6.4, 1.4 Hz, 1H, H-5), 3.33 (m, 1H, H-4), 3.20 (s, 3H, OCH₃), 3.15 (ddd, $J = 9.8$, 6.2, 3.6 Hz, 1H, H-2), 3.00 (ddd, $J = 9.8$, 8.7, 5.6 Hz, 1H, H-3), 2.43 (s, 3H, CH₃).

General procedure for the 6-azido-6-deoxy-D-glucopyranoside 26, 27, 28

To a solution of 6-*O*-(4-toluenesulfonyl)-D-glucopyranoside derivative (1.96 mmol, 1 eq) in dry DMF (7 mL) was added sodium azide (7.86 mmol, 4 eq). A color change from transparent to yellow was observed. The reaction mixture was heated to 70 °C and stirred overnight. The crude product was extracted with ethyl acetate, was washed with water and brine, was dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel chromatography to give a white solid.

Phenyl-6-azido-6-deoxy- β -D-glucopyranoside 26



Chemical Formula: C₁₂H₁₅N₃O₅

Molecular Weight: 281,27

Yield: 68 %.

Mp: 98-99 °C.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.30 (m, 2H, Ar-H), 7.06-6.97 (m, 3H, Ar-H), 5.42 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H, OH-2), 5.31 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H, OH-4), 5.21 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H, OH-3), 4.95 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, H-1), 3.62-3.56 (m, 1H, H-

¹⁷⁴ Bazito, R. C.; Cássio, F. L.; Quina, F. H., *Macromolecular Symposia* **2005**, *229*, 197-202.

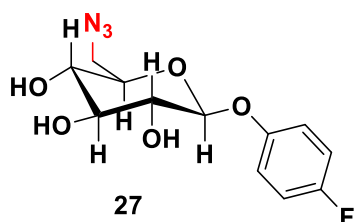
5), 3.49 (dd, $J = 13.2, 2.5$ Hz, 1H, H-6), 3.42 (dd, $J = 13.2, 6.8$ Hz, 1H, H-6), 3.33-3.23 (m, 2H, H-2, H-3), 3.18-3.10 (m, 1H, H-4).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ 157.2, 129.4, 122.0, 116.3, 100.2, 76.1, 75.1, 73.2, 70.6, 51.4.

HRMS (FAB $^-$) m/z : calculated for $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_5$ [M-H] $^-$ 280.0938; found 280.0930 ($\Delta = 2.9$ ppm).

IR (cm^{-1}) ν 3464, 2885, 2092, 1590, 1491, 1220, 1064, 752.

4-Fluorophenyl-6-azido-6-deoxy- β -D-glucopyranoside 27



Chemical Formula: $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{FN}_3\text{O}_5$
Molecular Weight: 299,26

Yield: 98 %.

Mp: 130-131 °C.

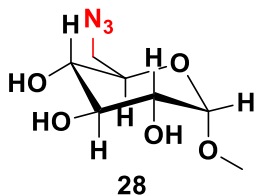
^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.12 (t, $J = 8.8$ Hz, 2H, Ar-H), 7.07-7.04 (m, 2H, Ar-H), 5.42 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H, OH-2), 5.30 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H, OH-4), 5.20 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H, OH-3), 4.91 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, H-1), 3.60-3.56 (m, 1H, H-5), 3.48 (dd, $J = 13.2, 2.3$ Hz, 1H, H-6), 3.43 (dd, $J = 13.3, 6.9$ Hz, 1H, H-6), 3.31-3.23 (m, 2H, H-2, H-3), 3.16-3.11 (m, 1H, H-4).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ 157.4 (d, $J = 237.1$ Hz), 153.5 (d, $J = 2.1$ Hz), 118.0 (d, $J = 8.2$ Hz), 115.8 (d, $J = 23.0$ Hz), 100.8, 76.0, 75.2, 73.2, 70.6, 51.4.

HRMS (FAB $^-$) m/z : calculated for $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{FN}_3\text{O}_5$ [M-H] $^-$ 298.0844; found 298.0837 ($\Delta = 2.3$ ppm).

IR (cm^{-1}) ν 3378, 2093, 1503, 1403, 1368, 1203, 1055, 993, 826, 766.

Methyl-6-azido-6-deoxy- α -D-glucopyranoside 28¹⁷⁵

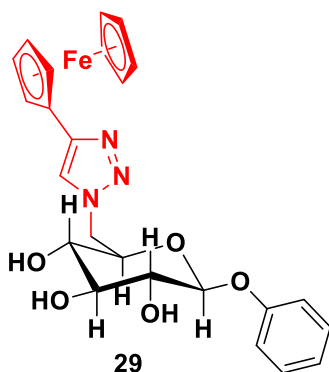


Chemical Formula: $\text{C}_7\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_5$
Molecular Weight: 219,20

¹⁷⁵ Hanessian, S., *The Journal of Organic Chemistry* 1969, 34, 675-681.

General procedure for the click chemistry (29, 30, 31)

In a flask (25 mL), 6-azido-6-deoxy-D-glucopyranoside derivative (3.80 mmol, 1 eq) and ethynylferrocene (4.18 mmol, 1.1 eq) were dissolved in a mixture (3:1, v/v) of dry DMF (15 mL) and water (5 mL). Then, sodium ascorbate (3.04 mmol, 0.8 eq) and copper sulfate pentahydrate (1.52 mmol, 0.4 eq) were added to the reaction mixture which was allowed to stir at room temperature overnight. The formation of a red precipitate was observed. Saturated aqueous NH₄Cl and ethyl acetate were poured into the mixture which was stirred and sonicated. The suspension was filtered under vacuum to get back the precipitate and the filtrate was extracted with ethyl acetate, was washed with saturated aqueous NH₄Cl and brine, was dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The precipitate and the crude material were purified using the same column chromatography on silica gel (EtOAc:EtOH, 100:0 to 95:5) to get the desired product.

Phenyl-6-(4-ferrocenyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy-β-D-glucopyranoside 29

Chemical Formula: C₂₄H₂₅FeN₃O₅

Molecular Weight: 491,33

Yield: 17 %.

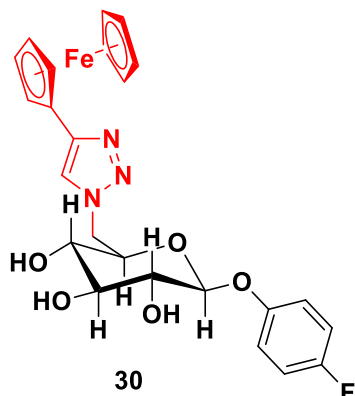
Mp: 166-167 °C.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.95 (s, 1H, H-triazole), 7.12 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H, Ar-H), 6.92 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, Ar-H), 6.76 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, Ar-H), 5.52 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H, OH-4), 5.40 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H, OH-2), 5.26 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H, OH-3), 4.82 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, H-1), 4.78 (dd, *J* = 14.3, 2.0 Hz, 1H, H-6), 4.68-4.67 (m, 1H, Cp-H), 5.57-4.55 (m, 1H, Cp-H), 4.41 (dd, *J* = 14.3, 9.0 Hz, 1H, H-6), 4.31-2.27 (m, 2H, Cp-H), 3.98 (s, 5H, Cp-H), 3.86 (td, *J* = 9.4, 1.9 Hz, 1H, H-5), 3.31-3.22 (m, 2H, H-2, H-3), 3.19-3.11 (m, 1H, H-4).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 157.1, 145.0, 129.2, 121.9, 121.5, 116.2, 100.3, 76.1, 76.1, 74.3, 73.1, 71.3, 69.2, 68.1 (d, *J* = 2.2 Hz), 66.3 (d, *J* = 6.5 Hz), 50.9.

HRMS (EI) *m/z*: calculated for C₂₄H₂₅FeN₃O₅ [M]⁺ 491.1138; found 491.1137 (Δ = 0.2 ppm).

IR (cm⁻¹) ν 3292, 1232, 1108, 1062, 1026, 1000, 817, 749.

4-Fluorophenyl-6-(4-ferrocenyl-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy- β -D-glucopyranoside 30

Chemical Formula: $C_{24}H_{24}FFeN_3O_5$
Molecular Weight: 509,32

Yield: 55 %.

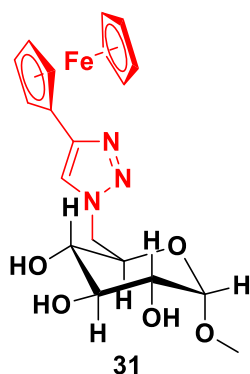
Mp: 209-211 °C.

1H NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$) δ 7.95 (s, 1H, H-triazole), 6.90 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H, Ar-H), 6.79-6.74 (m, 2H, Ar-H), 5.54 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H, OH-4), 5.44 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H, OH-2), 5.29 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H, OH-3), 4.78-4.74 (m, 2H, H-1, H-6), 4.68 (s, 1H, Cp-H), 4.57 (s, 1H, Cp-H), 4.40 (dd, $J = 13.6, 9.2$ Hz, 1H, H-6), 4.30 (s, 2H, Cp-H), 3.98 (s, 5H, Cp-H), 3.83 (t, $J = 8.6$ Hz, 1H, H-5), 3.35-3.23 (m, 2H, H-2, H-3), 3.20-3.11 (m, 1H, H-4).

^{13}C NMR (75 MHz, $DMSO-d_6$) δ 157.2 (d, $J = 237.6$ Hz), 153.3 (d, $J = 2.1$ Hz), 145.0, 121.7, 117.9 (d, $J = 8.2$ Hz), 115.6 (d, $J = 22.9$ Hz), 100.8, 76.1, 76.1, 74.3, 73.1, 71.3, 69.2, 68.2 (d, $J = 1.7$ Hz), 66.3 (d, $J = 1.9$ Hz), 50.9.

HRMS (FAB⁺) m/z : calculated for $C_{24}H_{24}FFeN_3O_5$ [M]⁺ 509.1043; found 509.1046 ($\Delta = 0.6$ ppm).

IR (cm⁻¹) ν 3297, 1506, 1202, 1169, 1106, 1061, 1033, 990.

Methyl-6-(4-ferrocenyl-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy- α -D-glucopyranoside 31

Chemical Formula: $C_{19}H_{23}FeN_3O_5$
Molecular Weight: 429,25

Yield: 50 %.

Mp: 219-220 °C.

Partie expérimentale

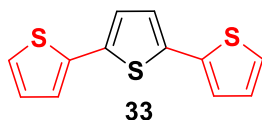
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.12 (s, 1H, H-triazole), 5.39 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H, OH-4), 4.97 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H, OH-3), 4.86 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H, OH-2), 4.74 (s, 2H, Cp-H), 4.71 (dd, *J* = 14.1, 2.1 Hz, 1H, H-6), 4.53 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H, H-1), 4.37 (dd, *J* = 14.1, 9.0 Hz, 1H, H-6), 4.29 (s, 2H, Cp-H), 4.00 (s, 5H, Cp-H), 3.72 (m, 1H, H-5), 3.46-3.40 (m, 1H, H-3), 3.25-3.16 (m, 1H, H-2), 3.06-2.99 (m, 1H, H-4), 3.02 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 145.1, 121.3, 99.7, 76.1, 73.1, 71.8, 71.7, 70.6, 69.2, 68.3, 66.2, 54.1, 51.0.

HRMS (CI⁺) *m/z*: calculated for C₁₉H₂₃FeN₃O₅ [M]⁺ 429.0981; found 429.0988 (Δ = 1.6 ppm).

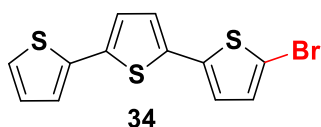
IR (cm⁻¹) ν 3289, 2914, 1444, 1348, 1145, 1107, 1049, 1028, 990, 890, 807.

Chapter 4

Terthiophene Unit2,2':5',2''-terthiophene **33**¹⁷⁶**Chemical Formula:** C₁₂H₈S₃**Molecular Weight:** 248,38

Magnesium (2.16 g, 89.2 mmol, 3.6 eq) was degassed under vacuum/argon atmosphere five times in a three-neck round bottom flask (250 mL). Then, dry THF (10 mL) was added to cover the powder and some drops of 2-bromothiophene **32** were introduced to the mixture via the dropping funnel. To start the reaction, the mixture was heated and sometimes stirred. Then, 2-bromothiophene **32** (12.13 g, 7.20 mL, 74.4 mmol, 3 eq) placed in the dropping funnel was diluted in THF (60 mL) and was added dropwise to the mixture which started to bubble and heat. Once the addition was finished, the solution mixture could be stirred vigorously at room temperature for 1 h under argon atmosphere. The solution was cooled to 0 °C using an ice bath, then 2,5-dibromothiophene (6 g, 2.79 mL, 24.8 mmol, 1 eq) and Pd(dppf)Cl₂ (181 mg, 0.25 mmol, 0.01 eq) were added slowly to the reaction mixture. The solution was allowed to stir at room temperature for 2 h then, the reaction was refluxed and stirred overnight under argon atmosphere. The mixture was quenched by water (50 mL) and hydrochloric acid (6 M) until reaching a neutral solution. The crude product was extracted with dichloromethane, was washed with water and brine, dried over MgSO₄ and evaporated to dryness. The residue was purified by silica gel column chromatography with cyclohexane as eluent to give a light green solid (3.43 g, 56 %).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.22 (dd, *J* = 5.1, 1.2 Hz, 2H), 7.18 (dd, *J* = 3.6, 1.2 Hz, 2H), 7.08 (s, 2H), 7.02 (dd, *J* = 5.1, 3.6 Hz, 2H).

5-Bromo-2,2':5',2''-terthiophene **34**¹⁷⁷**Chemical Formula:** C₁₂H₇BrS₃**Molecular Weight:** 327,27

In a Schlenk flask (100 mL), 2,2':5',2''-terthiophene **33** (4 g, 16.1 mmol, 1 eq) was dissolved in dry DMF (60 mL) under argon atmosphere. In parallel, a solution of *N*-bromosuccinimide (2.86 g, 16.1 mmol, 1 eq, NBS) in dry DMF (10 mL) was prepared and was introduced to the reaction mixture which was stirred at room temperature overnight in the absence of light under argon atmosphere. The product started to precipitate then, water was added to quench the reaction and a total precipitation was observed. The suspension was filtered under vacuum to get back the solid which was rinsed with water and was dried on vacuum. According to TLC, the yellow-green solid (4.73 g) contained mono-bromide terthiophene (majority), terthiophene and

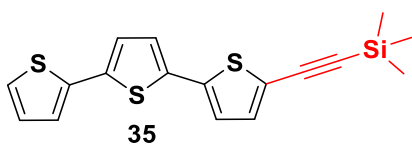
¹⁷⁶ Li, Z. H.; Wong, M. S.; Fukutani, H.; Tao, Y., *Chemistry of Materials* **2005**, *17*, 5032-5040.

¹⁷⁷ Zuo, Z.; Sun, H.; Li, X., *Chinese Journal of Chemistry* **2012**, *30*, 2401-2410.

di-bromide terthiophene (minority). It was impossible to separate these products by column chromatography on silica gel with cyclohexane as eluent. So, this solid (4.27 g) collected after column was used for the next reaction without any other purification. The solid can be re-crystallized in diethyl ether to remove terthiophene but not completely.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.23 (dd, $J = 5.1, 1.1$ Hz, 1H), 7.17 (dd, $J = 3.6, 1.1$ Hz, 1H), 7.07 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 7.02 (dd, $J = 5.1, 3.6$ Hz, 1H), 7.01 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H).

5-(trimethylsilylethynyl)-2,2':5',2''-terthiophene **35**¹⁷⁸



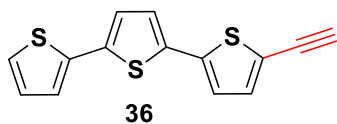
Chemical Formula: $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{S}_3\text{Si}$

Molecular Weight: 344,58

5-Bromo-2,2':5',2''-terthiophene **34** (790 mg, 2.41 mmol, 1 eq), CuI (27 mg, 0.14 mmol, 0.06 eq) and Pd(PPh_3) $_2\text{Cl}_2$ (51 mg, 0.07 mmol, 0.03 eq) were introduced into a Schlenk flask (50 mL) and degassed under vacuum/argon atmosphere five times. A mixture (4:1, v/v) of dry THF (24 mL) and Et_3N (6 mL, previously degassed by argon bubbling for 15 min) were added to the powders. Finally, ethynyltrimethylsilane (569 mg, 0.8 mL, 5.79 mmol, 2.4 eq) was introduced to the mixture and the reaction was stirred overnight and heated at 65 °C under argon atmosphere. The solvent was removed by evaporation under vacuum to give a brown residue. The crude material was purified by column chromatography on silica gel with cyclohexane as eluent to afford a yellow solid (500 mg, 60 %).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.23 (dd, $J = 5.1, 1.1$ Hz, 1H), 7.18 (dd, $J = 3.6, 1.1$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 7.07 (s, 2H), 7.02 (dd, $J = 5.1, 3.6$ Hz, 1H), 7.00 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 0.25 (s, 9H, TMS).

5-ethynyl-2,2':5',2''-terthiophene **36**¹⁷⁸



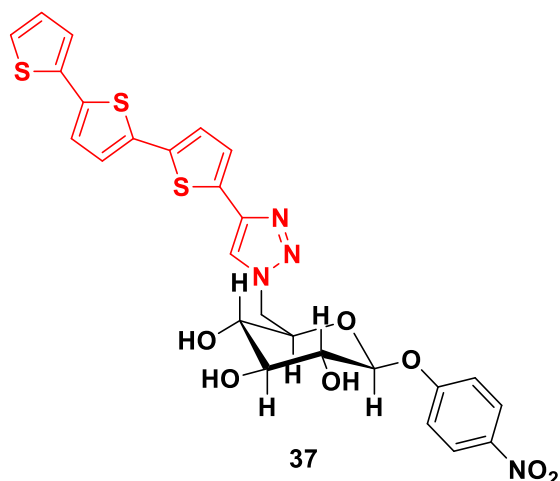
Chemical Formula: $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{S}_3$

Molecular Weight: 272,40

5-(trimethylsilylethynyl)-2,2':5',2''-terthiophene **35** (2 g, 5.80 mmol, 1 eq) and K_2CO_3 (882 mg, 6.38 mmol, 1.1 eq) were placed into a Schlenk tube under argon atmosphere. Then, a mixture (3:1, v/v) of dry THF (60 mL) and MeOH (20 mL, HPLC grade, previously degassed by argon bubbling for 10 min) was added to the powders and the solution was stirred for 1 h at room temperature. K_2CO_3 was removed by filtration and the solvent was evaporated *in vacuo*. The crude material was purified using a short plug of silica gel with cyclohexane to afford a yellow solid (1.43 g, 90 %).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.24 (dd, $J = 5.1, 1.1$ Hz, 1H), 7.18 (dd, $J = 3.6, 1.2$ Hz, 1H), 7.18 (dd, $J = 3.8, 0.2$ Hz, 1H), 7.10 – 7.07 (m, 2H), 7.03 (dd, $J = 5.1, 3.6$ Hz, 1H), 7.02 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 3.41 (s, 1H, H-alkyne).

¹⁷⁸ Zhao, X.; Piliago, C.; Kim, B.; Poulsen, D. A.; Ma, B.; Unruh, D. A.; Fréchet, J. M. J., *Chemistry of Materials* **2010**, *22*, 2325-2332.

4-Nitrophenyl-6-(4-(2,2':5',2''-terthiophene)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy-β-D-glucopyranoside
37


Chemical Formula: C₂₆H₂₂N₄O₇S₃
Molecular Weight: 598,66

In a flask (25 mL), 4-Nitrophenyl-6-azido-6-deoxy-β-D-glucopyranoside **13** (390 mg, 1.19 mmol, 1 eq) and 5-ethynyl-2,2':5',2''-terthiophene **36** (358 mg, 1.31 mmol, 1.1 eq) were dissolved in a mixture (3:1, v/v) of dry DMF (8 mL) and water (2.6 mL). Then, sodium ascorbate (190 mg, 0.95 mmol, 0.8 eq) and copper sulfate pentahydrate (119 mg, 0.48 mmol, 0.4 eq) were added to the reaction mixture which was stirred at room temperature overnight. A precipitation was observed. Saturated aqueous NH₄Cl and ethyl acetate were poured into the mixture which was stirred and sonicated. The suspension was filtered under vacuum to get back the precipitate and the filtrate was extracted with ethyl acetate, was washed with saturated aqueous NH₄Cl and brine, was dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The precipitate and the crude material were purified using the same column chromatography on silica gel (EtOAc:EtOH, 100:0 to 95:5) to get a yellow-brown solid (215 mg, 30 %).

Mp: 283-284 °C.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.22 (s, 1H, H-triazole), 7.91 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H, Ar-H), 7.55 (dd, *J* = 5.1, 1.1 Hz, 1H, T₃), 7.37 (dd, *J* = 3.6, 1.1 Hz, 1H, T₃), 7.30 (s, 2H, T₃), 7.25 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, T₃), 7.18 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, T₃), 7.12 (dd, *J* = 5.1, 3.6 Hz, 1H, T₃), 6.87 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H, Ar-H), 5.64 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H, OH-4), 5.58 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H, OH-2), 5.37 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H, OH-3), 5.09 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, H-1), 4.86 (dd, *J* = 14.3, 2.1 Hz, 1H, H-6), 4.42 (dd, *J* = 14.3, 9.7 Hz, 1H, H-6), 3.93 (td, *J* = 9.6, 2.1 Hz, 1H, H-5), 3.38-3.30 (m, 2H, H-2, H-3), 3.26-3.18 (m, H-4).

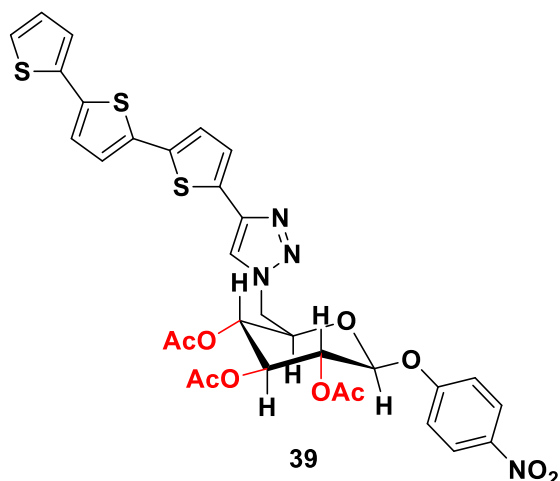
¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 161.6, 141.5, 141.0, 136.0, 135.4, 135.0, 134.9, 132.0, 128.5, 125.8, 125.3, 125.0, 125.0, 124.8, 124.7, 124.3, 122.1, 116.3, 99.0, 76.1, 74.4, 72.9, 71.3, 51.2.

HRMS (FAB⁺) *m/z*: calculated for C₂₆H₂₂N₄O₇S₃ [M]⁺ 598.0645; found 598.0659 (Δ = 2.3 ppm).

m/z: calculated for C₂₆H₂₃N₄O₇S₃ [M+H]⁺ 599.0723; found 599.0731 (Δ = 1.3 ppm).

IR (cm⁻¹) ν 3317, 3109, 2919, 2852, 1663, 1611, 1590, 1517, 1492, 1444, 1374, 1340, 1226, 1071, 854, 795, 697, 666, 562.

4-Nitrophenyl-6-(4-(2,2':5',2''-terthiophene)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy-2,3,4-tri-O-acetyl- β -D-glucopyranoside 39



Chemical Formula: $C_{32}H_{28}N_4O_{10}S_3$

Molecular Weight: 724,77

In a flask (10 mL), sodium acetate (45 mg, 0.55 mmol, 1.1 eq) was dissolved in acetic anhydride (3 mL). The solution was stirred and heated at 120 °C for 30 min. Then, glucose derivative **37** (300 mg, 0.50 mmol, 1 eq) was added slowly to the reaction mixture which was stirred and heated at 120 °C overnight. After cooling to room temperature, the solution was poured into cold water and the crude product was extracted with dichloromethane, was washed with saturated aqueous $NaHCO_3$ until neutral pH and brine, was dried over $MgSO_4$ and concentrated by reduced pressure. The residue was purified on silica gel column chromatography (DCM:EtOAc, 95:5 to 90:10) to give a brown solid (109 mg, 30 %).

Mp: 272-273 °C.

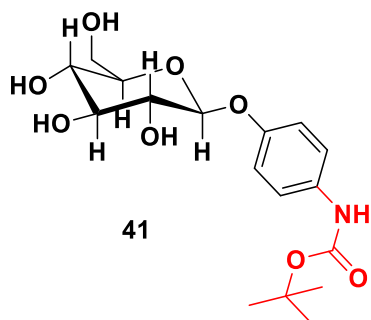
1H NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ 8.28 (s, 1H, H-triazole), 7.93 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H, Ar-H), 7.54 (dd, $J = 5.1, 1.1$ Hz, 1H, T_3), 7.36 (dd, $J = 3.6, 1.1$ Hz, 1H, T_3), 7.30 (s, 2H, T_3), 7.25 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, T_3), 7.22 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, T_3), 7.12 (dd, $J = 5.1, 3.6$ Hz, 1H, T_3), 6.82 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H, Ar-H), 5.69 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H-1), 5.41 (t, $J = 9.5$ Hz, 1H, H-3), 5.19 (dd, $J = 9.7, 8.0$ Hz, 1H, H-2), 5.07 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H, H-4), 4.82 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H, H-6), 4.57-4.5 (m, 2H, H-5, H-6), 2.10 (s, 3H, $COCH_3$), 2.02 (s, 3H, $COCH_3$), 1.99 (s, 3H, $COCH_3$).

^{13}C NMR (125 MHz, $DMSO-d_6$) δ 169.6, 169.5, 169.1, 160.4, 142.2, 141.1, 136.0, 135.5, 135.1, 135.0, 131.7, 128.5, 125.8, 125.4, 125.1, 125.0, 125.0, 124.7, 124.4, 122.4, 116.4, 95.9, 71.9, 71.7, 70.3, 69.5, 50.2, 20.6, 20.3, 20.3.

HRMS (FAB⁺) m/z : calculated for $C_{32}H_{28}N_4O_{10}S_3$ $[M]^+$ 724.0962; found 724.0947 ($\Delta = 2.1$ ppm).

m/z : calculated for $C_{32}H_{29}N_4O_{10}S_3$ $[M+H]^+$ 725.1040; found 725.1052 ($\Delta = 1.7$ ppm).

IR (cm⁻¹) ν 3146, 3087, 2942, 1745, 1591, 1518, 1491, 1441, 1366, 1342, 1238, 1206, 1111, 1065, 1031, 901, 860, 796, 752, 711, 600, 492.

4-*tert*-Butyl-*N*-phenylcarbamate- β -D-glucopyranoside **41**

Chemical Formula: C₁₇H₂₅NO₈

Molecular Weight: 371,39

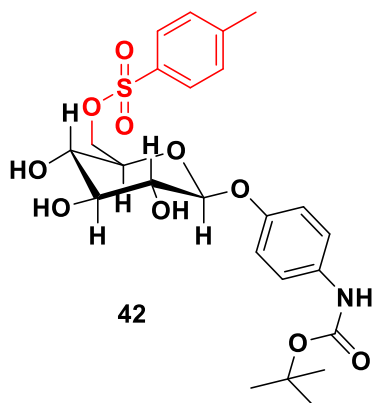
In a Schlenk flask (25 mL), to a solution of 4-aminophenyl- β -D-glucopyranoside **5** (1.34 g, 4.94 mmol, 1 eq) in MeOH (10 mL, HPLC grade) was added Boc₂O (1.29 g, 5.93 mmol, 1.2 eq) diluted in MeOH (5 mL, HPLC grade). The reaction mixture was heated at 100 °C under argon atmosphere for 6 h. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was purified by silica gel chromatography (EtOAc:EtOH, 10:0 to 9:1) to afford a white solid (1.44 g, 78 %).

Mp: 210-214 °C.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.14 (s, 1H, NH), 7.33 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, Ar-H), 6.93 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, Ar-H), 5.26 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H, OH-2), 5.04 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H, OH), 4.98 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H, OH), 4.73 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H, H-1), 4.54 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H, OH-6), 3.68 (ddd, *J* = 11.73, 5.3, 1.7 Hz, 1H, H-6), 3.49-3.41 (m, 1H, H-6), 3.30-3.10 (m, 4H, H-2, H-3, H-4, H-5), 1.46 (s, 9H, 3 X CH₃).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 152.9, 152.6, 133.7, 119.3, 116.6, 101.0, 78.8, 77.0, 76.7, 73.3, 69.8, 60.8, 28.2.

HRMS (EI) *m/z*: calculated for C₁₇H₂₅NO₈ [M]⁺ 371.1574; found 371.1574 (Δ = 0 ppm).

4-*tert*-Butyl-*N*-phenylcarbamate-6-*O*-(4-toluenesulfonyl)- β -D-glucopyranoside **42**

Chemical Formula: $C_{24}H_{31}NO_{10}S$
Molecular Weight: 525,57

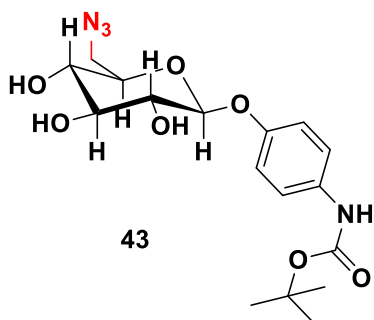
4-*tert*-Butyl-*N*-phenylcarbamate- β -D-glucopyranoside **41** (1.50 g, 4.03 mmol, 1 eq) and Bu_2SnO (1.00 g, 4.03 mmol, 1 eq) are introduced in a Schlenk flask (100 mL) under argon atmosphere and MeOH (40 mL, HPLC grade, previously degassed by argon bubbling for 10 min and dried over activated 4 Å molecular sieves) was added. The mixture was refluxed for 3-4 h. The solvent was removed by evaporation under vacuum below 30 °C then the residue was dried under vacuum. In the same Schenck flask (100 mL), this residue, tosyl chloride (847 mg, 4.44 mmol, 1.1 eq) and DMAP (49 mg, 0.403 mmol, 0.1 eq) were dissolved in dry dioxane (75 mL) under argon atmosphere and the stirring was done at room temperature overnight. The mixture was concentrated under pressure below 30 °C and was purified by silica gel chromatography. A first elution with $CHCl_3$ and toluene was done to remove the tin compound and the eluent (EtOAc:MeOH, 10:0 to 9:1) was chosen to give a white foamy product (1.95 g, 92 %).

Mp: 130-133 °C.

1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 9.20 (s, 1H, NH), 7.72 (d, J = 8.3 Hz, 2H, Ar-H), 7.37 (d, J = 8.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.34 (d, J = 8.7 Hz, 2H, Ar-H), 6.87 (d, J = 9.0 Hz, 2H, Ar-H), 5.36 (d, J = 5.0 Hz, 1H, OH-2), 5.31 (d, J = 5.4 Hz, 1H, OH-4), 5.18 (d, J = 4.8 Hz, 1H, OH-3), 4.77 (d, J = 7.4 Hz, 1H, H-1), 4.25 (dd, J = 10.6, 1.7 Hz, 1H, H-6), 4.06 (dd, J = 10.6, 6.5 Hz, 1H, H-6), 3.58 (ddd, J = 9.5, 6.3, 1.5 Hz, 1H, H-5), 3.28-3.05 (m, 3H, H-2, H-3, H-4), 2.37 (s, 3H, CH_3), 1.47 (s, 9H, 3 X CH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ 152.9, 152.2, 144.8, 134.0, 132.2, 130.0, 127.5, 119.2, 116.6, 100.5, 78.8, 76.1, 73.2, 73.0, 69.7, 69.3, 28.2, 21.0.

HRMS (MALDI) m/z : calculated for $C_{24}H_{31}NO_{10}NaS$ $[M+Na]^+$ 548.1560; found 548.1552 (Δ = 1.5 ppm).

4-*tert*-Butyl-*N*-phenylcarbamate-6-azido-6-deoxy- β -D-glucopyranoside **43**

Chemical Formula: C₁₇H₂₄N₄O₇
Molecular Weight: 396,40

A mixture of 4-*tert*-Butyl-*N*-phenylcarbamate-6-*O*-(4-toluenesulfonyl)- β -D-glucopyranoside **42** (7.59 g, 14.4 mmol, 1 eq) and sodium azide (4.69 g, 72.2 mmol, 5 eq) in dry DMF was stirred and heated at 80 °C overnight under argon atmosphere. Then, the reaction mixture was filtered to remove NaN₃ and the filtrate was extracted with ethyl acetate, was washed with water and brine, was dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The crude material was purified by column chromatography on silica gel (EtOAc:EtOH, 100:0 to 96:4) to afford a white solid (4.41 g, 77 %).

Mp: 172-175 °C.

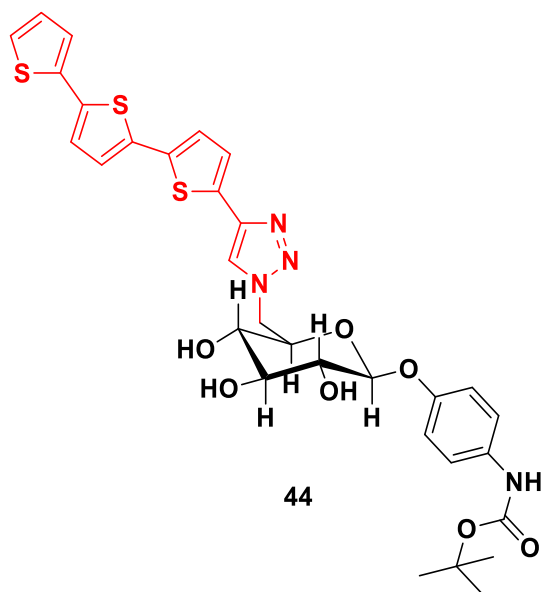
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.17 (s, 1H, NH), 7.34 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, Ar-H), 6.93 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, Ar-H), 5.38 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H, OH-2), 5.28 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H, OH-4), 5.18 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H, OH-3), 4.84 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, H-1), 3.57-3.50 (m, 1H, H-5), 3.47-3.37 (m, 2H, 2 X H-6), 3.31-3.18 (m, 2H, H-2, H-3), 3.15-3.08 (m, 1H, H-4), 1.46 (s, 9H, 3 X CH₃).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 152.9, 152.3, 134.0, 119.2, 116.7, 100.9, 78.7, 76.1, 75.0, 73.1, 70.6, 51.3, 28.1.

HRMS (MALDI) *m/z*: calculated for C₁₇H₂₄N₄O₇K [M+K]⁺ 435.1276; found 435.1276 (Δ = 0 ppm).

m/z: calculated for C₁₇H₂₄N₄O₇Na [M+Na]⁺ 419.1537; found 419.1531 (Δ = 1.4 ppm).

4-*tert*-Butyl-N-phenylcarbamate-6-(4-(2,2':5',2''-terthiophene)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy-β-D-glucopyranoside **44**



Chemical Formula: C₃₁H₃₂N₄O₇S₃

Molecular Weight: 668,80

4-*tert*-Butyl-N-phenylcarbamate-6-azido-6-deoxy-β-D-glucopyranoside **43** (300 mg, 0.75 mmol, 1 eq) and 5-ethynyl-2,2':5',2''-terthiophene **36** (226 mg, 0.83 mmol, 1.1 eq) were degassed under vacuum/argon atmosphere five times in a Schlenk tube. Then, a mixture (3:1, ratio v/v) of dry DMF (3.4 mL) and degassed water (1.1 mL, argon bubbling) was added to the powders. Finally, sodium ascorbate (119 mg, 0.60 mmol, 0.8 eq) and copper sulfate pentahydrate (75 mg, 0.30 mmol, 0.4 eq) were introduced into the solution mixture which was stirred overnight and heated at 45 °C under argon atmosphere. A solution of EDTA (350 mg, 1.20 mmol, 1.6 eq, 0.2 M) diluted in NH₄OH (6 mL, 1 M) and ethyl acetate were poured into the mixture which was stirred for 2 h at room temperature. The solution was filtered on Buchner to collect a green precipitate. The filtrate was washed with saturated NH₄Cl then brine, was dried over MgSO₄ and concentrated in vacuum. The precipitate was purified on a short plug of silica gel whereas the crude material was purified using silica gel chromatography (EtOAc:MeOH:H₂O, 100:0:0 to 95:4.5:0.5) to get a yellow solid (389 mg in all, 76 %).

Mp: 238-240 °C.

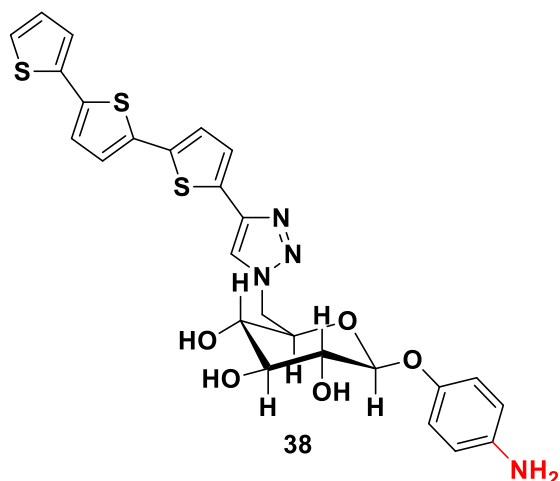
¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.10 (s, 1H, NH), 8.23 (s, 1H, H-triazole), 7.54 (dd, *J* = 5.1, 1.1 Hz, 1H, T₃), 7.35 (dd, *J* = 3.6, 1.1 Hz, 1H, T₃), 7.30-7.28 (m, 2H, T₃), 7.26 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, T₃), 7.21 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.19 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, T₃), 7.12 (dd, *J* = 5.1, 3.6 Hz, 1H, T₃), 6.69 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H, Ar-H), 5.54 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H, OH-4), 5.41 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H, OH-2), 5.27 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H, OH-3), 4.83 (dd, *J* = 14.4, 2.2 Hz, 1H, H-6), 4.75 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H-1), 4.43 (dd, *J* = 14.5, 9.4 Hz, 1H, H-6), 3.79 (td, *J* = 9.5, 2.1 Hz, 1H, H-5), 3.32-3.30 (m, 1H, H-3), 3.28-3.23 (m, 1H, H-2), 3.20-3.15 (m, 1H, H-4), 1.40 (s, 9H, 3 X CH₃).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 152.7, 152.0, 141.1, 136.0, 135.3, 135.1, 134.8, 134.1, 132.0, 128.5, 125.8, 125.0, 124.9, 124.9, 124.7, 124.3, 121.7, 119.2, 116.7, 100.8, 78.6, 76.1, 74.3, 73.2, 71.3, 51.3, 28.1.

HRMS (MALDI) *m/z*: calculated for C₃₁H₃₂N₄O₇S₃ [M]⁺ 668.1427; found 668.1420 (Δ = 1.0 ppm).

IR (cm⁻¹) ν 3348, 1698, 1514, 1365, 1217, 1158, 1051, 790.

4-Aminophenyl-6-(4-(2,2':5',2''-terthiophene)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy- β -D-glucopyranoside 38



Chemical Formula: $C_{26}H_{24}N_4O_5S_3$

Molecular Weight: 568,68

4-*tert*-Butyl-*N*-phenylcarbamate derivative **44** (253 mg, 0.38 mmol, 1 eq) was placed in Schlenk tube and degassed under vacuum/argon atmosphere five times. Then, dry DCM (2.6 mL) and trifluoroacetic acid (431 mg, 0.28 mL, 3.80 mmol, 10 eq) were added and the reaction mixture was stirred overnight at room temperature under argon atmosphere. A solution of NH_4OH (10 %) was introduced into the solution until there was no more smoke and a yellow precipitate was appeared. Then, ethyl acetate was added to the biphasic mixture in order to solubilize only the impurities. Finally, the suspension was filtered to get back a yellow solid (170 mg, 79 %).

Mp: 273-275 °C.

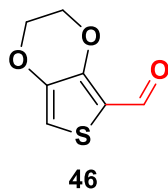
1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8.30 (s, 1H, H-triazole), 7.55 (dd, $J = 5.0, 0.9$ Hz, 1H, T₃), 7.37-7.33 (m, 3H, T₃), 7.30-7.28 (m, 2H, T₃), 7.12 (dd, $J = 5.0, 3.7$ Hz, 1H, T₃), 6.55 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, Ar-H), 6.33 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, Ar-H), 5.51 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H, OH-4), 5.35 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H, OH-2), 5.23 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H, OH-3), 4.82 (dd, $J = 14.3, 1.6$ Hz, 1H, H-6), 4.66 (s, 2H, NH₂), 4.55 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H-1), 4.43 (dd, $J = 14.3, 9.2$ Hz, 1H, H-6), 3.70 (td, $J = 9.7, 1.8$ Hz, 1H, H-5), 3.30-3.11 (m, 3H, H-2, H-3, H-4).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ 148.2, 143.9, 141.1, 135.9, 135.4, 135.1, 134.8, 132.1, 128.5, 125.8, 125.1, 125.0, 125.0, 124.9, 124.3, 121.8, 118.2, 114.3, 102.2, 76.1, 74.2, 73.2, 71.3, 51.3.

HRMS (MALDI) m/z : calculated for $C_{26}H_{24}N_4O_5S_3 [M]^+$ 568.0903; found 568.0905 ($\Delta = 0.4$ ppm).

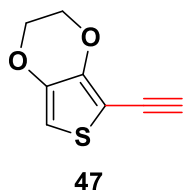
m/z : calculated for $C_{26}H_{24}N_4O_5NaS_3 [M+Na]^+$ 591.0801; found 591.0801 ($\Delta = 0$ ppm).

IR (cm⁻¹) ν 3338, 2897, 1612, 1510, 1424, 1373, 1215, 1060, 794.

EDOT Unit**3,4-Ethylenedioxythienyl-2-carbaldehyde 46¹⁷⁹****Chemical Formula:** C₇H₆O₃S**Molecular Weight:** 170,18

A mixture of dry DMF (19.15 g, 20.3 mL, 0.26 mol, 7 eq) and 3,4-ethylenedioxythiophene **45** (5.32 g, 4 mL, 57.4 mmol, 1 eq) was cooled to -10°C in a Schlenk flask (50 mL) under argon atmosphere. POCl₃ was added dropwise over 15 min and the solution was stirred for 2 h at room temperature. Then, a 20 % sodium acetate trihydrate solution was poured into the reaction and was stirred for 2 h at room temperature. The mixture was extracted with dichloromethane, was washed with brine, was dried over MgSO₄ and concentrated under vacuum. Firstly, the crude material was purified by silica gel chromatography with PE:DCM (5:5 to 3:7) as eluent to remove EDOT, then finally, the grey solid (3.79 g, 60 %) was obtained with ethyl acetate as eluent.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9.91 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, H-aldehyde), 6.79 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, H-EDOT), 4.38-4.35 (m, 2H, CH₂), 4.29-4.26 (m, 2H, CH₂).

3,4-Ethylenedioxythienyl-2-ethynyl 47**Chemical Formula:** C₈H₆O₂S**Molecular Weight:** 166,19

To a solution of 3,4-Ethylenedioxythienyl-2-carbaldehyde **46** (1.5 g, 8.81 mmol, 1 eq) and cesium carbonate (8.61 g, 26.4 mmol, 3 eq) in a mixture (1:1, ratio v/v) of dry THF (35 mL) and MeOH (35 mL, HPLC grade, previously degassed by argon bubbling for 10 min and dried over 4 Å activated molecular sieves), was added dimethyl (1-Diazo-2-oxopropyl)phosphonate (Bestmann-Ohira Reagent, 4.23 g, 3.30 mL, 22 mmol, 2.5 eq) dropwise. The reaction mixture was stirred at room temperature overnight under argon atmosphere. Then, the reaction was quenched by saturated aqueous NaHCO₃ and was extracted with dichloromethane, was washed with brine, was dried over MgSO₄ and concentrated. The crude material was purified by silica gel chromatography (PE: EtOAc, 8:2) to afford a yellow oil (1.05 g, 71 %).

Mp: room temperature.

¹⁷⁹ Firstenberg, M.; Shivananda, K. N.; Cohen, I.; Solomeshch, O.; Medvedev, V.; Tessler, N.; Eichen, Y., *Advanced Functional Materials* **2011**, *21*, 634-643.

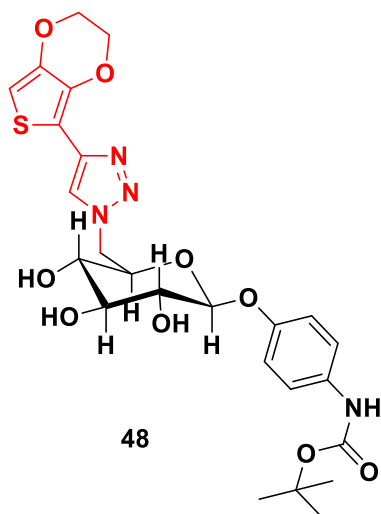
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 6.28 (s, 1H, H-EDOT), 4.31-4.27 (m, 2H, CH_2), 4.22-4.18 (m, 2H, CH_2), 3.48 (s, 1H, H-alkyne).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 145.65, 140.80, 101.64 (d, $J = 0.9$ Hz), 97.46, 83.98 (d, $J = 1.4$ Hz), 74.67, 65.27, 64.50.

HRMS (EI) m/z : calculated for $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}]^+$ 166.0083; found 166.0082 ($\Delta = 0.6$ ppm).

IR (cm^{-1}) ν 3413, 3328, 3170, 2907, 1595, 1516, 1492, 1431, 1342, 1240, 1178, 1071, 1010, 897, 850, 801, 750, 660, 619, 529, 484.

4-*tert*-Butyl-*N*-phenylcarbamate-6-(4-(3,4-Ethylenedioxythienyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy- β -D glucopyranoside 48



Chemical Formula: $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$

Molecular Weight: 562,59

4-*tert*-Butyl-*N*-phenylcarbamate-6-azido-6-deoxy- β -D-glucopyranoside 43 (300 mg, 0.75 mmol, 1 eq) and 3,4-Ethylenedioxythienyl-2-ethynyl 47 (138 mg, 0.83 mmol, 1.1 eq) were degassed under vacuum/argon atmosphere five times in a Schlenk tube. Then, a mixture (3:1, ratio v/v) of dry DMF (3.4 mL) and degassed water (1.1 mL, argon bubbling) was added to the powders. Finally, sodium ascorbate (119 mg, 0.60 mmol, 0.8 eq) and copper sulfate pentahydrate (75 mg, 0.30 mmol, 0.4 eq) were introduced into the solution mixture which was stirred overnight and heated at 45 °C under argon atmosphere. A solution of EDTA (350 mg, 1.20 mmol, 1.6 eq, 0.2 M) diluted in NH_4OH (6 mL, 1 M) and ethyl acetate were poured into the mixture which was stirred for 30 min at room temperature. The organic phase was washed with saturated NH_4Cl then brine, was dried over MgSO_4 and concentrated in vacuum. The crude material was purified using silica gel chromatography ($\text{EtOAc}:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$, 100:0:0 to 95:4.5:0.5) to get a white solid (356 mg, 83 %).

Mp: 234-235 °C.

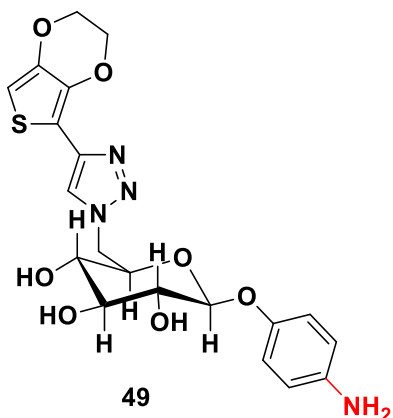
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9.11 (s, 1H, NH), 7.99 (s, 1H, H-triazole), 7.17 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, Ar-H), 6.67 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, Ar-H), 6.55 (s, 1H, H-EDOT), 5.53 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H, OH-4), 5.39 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H, OH-2), 5.25 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H, OH-3), 4.82 (d, $J = 13.1$ Hz, 1H, H-6), 4.72 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, H-1), 4.47 (dd, $J = 14.3, 8.9$ Hz, 1H, H-6), 4.22-4.17 (m, 3H, CH_2), 4.15-4.09 (m, 1H, CH_2), 3.78 (t, $J = 8.5$ Hz, 1H, H-5), 3.32-3.18 (m, 2H, H-2, H-3), 3.16-3.08 (m, 1H, H-4), 1.45 (s, 9H, 3 X CH_3).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 152.8, 152.1, 141.6, 139.1, 137.9, 133.9, 121.4, 119.3, 116.5, 106.8, 100.8, 98.0, 78.7, 76.0, 74.3, 73.2, 71.2, 64.8, 64.3, 51.0, 28.1.

HRMS (MALDI) *m/z*: calculated for C₂₅H₃₀N₄O₉NaS [M+Na]⁺ 585.1625; found 585.1637 (Δ = 2.1 ppm).

IR (cm⁻¹) ν 3430, 3333, 3184, 2977, 2918, 2869, 1712, 1519, 1494, 1156, 1061.

4-Aminophenyl-6-(4-(3,4-Ethylenedioxythienyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy-β-D-glucopyranoside 49



Chemical Formula: C₂₀H₂₂N₄O₇S
Molecular Weight: 462,48

4-*tert*-Butyl *N*-phenylcarbamate derivative **48** (283 mg, 0.50 mmol, 1 eq) was placed in Schlenk tube and degassed under vacuum/argon atmosphere five times. Then, dry DCM (4 mL) and trifluoroacetic acid (573 mg, 0.38 mL, 5.03 mmol, 10 eq) were added and the reaction mixture was stirred overnight at room temperature under argon atmosphere. A solution of NH₄OH (10 %) was introduced into the solution until there was no more smoke. The biphasic mixture was evaporated under vacuum and the crude material was purified by silica gel chromatography (EtOAc:MeOH:H₂O, 100:0:0 to 95:4.5:0.5) to obtain a white solid (137 mg, 59 %).

Mp: 210-213 °C.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.04 (s, 1H, H-triazole), 6.59 (s, 1H, H-EDOT), 6.51 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar-H), 6.30 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, Ar-H), 5.47 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H, OH-4), 5.31 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H, OH-2), 5.20 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H, OH-3), 4.81 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H, H-6), 4.63 (s, 2H, NH₂), 4.51 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, H-1), 4.47 (dd, *J* = 14.2, 8.9 Hz, 1H, H-6), 4.27-4.20 (m, 4H, 2 X CH₂), 3.68 (td, *J* = 9.3, 2.0 Hz, 1H, H-5), 3.32-3.24 (m, 1H, H-3), 3.21-3.06 (m, 2H, H-2, H-4).

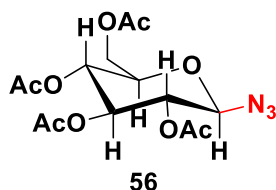
¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 148.4, 143.7, 141.7, 139.1, 137.9, 121.5, 117.9, 114.3, 106.9, 102.2, 98.0, 76.0, 74.3, 73.2, 71.3, 64.9, 64.4, 51.1.

HRMS (MALDI) *m/z*: calculated for C₂₀H₂₃N₄O₇S [M+H]⁺ 463.1281; found 463.1279 (Δ = 0.4 ppm).

m/z: calculated for C₂₀H₂₂N₄O₇NaS [M+Na]⁺ 485.1101; found 485.1100 (Δ = 0.2 ppm).

m/z: calculated for C₂₀H₂₂N₄O₇KS [M+K]⁺ 501.0840; found 501.0835 (Δ = 1.0 ppm).

IR (cm⁻¹) ν 3413, 3325, 3180, 2985, 2910, 2866, 1669, 1610, 1555, 1509, 1489, 1429, 1365, 1222, 1070, 1060, 1003.

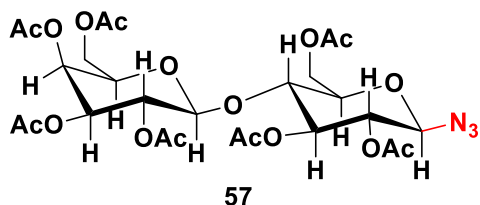
Bithiophene Unit**2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl azide 56¹⁸⁰**

Chemical Formula: C₁₄H₁₉N₃O₉

Molecular Weight: 373,32

2,3,4,6-tetra-O-acetyl-α-D-glucopyranosyl bromide **2** (5 g, 12.1 mmol, 1 eq), tetrabutylammonium hydrogensulfate (4.19 g, 12.1 mmol, 1 eq, TBAHS) and sodium azide (3.96 g, 60.9 mmol, 5 eq) were dissolved in a biphasic solution (1:1, v/v) DCM (80 mL, HPLC grade) and saturated aqueous NaHCO₃ (80 mL). The two phases were stirred vigorously for 4 h at room temperature. Then, the reaction mixture was extracted with ethyl acetate, was washed with saturated aqueous NaHCO₃ and brine, was dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The crude material was purified using silica gel chromatography (PE:EtOAc, 6:4) to afford a white solid (4.15 g, 91 %).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 5.22 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H), 5.11 (t, *J* = 9.7 Hz, 1H), 4.96 (t, *J* = 9.1 Hz, 1H), 4.65 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 4.28 (dd, *J* = 12.5, 4.8 Hz, 1H), 4.17 (dd, *J* = 12.5, 2.4 Hz, 1H), 3.80 (ddd, *J* = 9.9, 4.8, 2.4 Hz, 1H), 2.10 (s, 3H, COCH₃), 2.08 (s, 3H, COCH₃), 2.03 (s, 3H, COCH₃), 2.01 (s, 3H, COCH₃).

2,3,6-tri-O-acetyl-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-β-D-glucopyranosyl azide 57¹⁸¹

Chemical Formula: C₂₆H₃₅N₃O₁₇

Molecular Weight: 661,57

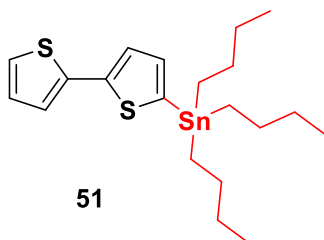
2,3,6-tri-O-acetyl-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-α-D-glucopyranosyl bromide **8** (5 g, 7.16 mmol, 1 eq), TBAHS (2.43 g, 7.16 mmol, 1 eq) and sodium azide (2.32 g, 35.8 mmol, 5 eq) were dissolved in a biphasic solution (1:1, v/v) DCM (50 mL, HPLC grade) and saturated aqueous NaHCO₃ (50 mL). The two phases were stirred vigorously for 4 h at room temperature. Then, the reaction mixture was extracted with ethyl acetate, was washed with saturated aqueous NaHCO₃ and brine, was dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The crude material was purified using silica gel chromatography (PE: EtOAc, 5:5) to afford a white solid (4.02 g, 84 %).

¹⁸⁰ Bianchi, A.; Bernardi, A., *The Journal of Organic Chemistry* **2006**, *71*, 4565-4577.

¹⁸¹ D'Onofrio, J.; de Champdoré, M.; De Napoli, L.; Montesarchio, D.; Di Fabio, G., *Bioconjugate Chemistry* **2005**, *16*, 1299-1309.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 5.35 (dd, $J = 3.4, 1.0$ Hz, 1H), 5.21 (t, $J = 9.2$ Hz, 1H), 5.11 (dd, $J = 10.5, 7.9$ Hz, 1H), 4.96 (dd, $J = 10.4, 3.4$ Hz, 1H), 4.86 (t, $J = 9.1$ Hz, 1H), 4.63 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 4.51 (dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz, 1H), 4.48 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 4.16-4.05 (m, 3H), 3.89-3.78 (m, 2H), 3.70 (ddd, $J = 9.8, 4.9, 2.0$ Hz, 1H), 2.15 (s, 3H, COCH_3), 2.14 (s, 3H, COCH_3), 2.07 (s, 3H, COCH_3), 2.06 (s, 3H, COCH_3), 2.05 (s, 6H, 2 X COCH_3), 1.97 (s, 3H, COCH_3).

5-(tributylstannyl)-2,2'-bithiophene **51**¹⁸²

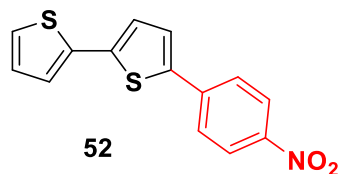


Chemical Formula: $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{S}_2\text{Sn}$
Molecular Weight: 455,31

2,2'-bithiophene **50** (3 g, 18.0 mmol, 1 eq) was placed into a Schlenk flask (100 mL) equipped with a stir-bar and degassed under vacuum/argon atmosphere five times. Dry THF (48 mL) is introduced via syringe to dissolve the green solid. The solution was cooled to -78°C , then $n\text{-BuLi}$ (7.5 mL, 18.9 mmol, 1.05 eq, 2.5 M) was added dropwise and the reaction mixture was stirred for 1.5 h at -78°C under argon atmosphere. Tributyltin chloride (6.46 g, 5.38 mL, 19.8 mmol, 1.1 eq) was added slowly at -78°C and the reaction was allowed to reach room temperature overnight. Saturated aqueous NH_4Cl (60 mL) was added to quench the reaction mixture which was extracted with diethyl ether, was washed with brine and was dried over MgSO_4 . The solvent was removed by evaporation under vacuum to give a blue oil which is used for next reaction without any purification (8.44 g, 102 %).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.30 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H, T_2), 7.20-7.17 (m, 2H, T_2), 7.06 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H, T_2), 7.01 (dd, $J = 5.0, 3.8$ Hz, 1H, T_2), 1.62-1.53 (m, 6H, 3 X CH_2), 1.41-1.29 (m, 6H, 3 X CH_2), 1.15-1.09 (m, 6H, 3 X CH_2), 0.91 (t, $J = 7.3$ Hz, 9H, 3 X CH_3).

5-(4-Nitrophenyl)-2,2'-bithiophene **52**¹⁸³



Chemical Formula: $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_2\text{S}_2$
Molecular Weight: 287,35

In a Schlenk flask (250 mL), a solution of 1-bromo-4-nitrobenzene (3.48 g, 17.2 mmol, 0.93 eq) in toluene (200 mL) was degassed by argon bubbling for 15 min. The 5-(tributylstannyl)-2,2'-bithiophene **51** (8.44 g, 18.5 mmol, 1 eq) was added via syringe and the mixture continued to be degassed by argon bubbling for 15 min. Then, tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (64.2 mg, 55.6 μmol , 0.003 eq) was added quickly and the

¹⁸² Matharu, A. S.; Cowling, S. J.; Wright, G., *Liquid Crystals* **2007**, *34*, 489-506.

¹⁸³ Fave, C.; Leroux, Y.; Trippé, G.; Randriamahazaka, H.; Noel, V.; Lacroix, J.-C., *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 1890-1891.

reaction was refluxed overnight under argon atmosphere. The mixture was allowed to cool to room temperature, then the flask was put into an ice bath to precipitate a part of the product. The suspension was filtered under vacuum to collect an orange product 1 which was washed three times with hot hexane and filtered to afford an orange solid 1 (2.67 g). All the filtrates were evaporated and the crude material which had also the desired product, was washed with hot hexane three times to solubilize the impurities and filtered to give a clean orange solid 2 (1.71 g). The product was obtained with a yield of 82 %.

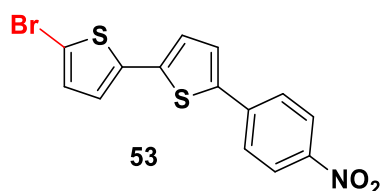
Mp: 188-190 °C.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.24 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.72 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.40 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H, T₂), 7.29 (dd, *J* = 5.1, 1.1 Hz, 1H, T₂), 7.26 (dd, *J* = 3.6, 1.1 Hz, 1H, T₂), 7.21 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H, T₂), 7.06 (dd, *J* = 5.1, 3.7 Hz, 1H, T₂).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 146.7, 140.4, 140.0, 139.9, 136.7, 128.2, 126.6, 125.7, 125.5, 125.1, 124.6.

HRMS (EI) *m/z*: calculated for C₁₄H₉NO₂S₂ [M]⁺ 287.0069; found 287.0067 (Δ = 0.7 ppm).

5-(4-Nitrophenyl)-5'-bromo-2,2'-bithiophene 53



Chemical Formula: C₁₄H₈BrNO₂S₂

Molecular Weight: 366,25

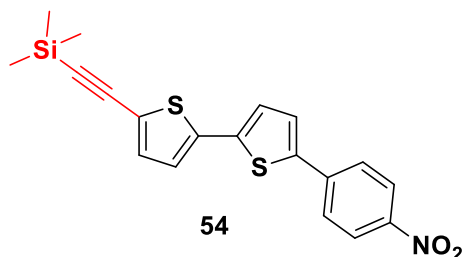
In a Schlenk flask (100 mL), 5-(4-Nitrophenyl)-2,2'-bithiophene **52** (4.21 g, 14.6 mmol, 1 eq) was dissolved in dry DMF (22 mL) under argon atmosphere. In parallel, a solution of *N*-bromosuccinimide (2.60 g, 14.6 mmol, 1 eq, NBS) in dry DMF (22 mL) was prepared to be transferred into the mixture dropwise via syringe. The reaction was stirred at room temperature overnight in the absence of light under argon atmosphere. The product started to precipitate during the stirring. Water was poured into the mixture to favor the precipitation. The suspension was filtered under vacuum to get back the precipitate which was rinsed with water several times. Then, the orange precipitate was dried under vacuum overnight to remove DMF and water. This orange solid (6.47 g, 120 %) was used without any purification for the next reaction.

Mp: 204-206 °C.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.25 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.71 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.38 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H, T₂), 7.14 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H, T₂), 7.01 (q, *J* = 3.9 Hz, 2H, T₂).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 146.8, 140.5, 140.1, 138.7, 138.2, 131.0, 126.6, 125.8, 125.3, 124.7, 124.7, 112.3.

HRMS (EI) *m/z*: calculated for C₁₄H₈BrNO₂S₂ [M]⁺ 364.9174; found 364.9189 (Δ = 4.1 ppm).

5-(4-Nitrophenyl)-5'-(trimethylsilylethynyl)-2,2'-bithiophene **54**

Chemical Formula: C₁₉H₁₇NO₂S₂Si

Molecular Weight: 383,56

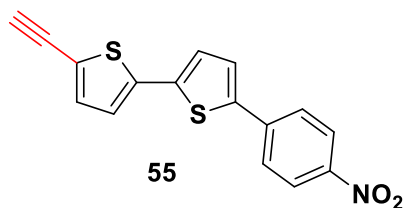
5-(4-Nitrophenyl)-5'-bromo-2,2'-bithiophene **53** (2 g, 5.46 mmol, 1 eq), CuI (62.4 mg, 0.32 mmol, 0.06 eq) and Pd(PPh₃)₂Cl₂ (114 mg, 0.16 mmol, 0.03 eq) were introduced into a Schlenk flask (100 mL) and degassed under vacuum/argon atmosphere five times. A mixture (4:1, v/v) of dry THF (72 mL) and Et₃N (18 mL, previously degassed by argon bubbling for 15 min) were added to the powders. Finally, ethynyltrimethylsilane (1.6 g, 2.26 mL, 16.3 mmol, 3 eq) was introduced to the mixture and the reaction was stirred overnight and heated at 65 °C under argon atmosphere. A color change was observed from orange to brown. The solvent was removed by evaporation under vacuum to give a brown residue. The crude material was purified by column chromatography on silica gel (PE:EtOAc, 9:1 to 8:2 to 7:3) to afford a yellow solid (910 mg, 43 %).

Mp: 132-133 °C.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.24 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.71 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.38 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H, T₂), 7.19 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H, T₂), 7.15 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, T₂), 7.08 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, T₂), 0.26 (s, 9H, TMS).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 146.8, 140.7, 140.1, 139.0, 138.0, 133.7, 126.7, 125.8, 125.6, 124.6, 124.1, 123.0, 101.0, 97.2, -0.0.

HRMS (EI) *m/z*: calculated for C₁₉H₁₇NO₂S₂Si [M]⁺ 383.0464; found 383.0470 (Δ = 1.6 ppm).

5-(4-Nitrophenyl)-5'-(ethynyl)-2,2'-bithiophene **55**

Chemical Formula: C₁₆H₉NO₂S₂

Molecular Weight: 311,37

5-(4-Nitrophenyl)-5'-(trimethylsilylethynyl)-2,2'-bithiophene **54** (1.95 g, 5.08 mmol, 1 eq) and K₂CO₃ (772 mg, 5.59 mmol, 1.1 eq) were placed into a Schlenk tube under argon atmosphere. Then, a mixture (3:1, v/v) of dry THF (60 mL) and MeOH (20 mL, HPLC grade, previously degassed by argon bubbling for 10 min) was added to the powders and the solution was stirred for 1 h at room temperature. A precipitation was observed during the addition of MeOH. Water was poured into the solution to dissolve K₂CO₃ and favor the precipitation of the product. The suspension was filtered under vacuum to get an orange solid which was dried under vacuum (1.46 g, 92 %).

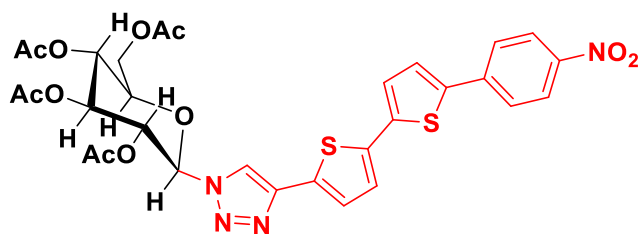
Mp: 196-198 °C.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.25 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.72 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.40 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H, T₂), 7.22 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, T₂), 7.21 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, T₂), 7.10 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, T₂), 3.44 (s, 1H, H-alkyne).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 146.8, 140.9, 140.1, 138.8, 138.3, 134.2, 126.7, 125.9, 125.8, 124.7, 124.1, 121.8, 83.0, 83.0.

HRMS (EI) *m/z*: calculated for C₁₆H₉NO₂S₂ [M]⁺ 311.0069; found 311.0073 (Δ = 1.3 ppm).

1-(4-[5-(4-Nitrophenyl)-2,2'-bithiophene]-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-β-D-glucopyranoside 58



58

Chemical Formula: C₃₀H₂₈N₄O₁₁S₂

Molecular Weight: 684,69

2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyl azide **56** (200 mg, 0.53 mmol, 1 eq) and 5-(4-Nitrophenyl)-5'-(ethynyl)-2,2'-bithiophene **55** (183 mg, 0.59 mmol, 1.1 eq) were placed into a Schlenk tube and degassed under vacuum/argon atmosphere five times. A mixture (3:1, v/v) of dry DMF (2.25 mL) and degassed water (0.75 mL) was added to the powders. Then, sodium ascorbate (85 mg, 0.43 mmol, 0.8 eq) and copper sulfate pentahydrate (53 mg, 0.21 mmol, 4 eq) were introduced into the solution which was stirred at room temperature overnight. According to TLC, the reaction wasn't started, so the reaction mixture was allowed to warm to 50-60 °C and was stirred for 48 h. A precipitation was observed. A mixture of saturated aqueous NH₄Cl and ethyl acetate was poured into the solution which was stirred and sonicated. The suspension was filtered to get back a yellow precipitate. The filtrate was extracted with ethyl acetate, was washed with saturated aqueous NH₄Cl and brine, was dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. According to ¹H NMR, the crude material was composed of starting materials, so no purification was done on the crude material. The precipitate was purified using column chromatography on silica gel (DCM:EtOAc, 10:0 to 8:2) to afford a yellow solid (80 mg, 21 %).

Mp: 274-276 °C.

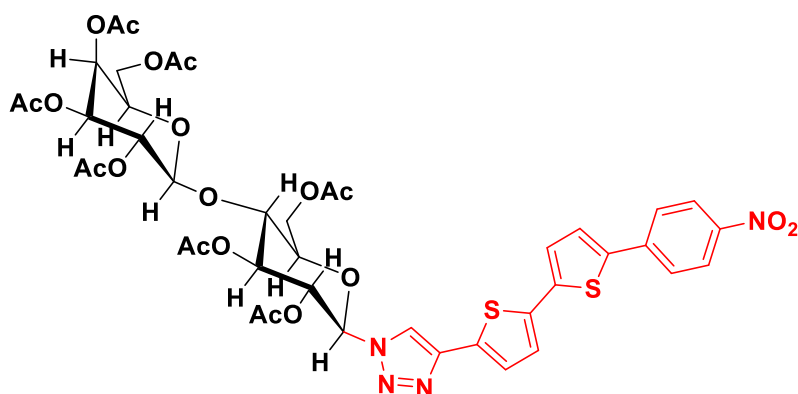
¹H NMR (499 MHz, CDCl₃) δ 8.25 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, Ar-H), 7.94 (s, 1H, H-triazole), 7.73 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, Ar-H), 7.42 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H, T₂), 7.35 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, T₂), 7.24 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H, T₂), 7.23 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, T₂), 5.92 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-1), 5.49 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H, H-2), 5.44 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H, H-3), 5.27 (dd, *J* = 10.1, 9.2 Hz, 1H, H-4), 4.34 (dd, *J* = 12.7, 5.2 Hz, 1H, H-6), 4.17 (dd, *J* = 12.7, 2.1 Hz, 1H, H-6), 4.03 (ddd, *J* = 10.2, 5.1, 2.1 Hz, 1H, H-5), 2.10 (s, 3H, COCH₃), 2.09 (s, 3H, COCH₃), 2.05 (s, 3H, COCH₃), 1.92 (s, 3H, COCH₃).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 170.6, 170.0, 169.5, 169.2, 146.7, 143.2, 140.4, 140.2, 139.4, 136.8, 131.9, 126.8, 125.8, 125.7, 125.4, 125.1, 124.7, 117.4, 86.1, 75.4, 72.8, 70.4, 67.8, 61.7, 20.9, 20.7, 20.7, 20.4.

HRMS (FAB⁺) *m/z*: calculated for C₃₀H₂₈N₄O₁₁S₂ [M]⁺ 684.1190; found 684.1185 (Δ = 0.7 ppm).

IR (cm⁻¹) ν 3081, 2946, 1745, 1594, 1517, 1433, 1366, 1337, 1217, 1096, 1043, 927, 843, 797, 746, 684, 461.

1-(4-[5-(4-Nitrophenyl)-2,2'-bithiophene]-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2,3,6-tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranoside **59**



59

Chemical Formula: C₄₂H₄₄N₄O₁₉S₂

Molecular Weight: 972,94

2,3,6-tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl azide **57** (200 mg, 0.30 mmol, 1 eq) and 5-(4-Nitrophenyl)-5'-(ethynyl)-2,2'-bithiophene **55** (103 mg, 0.33 mmol, 1.1 eq) were placed into a Schlenk tube and degassed under vacuum/argon atmosphere five times. A mixture (3:1, v/v) of dry DMF (1.5 mL) and degassed water (0.5 mL) was added to the powders. Then, sodium ascorbate (48 mg, 0.24 mmol, 0.8 eq) and copper sulfate pentahydrate (30 mg, 0.12 mmol, 0.4 eq) were introduced into the solution which was stirred at room temperature overnight. According to TLC, the reaction was not started. So, the reaction mixture was allowed to warm to 50 °C and was stirred for 48 h. A mixture of saturated aqueous NH₄Cl and ethyl acetate was poured into the solution which was stirred and sonicated. The crude material was extracted with ethyl acetate, was washed with saturated aqueous NH₄Cl and brine, was dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel chromatography (PE:EtOAc, 6:4 to 5:5 to 3:7) to afford an orange-brown solid (210 mg, 71 %).

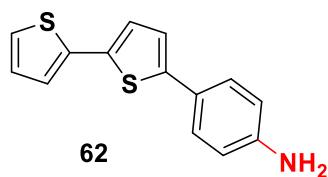
Mp: 192-194 °C.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.24 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, Ar-H), 7.87 (s, 1H, H-triazole), 7.72 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, Ar-H), 7.40 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H, T₂), 7.32 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, T₂), 7.22 (t, *J* = 4.1 Hz, 2H, T₂), 5.87 (d, 1H, H-1), 5.49-5.43 (m, 2H, H-2, H-4), 5.38 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H, H-4'), 5.15 (dd, *J* = 10.4, 7.8 Hz, 1H, H-2'), 4.99 (dd, *J* = 10.4, 3.4 Hz, 1H, H-3'), 4.55 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, H-1'), 4.51 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H, H-6), 4.21-4.07 (m, 3H, H-6, 2 X H-6'), 4.02-3.89 (m, 3H, H-3, H-5, H-5'), 2.17 (s, 3H, COCH₃), 2.12 (s, 3H, COCH₃), 2.08 (s, 3H, COCH₃), 2.08 (s, 3H, COCH₃), 2.07 (s, 3H, COCH₃), 1.98 (s, 3H, COCH₃), 1.91 (s, 3H, COCH₃).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 170.5, 170.3, 170.2, 170.2, 169.6, 169.4, 169.2, 146.7, 143.1, 140.4, 140.2, 139.4, 136.7, 132.0, 126.7, 125.8, 125.6, 125.4, 125.0, 124.6, 117.4, 101.3, 85.8, 76.2, 75.8, 72.7, 71.0, 70.6, 69.2, 66.7, 61.9, 60.9, 20.9 (d, *J* = 1.8 Hz), 20.8 (4C), 20.6 (d, *J* = 1.8 Hz), 20.4 (d, *J* = 1.8 Hz).

HRMS (FAB⁻) *m/z*: calculated for C₄₂H₄₄N₄O₁₉S₂ [M]⁻ 972.2046; found 972.2030 (Δ = 1.6 ppm).

IR (cm⁻¹) ν 2939, 2359, 1741, 1667, 1591, 1512, 1439, 1367, 1334, 1212, 1041, 850, 793, 749, 601, 465.

5-(4-Aminophenyl)-2,2'-bithiophene **62**¹⁸³

Chemical Formula: C₁₄H₁₁NS₂
Molecular Weight: 257,37

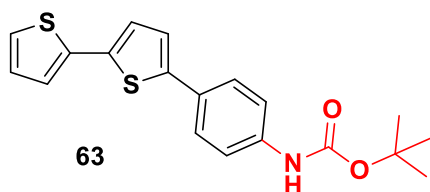
5-(4-Nitrophenyl)-2,2'-bithiophene **52** (1.5 g, 5.22 mmol, 1 eq) and iron powder (2.08 g, 37.2 mmol, 7.14 eq) were put in a Schlenk flask (100 mL) degassed under vacuum/argon atmosphere five times. Dry THF (38 mL) was added to dissolve the powders. The tip was opened to avoid an overpressure of hydrogen when the addition of hydrochloric acid (21 mL, 48.3 eq, 37 %) was done. The reaction mixture was heated to 66 °C and stirred for 1.5 h. A change of color from orange to green showed that the starting material disappeared totally. Then, water was added into the mixture and the suspension was filtered to get a green compound which was rinsed with water before being dried under vacuum overnight. The dried precipitate was introduced in a mixture of ethyl acetate and NaOH (1 M) which was stirred at room temperature for 10 min. The green suspension was dissolved in ethyl acetate and the solution became brown. The organic phase was washed with water and brine, was dried over MgSO₄, and evaporated to give a beige-brown solid (1 g, 74 %).

Mp: 129-131 °C.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.41 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, Ar-H), 7.19 (dd, *J* = 5.1, 1.0 Hz, 1H, T₂), 7.16 (dd, *J* = 3.5, 1.0 Hz, 1H, T₂), 7.11 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H, T₂), 7.06 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, T₂), 7.02 (dd, *J* = 5.1, 3.6 Hz, 1H, T₂), 6.69 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, Ar-H), 3.76 (s, 2H, NH₂).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 146.3, 144.1, 137.9, 135.0, 127.9, 127.0, 124.9, 124.7, 124.0, 123.3, 121.9, 115.4.

HRMS (MALDI) *m/z*: calculated for C₁₄H₁₁NS₂ [M]⁺ 257.0327; found 257.0333 (Δ = 2.3 ppm).

5-(4-*tert*-Butyl-*N*-phenylcarbamate)-2,2'-bithiophene **63**

Chemical Formula: C₁₉H₁₉NO₂S₂
Molecular Weight: 357,49

5-(4-Aminophenyl)-2,2'-bithiophene **62** (1.83 g, 7.11 mmol, 1 eq) was placed into a Schlenk flask (50 mL) and degassed under vacuum/argon atmosphere five times. Previously degassed by argon bubbling for 10 min and dried over 4 Å activated molecular sieves, MeOH (12 mL, HPLC grade) was added to the solid. In parallel, a solution of Boc₂O (1.86 g, 8.53 mmol, 1.2 eq) in MeOH (10 mL, HPLC grade) was prepared and then added to the mixture via syringe. The reaction mixture was stirred and heated to 100 °C for 6 h under argon atmosphere. The reaction was quenched by water and the product was extracted with dichloromethane, was washed with water and brine, was dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The crude material was purified by silica gel chromatography (PE:DCM, 5:5 to 3:7) to give a pale yellow solid (1.83 g, 71 %).

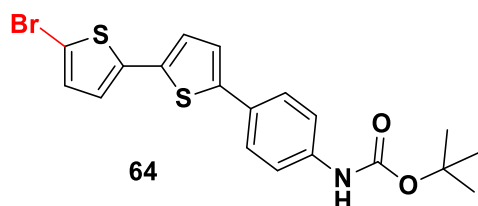
Mp: 161-164 °C.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.52 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar-H), 7.38 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar-H), 7.21 (dd, *J* = 5.1, 1.1 Hz, 1H, T₂), 7.18 (dd, *J* = 3.6, 1.1 Hz, 1H, T₂), 7.15-7.11 (m, 2H, T₂), 7.02 (dd, *J* = 5.1, 3.6 Hz, 1H, T₂), 6.53 (s, 1H, NH), 1.54 (s, 9H, 3 X CH₃).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 152.7, 143.0, 138.0, 137.7, 136.2, 129.1, 128.0, 126.4, 124.7, 124.4, 123.6, 123.1, 118.9, 80.9, 28.5.

HRMS (MALDI) *m/z*: calculated for C₁₉H₁₉NO₂S₂ [M]⁺ 357.0851; found 357.0851 (Δ = 0 ppm).

5-(4-*tert*-Butyl-*N*-phenylcarbamate)-5'-bromo-2,2'-bithiophene 64



Chemical Formula: C₁₉H₁₈BrNO₂S₂

Molecular Weight: 436,38

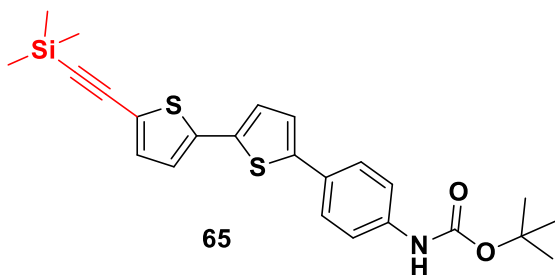
In a Schlenk tube, 5-(4-*tert*-Butyl-*N*-phenylcarbamate)-2,2'-bithiophene **63** (750 mg, 2.09 mmol, 1 eq) was dissolved in dry DMF (3.2 mL) under argon atmosphere. In parallel, a solution of *N*-bromosuccinimide (410 mg, 2.30 mmol, 1.1 eq, NBS) in dry DMF (3.2 mL) was prepared to be transferred into the mixture which was stirred at room temperature overnight in the absence of light. Water was added to the solution and a precipitation was observed. The suspension was filtered under vacuum to get back the precipitate which was rinsed three times with water. Then, the precipitate was dried under vacuum overnight to remove water. Finally, the solid was washed with hot hexane to remove the impurities and filtered three times to give a beige solid (630 mg, 69 %).

Mp: 192-194 °C.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.50 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar-H), 7.38 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar-H), 7.12 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, T₂), 7.05 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, T₂), 6.97 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, T₂), 6.91 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H, T₂), 6.48 (s, 1H, NH), 1.54 (s, 9H, 3 X CH₃).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 152.7, 143.8, 139.3, 138.3, 135.2, 130.8, 129.0, 126.6, 125.1, 123.7, 123.2, 119.1, 111.0, 81.0, 28.5.

HRMS (MALDI) *m/z*: calculated for C₁₉H₁₈BrNO₂S₂ [M]⁺ 434.9956; found 434.9962 (Δ = 1.4 ppm).

5-(4-*tert*-Butyl-*N*-phenylcarbamate)-5'-(trimethylsilylethynyl)-2,2'-bithiophene **65**

Chemical Formula: C₂₄H₂₇NO₂S₂Si
Molecular Weight: 453,69

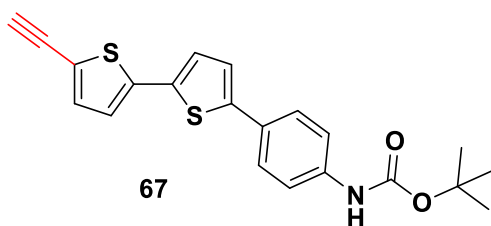
Bithiophene bromide **64** (1.71 g, 3.91 mmol, 1 eq), CuI (44 mg, 0.23 mmol, 0.06 eq) and Pd(PPh₃)₂Cl₂ (82.5 mg, 0.12 mmol, 0.03 eq) were introduced into a Schlenk flask (100 mL) and degassed under vacuum/argon atmosphere five times. A mixture (4:1, v/v) of dry THF (51.6 mL) and Et₃N (12.9 mL, previously degassed by argon bubbling for 15 min) were added to the powders. Finally, ethynyltrimethylsilane (1.15 g, 1.62 mL, 11.7 mmol, 3 eq) was introduced to the mixture and the reaction was stirred overnight and heated at 65 °C under argon atmosphere. The solvent was removed by evaporation under vacuum to give a brown residue. The crude material was purified by column chromatography on silica gel (PE:DCM, 7:3 to 6:4) to afford a green solid (1.02 g, 57 %).

Mp: 158-160 °C.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.51 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar-H), 7.38 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar-H), 7.14-7.11 (m, 3H, T₂), 7.00 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, T₂), 6.54 (s, 1H, NH), 1.53 (s, 9H, 3 X CH₃), 0.26 (s, 9H, TMS).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 152.7, 143.8, 139.1, 138.2, 135.3, 133.7, 128.8, 126.5, 125.3, 123.3, 123.1, 121.7, 118.9, 100.2, 97.6, 80.9, 28.5, 0.0.

HRMS (MALDI) *m/z*: calculated for C₂₄H₂₇NO₂S₂Si [M]⁺ 453.1246; found 453.1253 (Δ = 1.6 ppm).

5-(4-*tert*-Butyl-*N*-phenylcarbamate)-5'-ethynyl-2,2'-bithiophene **67**

Chemical Formula: C₂₁H₁₉NO₂S₂
Molecular Weight: 381,51

The trimethylsilylethynyl bithiophene derivative **65** (354 mg, 0.78 mmol, 1 eq) and K₂CO₃ (118 mg, 0.86 mmol, 1.1 eq) were placed into a Schlenk tube under argon atmosphere. Then, a mixture (3:1, v/v) of dry THF (9.4 mL) and MeOH (3.1 mL, HPLC grade, previously degassed by argon bubbling for 10 min) was added to the powders and the solution was stirred for 1 h at room temperature. K₂CO₃ was removed by filtration and the solvent was evaporated *in vacuo*. The crude material was purified using a short plug of silica gel (PE:DCM, 7:3 to 5:5) to afford a yellow solid (260 mg, 87 %).

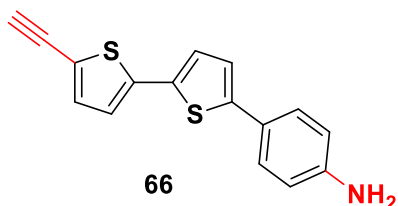
Mp: 160-162 °C.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.51 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, Ar-H), 7.38 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, Ar-H), 7.18 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, T_2), 7.15-7.12 (m, 2H, T_2), 7.02 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, T_2), 6.53 (s, 1H, NH), 3.41 (s, 1H, H-alkyne), 1.53 (s, 9H, 3 X CH_3).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 152.7, 143.9, 139.4, 138.2, 135.1, 134.1, 128.8, 126.5, 125.4, 123.3, 123.0, 120.4, 118.9, 82.4, 82.4, 81.0, 28.5.

HRMS (MALDI) m/z : calculated for $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{NO}_2\text{S}_2$ $[\text{M}]^+$ 381.0851; found 381.0845 ($\Delta = 1.6$ ppm).

5-(4-Aminophenyl)-5'-(ethynyl)-2,2'-bithiophene 66



Chemical Formula: $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{NS}_2$
Molecular Weight: 281,39

In a Schlenk flask (50 mL), the trimethylsilylethynyl bithiophene derivative **65** (880 mg, 1.93 mmol, 1 eq) was dissolved in dry THF (22 mL) under argon atmosphere. TBAF (19.4 mL, 19.3 mmol, 10 eq, 1 M) was added to the solution mixture which was stirred and refluxed overnight. The reaction was quenched by water and the product was extracted with ethyl acetate, was washed with saturated aqueous NH_4Cl (three times, to remove TBAF) and brine, was dried over MgSO_4 and concentrated *in vacuo*. The crude material was purified by column chromatography on silica gel (PE:DCM, 5:5 to 3:7) to give a brown solid (117 mg, 21 %).

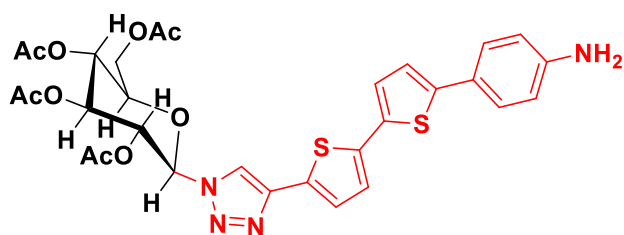
Mp: 148-151 °C.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.40 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, Ar-H), 7.17 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, T_2), 7.11 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, T_2), 7.05 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, T_2), 7.00 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, T_2), 6.69 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, Ar-H), 3.79 (s, 2H, NH_2), 3.40 (s, 1H, H-alkyne).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 146.5, 145.0, 139.8, 134.1, 133.9, 127.1, 125.4, 124.6, 122.7, 122.0, 120.1, 115.4, 82.2, 82.2.

HRMS (MALDI) m/z : calculated for $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{NS}_2$ $[\text{M}]^+$ 281.0327; found 281.0330 ($\Delta = 1.1$ ppm).

1-(4-[5-(4-Aminophenyl)-2,2'-bithiophene]-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranoside 60



60

Chemical Formula: C₃₀H₃₀N₄O₉S₂

Molecular Weight: 654,71

2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyl azide **56** (141 mg, 0.38 mmol, 1 eq) and 5-(4-Aminophenyl)-5'-(ethynyl)-2,2'-bithiophene **66** (117 mg, 0.41 mmol, 1.1 eq) were degassed under vacuum/argon atmosphere five times in a Schlenk tube. Then, a mixture (3:1, ratio v/v) of dry DMF (1.9 mL) and water (0.6 mL, previously degassed by argon bubbling) was added to the powders. Finally, sodium ascorbate (59 mg, 0.30 mmol, 0.8 eq) and copper sulfate pentahydrate (37 mg, 0.15 mmol, 0.4 eq) were introduced into the solution mixture which was stirred overnight and heated at 55 °C under argon atmosphere. A solution of EDTA (175 mg, 0.60 mmol, 1.6 eq, 0.2 M) diluted in NH₄OH (3 mL, 1 M) and ethyl acetate were poured into the mixture which was stirred for 2 h at room temperature. After stirring, the crude product was extracted with ethyl acetate, was washed with saturated NH₄Cl then brine, was dried over MgSO₄ and concentrated in vacuum. The crude material was purified using silica gel chromatography (DCM:EtOAc, 8:2) to get an orange-red solid (182 mg, 73 %).

Mp: 261-263 °C.

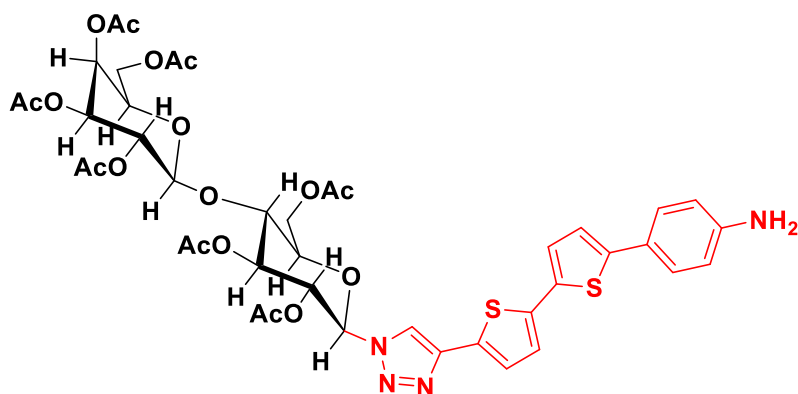
¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.89 (s, 1H, H-triazole), 7.40 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, T₂), 7.36 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, Ar-H), 7.29 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H, T₂), 7.28 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, T₂), 7.21 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H, T₂), 6.63 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, Ar-H), 6.41 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, H-1), 5.66 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H, H-2), 5.60 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H, H-3), 5.66-5.60 (br, 1H, NH), 5.18 (t, *J* = 9.7 Hz, 1H, H-4), 4.42 (ddd, *J* = 10.0, 5.4, 2.4 Hz, 1H, H-5), 4.17 (dd, *J* = 12.7, 5.7 Hz, 1H, H-6), 4.10 (dd, *J* = 12.4, 1.8 Hz, 1H, H-6), 2.04 (s, 3H, COCH₃), 2.01 (s, 3H, COCH₃), 1.98 (s, 3H, COCH₃), 1.83 (s, 3H, COCH₃).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 170.0, 169.6, 169.4, 168.6, 148.4, 144.4, 142.0, 136.4, 132.4, 130.2, 126.4, 125.6, 125.4, 123.9, 121.5, 121.2, 119.7, 114.4, 84.0, 73.3, 72.0, 70.2, 67.5, 61.8, 20.5, 20.4, 20.3, 19.9.

HRMS (MALDI) *m/z*: calculated for C₃₀H₃₀N₄O₉S₂ [M]⁺ 654.1448; found 654.1450 (Δ = 0.3 ppm).

IR (cm⁻¹) ν 3455, 3373, 3091, 2947, 1742, 1618, 1501, 1443, 1365, 1212, 1032, 795.

1-(4-[5-(4-Aminophenyl)-2,2'-bithiophene]-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-2,3,6-tri-O-acetyl-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-β-D-glucopyranoside **61**



61

Chemical Formula: $C_{42}H_{46}N_4O_{17}S_2$

Molecular Weight: 942,96

Method A: 2,3,6-tri-O-acetyl-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl azide **57** (482 mg, 0.73 mmol, 1 eq) and 5-(4-Aminophenyl)-5'-(ethynyl)-2,2'-bithiophene **66** (225.9 mg, 0.80 mmol, 1.1 eq) were degassed under vacuum/argon atmosphere five times in a Schlenk tube. Then, a mixture (3:1, ratio v/v) of dry DMF (3.3 mL) and water (1.1 mL, previously degassed by argon bubbling) was added to the powders. Finally, sodium ascorbate (115 mg, 0.58 mmol, 0.8 eq) and copper sulfate pentahydrate (72 mg, 0.29 mmol, 0.4 eq) were introduced into the solution mixture which was stirred overnight and heated at 55 °C under argon atmosphere. A solution of EDTA (321 mg, 1.1 mmol, 1.5 eq, 0.2 M) diluted in NH_4OH (5.5 mL, 1 M) and ethyl acetate were poured into the mixture which was stirred for 2 h at room temperature. After stirring, the crude product was extracted with ethyl acetate, was washed with saturated NH_4Cl then brine, was dried over $MgSO_4$ and concentrated in vacuum. The crude material was purified using silica gel chromatography (PE:EtOAc, 6:4 to 3:7) to get an orange solid (449 mg, 65 %).

Method B: In a flask (10 mL), 1-(4-[5-(4-Nitrophenyl)-2,2'-bithiophene]1H-1,2,3-triazol-1-yl)-2,3,6-tri-O-acetyl-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-β-D-glucopyranoside **59** (180 mg, 0.18 mmol, 1 eq) was suspended in MeOH (8 mL, HPLC grade) and the solution was degassed with argon bubbling for 10 min. Then, Pd on activated carbon (10 mg, 9.25 μmol, 0.05 eq, 10 wt. %) was added into the mixture which was purged with hydrogen for 10 min. The reaction was stirred at room temperature overnight under hydrogen atmosphere. Ethyl acetate was added to solubilize better the reaction mixture which was filtered on celite under vacuum to remove palladium. The filtrate was concentrated in half *in vacuo* to be filtered two other times. The residue was purified using silica gel chromatography (PE:EtOAc, 3:7) to give an orange-brown solid (70 mg, 40 %).

Mp: 240-243 °C.

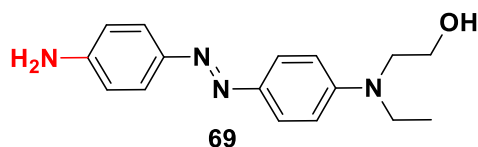
1H NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ 8.81 (s, 1H, H-triazole), 7.41 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, T_2), 7.34 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, Ar-H), 7.27 (t, $J = 3.5$ Hz, 2H, T_2), 7.19 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, T_2), 6.60 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, Ar-H), 6.34 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, H-1), 5.54 (t, $J = 9.3$ Hz, 1H, H-2), 5.49 (t, $J = 9.2$ Hz, 1H, H-3), 5.40 (s, 2H, NH_2), 5.26 (dd, $J = 3.5, 0.8$ Hz, 1H, H-4'), 5.21 (dd, $J = 9.6, 3.7$ Hz, 1H, H-3'), 4.91-4.85 (m, 2H, H-1', H-2'), 4.40 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H, H-6), 4.30-4.26 (m, 2H, H-5, H-5'), 4.07-4.02 (m, 3H, H-6, 2 X H-6'), 3.99 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H, H-4), 2.12 (s, 3H, $COCH_3$), 2.06 (s, 3H, $COCH_3$), 2.03 (s, 3H, $COCH_3$), 2.02 (s, 3H, $COCH_3$), 2.01 (s, 3H, $COCH_3$), 1.91 (s, 3H, $COCH_3$), 1.82 (s, 3H, $COCH_3$).

Partie expérimentale

¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 170.2, 169.9 (2C), 169.5, 169.3, 169.1, 168.7, 149.0, 144.5, 141.9, 136.4, 132.2, 130.1, 126.3, 125.6, 125.4, 123.8, 121.4, 120.8, 119.8, 114.0, 100.0, 83.8, 75.8, 74.4, 72.2, 70.4, 70.3, 69.8, 68.9, 67.1, 62.3, 60.9, 20.6, 20.5, 20.4 (2C), 20.3, 20.3, 20.0.

HRMS (MALDI) *m/z*: calculated for C₄₂H₄₆N₄O₁₇S₂ [M]⁺ 942.2293; found 942.2304 (Δ = 1.2 ppm).

IR (cm⁻¹) υ 3473, 3372, 2938, 1740, 1623, 1500, 1464-1442, 1366, 1213, 1041, 790.

Conclusion and Perspectives**Disperse Red 1 Unit****4-Amino-4'-[ethyl(2-hydroxyethyl)amino]azobenzene 69¹⁸⁴**

Chemical Formula: C₁₆H₂₀N₄O

Molecular Weight: 284,36

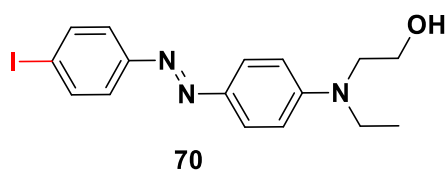
In a flask (250 mL), disperse Red 1 **68** (4 g, 12.7 mmol, 1 eq) was dissolved in a mixture (3:1, v/v) of THF (124 mL, HPLC grade) and H₂O (41 mL). Then, sodium sulfide (2.97 g, 38.2 mmol, 3 eq) was added to the solution mixture which was refluxed and stirred overnight. The reaction mixture was extracted with ethyl acetate, was washed with water then brine, was dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The crude material was purified by column chromatography on silica gel (PE:EtOAc, 5:5 to 2:8) to afford a red solid (2 g, 55 %).

Mp: 147-149 °C.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.79 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.73 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar-H), 6.79 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H, Ar-H), 6.73 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar-H), 3.92 (s, 2H, NH₂), 3.85 (q, *J* = 5.7 Hz, 2H, CH₂-OH), 3.56 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H, CH₂), 3.51 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 1.67 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H, OH), 1.22 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 149.8, 148.3, 146.2, 144.1, 124.5, 124.3, 115.0, 112.0, 60.5, 52.6, 46.0, 12.2.

HRMS (EI) *m/z*: calculated for C₁₆H₂₀N₄O [M]⁺ 284.1631; found 284.1638 (Δ = 2.5 ppm).

4-Iodo-4'-[ethyl(2-hydroxyethyl)amino]azobenzene 70

Chemical Formula: C₁₆H₁₈IN₃O

Molecular Weight: 395,24

In a flask (100 mL), toluene-4-sulfonic acid hydrate (4 g, 21.1 mmol, 3 eq) was added to a solution of 4-Amino-4'-[ethyl(2-hydroxyethyl)amino]azobenzene **69** (2 g, 7.03 mmol, 1 eq) in acetonitrile (30 mL, grade HPLC) and the mixture was cooled to 0 °C using an ice bath. In parallel, in another flask, a solution of sodium nitrite (970 mg, 14.1 mmol, 2 eq) and potassium iodide (2.91 g, 17.5 mmol, 2.5 eq) in water (5 mL) was prepared and was added dropwise into the reaction mixture. The volume of the solution doubled and a precipitation was observed during the addition. The reaction was stirred at 0 °C for 10 min, then was warmed to room temperature and stirred for 2 h. The precipitation disappeared after 1 h of stirring. The crude product was

¹⁸⁴ Wagner, L.; Raditoiu, V.; Raditoiu, A.; Ardeleanu, P.; Amariutei, V.; Raduly, M., *Revista de Chimie -Bucharest- Original Edition-* **2009**, *60*, 444-449.

extracted with ethyl acetate, was washed with water, aqueous NaHCO₃ (1 M), Na₂S₂O₃ (2 M) and brine, was then dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using a column chromatography on silica gel (PE:EtOAc, 5:5) to give a red solid (2.25 g, 80 %).

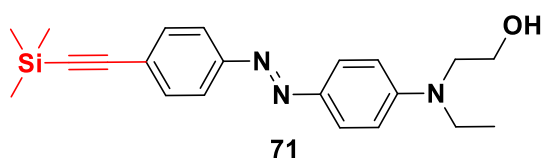
Mp: 104-106 °C.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.84 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H, Ar-H), 7.80 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, Ar-H), 7.57 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar-H), 6.78 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H, Ar-H), 3.86 (q, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH₂-OH), 3.57 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH₂), 3.52 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 1.74 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H, OH), 1.23 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 152.7, 150.9, 143.6, 138.2, 125.5, 124.1, 111.7, 95.4, 60.4, 52.5, 46.0, 12.2.

HRMS (EI) *m/z*: calculated for C₁₆H₁₈N₃O [M]⁺ 395.0489; found 395.0484 (Δ = 1.3 ppm).

4-(Trimethylsilylethynyl)-4'-[ethyl(2-hydroxyethyl)amino]azobenzene **71**¹⁸⁵



Chemical Formula: C₂₁H₂₇N₃OSi

Molecular Weight: 365,55

4-Iodo-4'-[ethyl(2-hydroxyethyl)amino]azobenzene **70** (2.25 g, 5.69 mmol, 1 eq), CuI (19 mg, 0.10 mmol, 0.018 eq) and Pd(PPh₃)₂Cl₂ (36 mg, 52.5 μmol, 0.0092 eq) were placed to a Schlenk flask (50 mL) and degassed under vacuum/argon atmosphere five times. Then, dry THF (80 mL) and triethylamine (7 mL, previously degassed by argon bubbling for 10 min) were added to the powders. Finally, trimethylsilylacetylene (1.67 g, 2.36 mL, 17.0 mmol, 3 eq) was introduced via syringe and the reaction mixture was stirred at room temperature overnight. The solvent was removed and the residue was purified by silica gel chromatography (PE: EtOAc, 5:5) to afford a red solid (1.90 g, 91 %).

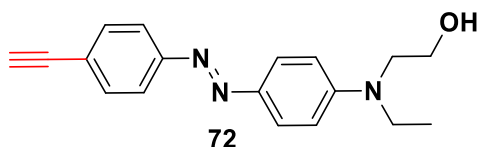
Mp: 145-146 °C.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.84 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.77 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar-H), 7.56 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar-H), 6.78 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H, Ar-H), 3.85 (q, *J* = 5.7 Hz, 2H, CH₂-OH), 3.57 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH₂), 3.52 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 1.75 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H, OH), 1.22 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH₃), 0.27 (s, 9H, TMS).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 152.7, 150.9, 143.8, 132.8, 125.5, 124.0, 122.2, 111.7, 105.2, 96.1, 60.4, 52.5, 46.0, 12.2, 0.1.

HRMS (EI) *m/z*: calculated for C₂₁H₂₇N₃OSi [M]⁺ 365.1917; found 365.1914 (Δ = 0.8 ppm).

¹⁸⁵ Colombo, A.; Dragonetti, C.; Marinotto, D.; Righetto, S.; Griffini, G.; Turri, S.; Akdas-Kilig, H.; Fillaut, J.-L.; Amar, A.; Boucekkine, A.; Katan, C., *Dalton Transactions* **2016**, 45, 11052-11060.

4-(Ethynyl)-4'-[ethyl(2-hydroxyethyl)amino]azobenzene 72¹⁸⁵

Chemical Formula: C₁₈H₁₉N₃O

Molecular Weight: 293,37

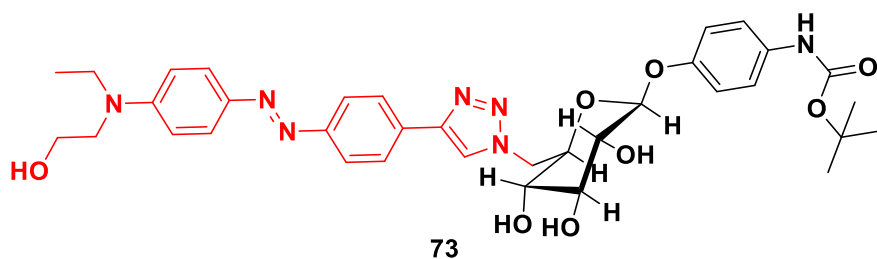
4-(trimethylsilylethyne)-4'-[ethyl(2-hydroxyethyl)amino]azobenzene **71** (1.90 g, 5.19 mmol, 1 eq) and K₂CO₃ (790 mg, 5.71 mmol, 1.1 eq) were placed into a Schlenk tube under argon atmosphere. Then, a mixture (3:1, v/v) of dry THF (60 mL) and MeOH (20 mL, HPLC grade, previously degassed by argon bubbling for 10 min) was added to the powders and the solution was stirred for 1 h at room temperature. K₂CO₃ was removed by filtration and the solvent was evaporated *in vacuo*. The crude material was purified using a short plug of silica gel (PE:EtOAc, 5:5) to afford a red solid (1.22 g, 80 %).

Mp: 115-116 °C.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.85 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.79 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar-H), 7.59 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar-H), 6.78 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H, Ar-H), 3.86 (q, *J* = 5.7 Hz, 2H, CH₂-OH), 3.57 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH₂), 3.51 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 3.18 (s, 1H, H-alkyne), 1.77 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, OH), 1.23 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 153.0, 150.9, 143.8, 133.0, 125.6, 122.9, 122.3, 111.7, 83.8, 78.8, 60.4, 52.5, 46.0, 12.2.

HRMS (EI) *m/z*: calculated for C₁₈H₁₉N₃O [M]⁺ 293.1522; found 293.1536 (Δ = 4.8 ppm).

4-tert-Butyl-N-phenylcarbamate-6-(4-(4'-[ethyl(2-hydroxyethyl)amino]azobenzene)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy-β-D-glucopyranoside 73

Chemical Formula: C₃₅H₄₃N₇O₈

Molecular Weight: 689,77

4-tert-Butyl-N-phenylcarbamate-6-azido-6-deoxy-β-D-glucopyranoside **43** (300 mg, 0.75 mmol, 1 eq) and 4-(ethynyl)-4'-[ethyl(2-hydroxyethyl)amino]azobenzene **72** (244 mg, 0.83 mmol, 1.1 eq) were degassed under vacuum/argon atmosphere five times in a Schlenk tube. Then, a mixture (3:1, ratio v/v) of dry DMF (3.4 mL) and degassed water (1.1 mL, argon bubbling for 10 min) was added to the powders. Finally, sodium ascorbate (119 mg, 0.60 mmol, 0.8 eq) and copper sulfate pentahydrate (75 mg, 0.30 mmol, 0.4 eq) were introduced into the solution mixture which was stirred overnight and heated at 45 °C under argon atmosphere. A solution of EDTA (350 mg, 1.20 mmol, 1.6 eq, 0.2 M) diluted in NH₄OH (6 mL, 1 M) and ethyl acetate were poured into the mixture which was stirred for 30 min at room temperature. The suspension was filtered under vacuum to get back a red precipitate. The filtrate was extracted with ethyl acetate, was washed with saturated aqueous NH₄Cl then brine, was dried over MgSO₄ and concentrated in vacuum. The precipitate was

purified on a short plug of silica gel and the crude material was purified by column chromatography on silica gel (EtOAc:MeOH:H₂O, 100:0:0 to 95:4.5:0.5) to get a red solid (366 mg, 70 %).

Mp: 209-211 °C.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.10 (s, 1H, NH), 8.28 (s, 1H, H-triazole), 7.83 (s, 4H, Ar-H), 7.77 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.21 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar-H), 6.84 (d, *J* = 9.4 Hz, 2H, Ar-H), 6.72 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H, Ar-H), 5.55 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H, OH-4), 5.42 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H, OH-2), 5.27 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H, OH-3), 4.87 (dd, *J* = 14.4, 2.0 Hz, 1H, H-6), 4.82 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H, OH_{Disperse Red1}), 4.79 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H-1), 4.42 (dd, *J* = 14.5, 9.6 Hz, 1H, H-6), 3.80 (td, *J* = 9.6, 2.0 Hz, 1H, H-5), 3.60 (q, *J* = 6.0 Hz, 2H, CH₂-OH), 3.53-3.47 (m, 4H, 2 X CH₂), 3.31-3.25 (m, 2H, H-2, H-3), 3.22-3.17 (m, H-4), 1.39 (s, 9H, 3 X CH₃), 1.15 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₃).

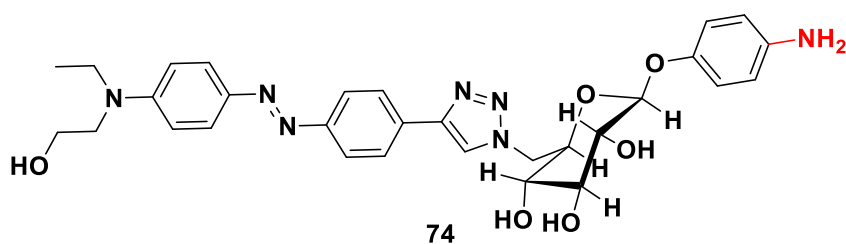
¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 152.7, 151.8, 150.6, 145.8, 142.3, 134.1, 131.5, 125.9, 125.0, 122.4, 122.4, 119.1, 116.8, 111.1, 100.6, 78.7, 76.1, 74.4, 73.2, 71.4, 58.4, 52.1, 51.2, 45.1, 28.1, 12.0.

HRMS (MALDI) *m/z*: calculated for C₃₅H₄₃N₇O₈ [M]⁺ 689.3167; found 689.3174 (Δ = 1.0 ppm).

m/z: calculated for C₃₅H₄₃N₇O₈Na [M+Na]⁺ 712.3064; found 712.3075 (Δ = 1.5 ppm).

IR (cm⁻¹) ν 3342, 2974, 2926, 2900, 1697, 1598, 1511, 1391, 1355, 1216, 1158, 1140, 1050, 820.

4-Aminophenyl-6-(4-(4'-[ethyl(2-hydroxyethyl)amino]azobenzene)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy-β-D-glucopyranoside 74



Chemical Formula: C₃₀H₃₅N₇O₆

Molecular Weight: 589,65

4-*tert*-Butyl-*N*-phenylcarbamate derivative **73** (366 mg, 0.53 mmol, 1 eq) was placed in Schlenk tube and degassed under vacuum/argon atmosphere five times. Then, dry DCM (3.6 mL) and trifluoroacetic acid (605 mg, 0.40 mL, 5.3 mmol, 10 eq) were added and the reaction mixture was stirred overnight at room temperature under argon atmosphere. A solution of NH₄OH (10 %) was introduced into the solution until there was no more smoke and an orange precipitate was appeared. Then, ethyl acetate was added to the biphasic mixture in order to solubilize the impurities. Finally, the suspension was filtered to get back a red solid (294 mg, 94 %).

Mp: 249-251 °C.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.42 (s, 1H, H-triazole), 7.96-7.88 (m, 4H, Ar-H_{Disperse Red1}), 7.78 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, Ar-H_{Disperse Red1}), 6.84 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H, Ar-H_{Disperse Red1}), 6.56 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar-H), 6.31 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar-H), 5.52 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H, OH-4), 5.35 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H, OH-2), 5.23 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H, OH-3), 4.87-4.81 (m, 2H, H-6, OH), 4.69 (s, 2H, NH₂), 4.56 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, H-1), 4.44 (dd, *J* = 14.2, 9.2 Hz, 1H, H-6), 3.72 (td, *J* = 9.4, 1.6 Hz, 1H, H-5), 3.64-3.58 (m, 2H, CH₂-OH), 3.54-3.48 (m, 4H, 2 X CH₂), 3.31-3.13 (m, 3H, H-2, H-3, H-4), 1.15 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH₃).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ 151.8, 150.6, 148.3, 145.7, 143.9, 142.3, 131.6, 125.9, 125.0, 122.5, 118.2, 114.4, 111.2, 102.3, 76.1, 74.3, 73.3, 71.4, 58.4, 52.1, 51.3, 45.1, 12.1.

HRMS (MALDI) m/z : calculated for $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{N}_7\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 590.2721; found 590.2727 ($\Delta = 1.0$ ppm).

IR (cm^{-1}) ν 3311, 2956-2872, 1679, 1598, 1510, 1391, 1346, 1209, 1133, 1056, 804.

Surface coverage of an electroactive molecule

The electrochemical surface coverage (Γ , mol/ cm^2) can be calculated from the electrical charge consumed during the oxidation or the reduction of an attached redox molecule (Q_F) according to the equation (1):

$$\Gamma = \frac{Q_F}{n * F * S} \quad (1)$$

n is the number of electrons consumed by each molecule, F is the Faraday Constant ($F = 96\,485.34$ C/mol) and S is the surface of the glassy carbon electrode (3 mm diameter) equal to 0.0706 cm^2 . The electric charge Q_F consumed by molecules can be obtained by subtracting the capacitive charge to the overall charge obtained by integration of the cyclic voltammogram.

Bacterial anti-adhesion Assay

Screen-Printed Electrodes and Potentiostat

96X screen-printed carbon electrode microplate (ref. DRP-96X110), a specific connector (ref. CONNECTOR96X), and multi potentiostat (ref. DRP-STAT8000P) were purchased from DROPSSENS Company (Oviedo, Spain).

This ELISA microplate has 96 polystyrene wells which are allocated over twelve columns (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12) and eight lines (A, B, C, D, E, F, G, H). Every well can contain a maximum volume of 300 μL . A screen-printed electrochemical array, composed of 96 three-electrode electrochemical cells with a silver reference electrode, a carbon working electrode (3 mm in diameter) and a carbon counter electrode, was glued on the microplate. So, there is an electrochemical cell at the bottom of each well. On the backside of the screen-printed electrochemical array, carbon-plated contact paths were printed with three contacts for each well corresponding to the working electrode, counter electrode and the reference electrode. Finally, the microplate was placed on a specific connector acting as an interface between the screen-printed electrochemical array and the potentiostat. The measurements can be carried out on a single column at the time and up to eight wells can be selected on the same column with the same technique.

Electrodeposition of 4-Aminophenyl-6-(4-ferrocenyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy- β -D-glucopyranoside **15** in wells of the microplate

A solution of 4-Aminophenyl-6-(4-ferrocenyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy- β -D-glucopyranoside **15** (1 mM) in artificial sea water (36 g/L, ASW) in the presence of sodium hydroxide solution (20 eq, 1 M), at pH = 10.3, was prepared in a Falcon tube. The sample was sonicated to solubilize the mixture.

The microplate was fixed to the specific connector to start the electrografting directed by DROPVIEW software. 200 μL of ferrocene solution were poured into the eight wells for the columns 2 and 3 using multi-channel micropipette. The ferrocene derivative was grafted by cyclic voltammetry (5 CVs) from -0.3 V to +0.8 V at 100 mV/s. After the modification of the surface, the solution was removed and was rinsed by ASW three times. An electrochemical response was done in ASW (36 g/L), at pH = 8.3, to check the grafting by

cyclic voltammetry (10 CVs) from -0.3 V to + 0.6 V at 100 mV/s. Finally, ASW was removed to start the anti-adhesion tests. The wells of the column 1 have not been modified.

Väätanen Nine Salt Solution (VNSS)

VNSS mixture was prepared from different salts and organic molecules as described below and was sterilized by autoclave. The pH of this solution is around 7.6. This medium is used for the bacterial growth because of its nutrients intake such as carbon (CO₂), nitrogen, phosphorous, sulfur and mineral salt (Tableau 1).

Components	Concentration (g/L)
NSS mixture	
NaCl	17.6
Na ₂ SO ₄	1.470
NaHCO ₃	0.008
KCl	0.250
KBr	0.040
MgCl ₂ .6H ₂ O	1.870
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.410
SrCl ₂ .6H ₂ O	0.01
H ₃ BO ₃	0.01
VNSS mixture	
Peptone	1
Yeast extract	0.5
Glucose	0.5
Soluble starch	0.5
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01
Na ₂ HPO ₄	0.01

Tableau 1: Chemical composition of the VNSS culture medium.

Artificial Sea Water (ASW)

Sea salt was purchased from Sigma Aldrich (Saint Quentin, France) and was dissolved in ultra-pure water to give the artificial sea water (36 g/L) which was also sterilized by autoclave. This solution is used because it represents the marine medium without any nutritional source in carbon in order to provide a “stressful condition” in bacteria which will result in bacterial adhesion (Tableau 2).

Components	Concentration (mg/L)
Chloride (Cl ⁻)	19290
Sodium (Na ⁺)	10780
Sulphate (SO ₄ ²⁻)	2660
Magnesium (Mg ²⁺)	1320
Potassium (K ⁺)	420
Calcium (Ca ²⁺)	400
Bicarbonate (HCO ₃ ⁻)	200
Bromide (Br ⁻)	56
Strontium (Sr ²⁺)	8.8
Boron (H ₃ BO ₃)	5.6
Fluoride (F ⁻)	1
Iodide (I ⁻)	0.24
Lithium (Li ⁺)	0.3
Trace	0.5

Tableau 2: Chemical composition of sea salt.

Anti-adhesion assay in the 96X screen-printed carbon electrode microplate

The selected bacterial strain to realize the anti-adhesion test was TC8 “Toulon Collection 8”, a *Pseudoalteromonas lipolytica* which was isolated from Mediterranean Sea around the Toulon Bay. This bacterial strain was chosen because it is cultivable, it is sensitive to different surface properties and it is able to adhere on the polystyrene (PS) surface.

The bacterial strain was preserved at -80 °C in a glycerol medium inside a cryotube. TC8 was then spread sterilely on a VNSS medium inside a Petri dish which was kept at 20 °C for four days. After, TC8 was taken using a loop, was diluted in VNSS medium (10 mL) inside a sterile vial which was stirred and was incubated at 20 °C, at 120 rpm overnight. The next day, the optical density (OD) was measured via spectrophotometer and the preculture was diluted in VNSS to get an optical density equal to 0.1. These vials were incubated at 20 °C, at 120 rpm. The optical density was checked every hour for 6 h to follow the bacterial growth. When the optical density is between 0.7 and 0.9, the bacterial growth is between the exponential and the stationary phases. Consequently, the bacterial suspension was moved into a Falcon tube to go to the centrifuge for 15 min. The culture supernatant was removed to be replaced by artificial sea water (ASW, 36 g/L) with the same volume. The optical density was measured again and the bacterial suspension was diluted in artificial sea water to reach an optical density equal to 0.3 to start the seeding in the microplate (Figure 1).

200 µL of bacterial suspension were poured in the first four wells of the columns 1, 2 and 3 whereas 200 µL of artificial seawater (ASW, 36 g/L) were introduced in the last four wells of the columns 1, 2 and 3.

The microplate was placed on specific connector linked to the potentiostat and was incubated at 20 °C, at 120 rpm. Potential recurrent scans between -0.3 V and +0.6 V at 100 mV/s were applied on the column 2 for 16 h. Once the test is finished, the bacterial suspension was removed and the wells were rinsed three times by sterile NaCl solution (36 g/L).

200 µL of SYTO 61 (1 µM) in sterile NaCl solution (36 g/L) were introduced in each well for the columns 1, 2 and 3 in the absence of light. The microplate was covered with aluminum foil and was incubated at 20 °C, at 120 rpm for 20 min. Fluorescence intensity (FI) was measured ($\lambda_{exc} = 620$ nm, $\lambda_{em} = 650$ nm) using an Infinit 200pro microplate fluorescence reader (Tecan, Lyon, France) to evaluate the adhesion rate at the bottom of each well.

In parallel, a polystyrene plate (PS; Nunc, Fisher Scientific, Illkirch, France) was used as a reference. 200 µL of bacterial suspension were poured in the wells (2, 3, 4, 5, 6 and 7) of the columns 2 and 3 whereas 200 µL of artificial seawater (ASW, 36 g/L) were introduced in the columns 1 and 4 (all the wells) and in the wells (1 and 8) of the columns 2 and 3. This microplate was incubated at 20 °C, at 120 rpm for 16 h and fluorescence measurements were done as described above.

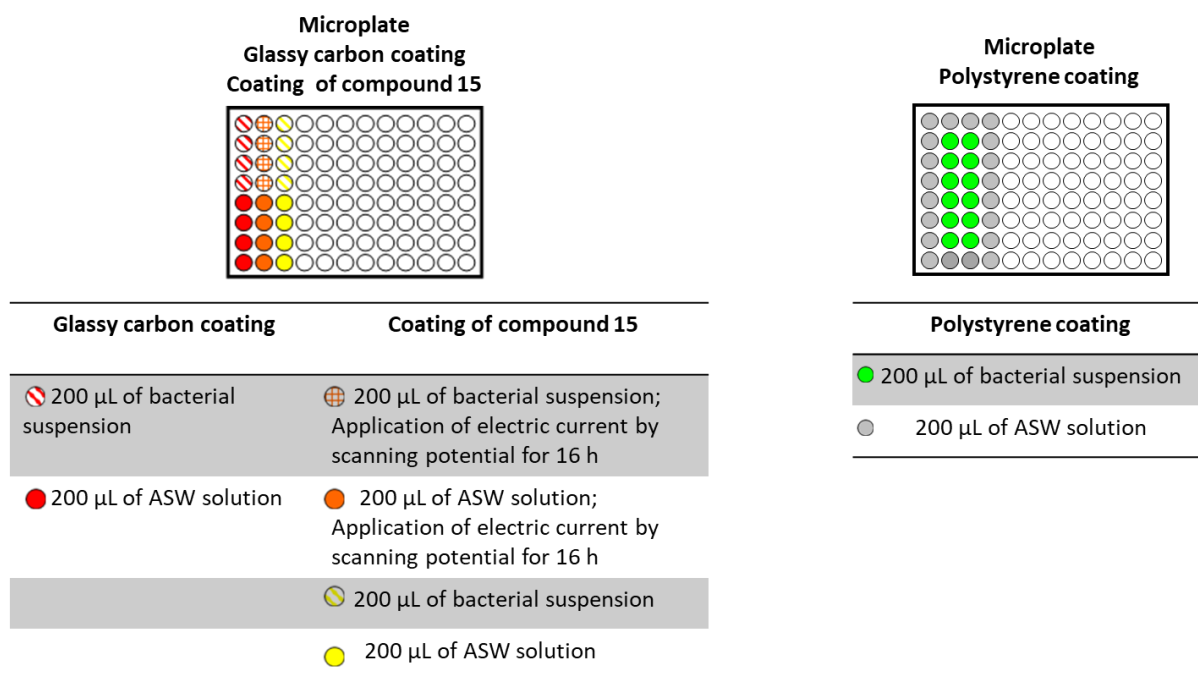


Figure 1: Seeding of 96X screen-printed carbon electrode microplate (on the left) and polystyrene microplate (on the right).

Toxicity assay

The goal of the toxicity assay is to know if the chemical compounds released in the bacterial suspension from the coating are able to kill bacteria.

100 μ L of leachate were taken in the last four wells of the columns 1, 2 and 3 from 96X screen-printed carbon electrode microplate before throwing out the bacterial solution and rinsing with sterile NaCl solution (36 g/L). These leachates were placed in another polystyrene microplate in the last four wells of the columns 1, 2 and 3. Then, 100 μ L of bacterial suspension with an optic density equal to 0.6 were introduced in the wells (5, 6, 7 and 8) of the columns 1, 2 and 3 (Figure 2). The polystyrene microplate was incubated at 20 °C, at 120 rpm for 1 h. A solution (live/dead) of SYTO 9 (18 μ L) and propidium iodide (18 μ L, PI) in NaCl (5.964 mL, 36 g/L) was prepared as marker for the bacteria [SYTO 9 and PI are commercial solutions purchased in a LIVE/DEAD *BacLight* Bacterial Viability Kit from ThermoFisher Scientific. SYTO 9 nucleic acid stain (3.34 mM) and PI (20 mM) are dissolved in DMSO (300 μ L) in different vials]. SYTO 9 goes into the live and dead bacteria whereas PI enters only in the dead bacteria. 100 μ L of live/dead solution were introduced in the quoted well above. The microplate was covered with aluminum foil and was incubated at 20 °C, at 120 rpm for 20 min.

FI was measured for SYTO 9 ($\lambda_{exc} = 470$ nm, $\lambda_{em} = 515$ nm) and PI ($\lambda_{exc} = 538$ nm, $\lambda_{em} = 617$ nm) using the Infnit 200pro microplate fluorescence reader (Tecan, Lyon, France). The weaker the ratio SYTO/IP is, the more toxic the coating is.

The toxicity of the culture supernatant was compared to different concentrations in ethanol (0 %, 2.5 %, 5 %, 10 %, 20 %, 35 %, 50 %) used as a toxicity reference. On the same polystyrene microplate used for the toxicity assays, 100 μ L of a specific concentration in ethanol were introduced in three wells of the columns 8, 9, 10, 11 (wells 2, 3, 4 or wells 5, 6, 7). 200 μ L of artificial sea water (ASW, 36 g/L) were introduced in the columns 8, 9, 10 and 11 (wells 1 and 8). 100 μ L of bacterial suspension with an optical density equal to 0.6 were added into the columns 8, 9, 10, 11 (wells 2, 3, 4, 5, 6, 7) and the microplate was incubated at 20 °C, at 120 rpm for

Partie expérimentale

1 h (Figure 2). 100 μL of live/dead solution were introduced in each well for 20 min in the absence of the light and fluorescence intensity was measured as described above.

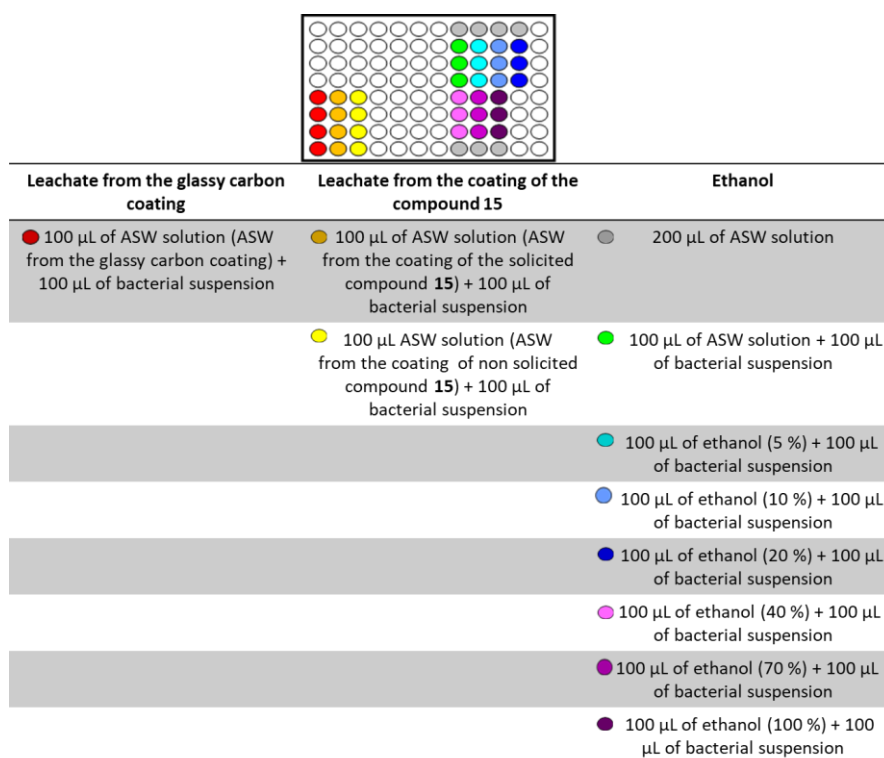


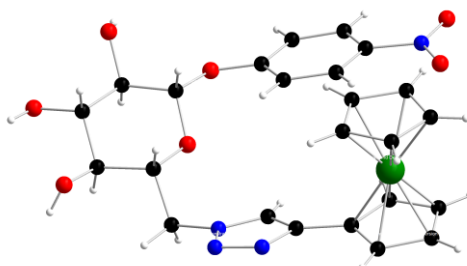
Figure 2: Schematic representation of microplate for toxicity assay.

ANNEXES

Annexes

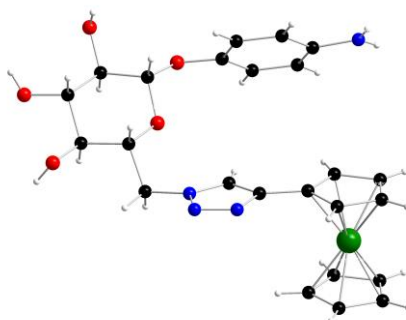
Annexe 1: Structure refinement and crystallographic data

4-Nitrophenyl-6-(4-ferrocenyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy- β -D-glucopyranoside 14

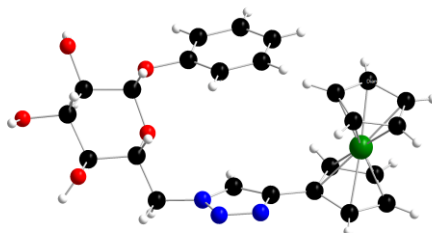


Empirical formula	$C_{25}H_{30}FeN_4O_9$ Or $C_{24}H_{24}FeN_4O_7, CH_4O, H_2O$
Formula weight	586.38
Temperature	149.9(3) K
Wavelength	1.54184 Å
Crystal system, space group	Orthorhombic, P 21 21 21
Unit cell dimensions	a = 7.38700(10) Å alpha = 90 deg. b = 9.4146(2) Å beta = 90 deg. c = 36.6094(6) Å gamma = 90 deg.
Volume	2546.02(8) Å ³
Z, Calculated density	4, 1.530 Mg/m ³
Absorption coefficient	5.294 mm ⁻¹
F(000)	1224
Crystal size	0.370 x 0.161 x 0.076 mm
Theta range for data collection	4.832 to 76.382 deg.
Limiting indices	-9 ≤ h ≤ 7, -11 ≤ k ≤ 9, -32 ≤ l ≤ 45
Reflections collected / unique	7709 / 4688 [R(int) = 0.0339]
Completeness to theta = 76.000	98.5 %
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	1.00000 and 0.55701
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	4688 / 0 / 360
Goodness-of-fit on F ²	1.025
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0311, wR2 = 0.0760 [4526 Fo]
R indices (all data)	R1 = 0.0336, wR2 = 0.0794
Absolute structure parameter	-0.007(3)
Largest diff. peak and hole	0.323 and -0.301 e.Å ⁻³

4-Aminophenyl-6-(4-ferrocenyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy- β -D-glucopyranoside
15



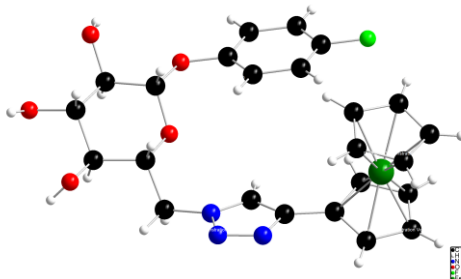
Empirical formula	C ₂₄ H ₂₆ FeN ₄ O ₅
Formula weight	506.34
Temperature	150.0(5) K
Wavelength	1.54184 Å
Crystal system, space group	Orthorhombic, P 21 21 21
Unit cell dimensions	a = 5.64600(10) Å alpha = 90 deg. b = 11.2718(2) Å beta = 90 deg. c = 34.7200(5) Å gamma = 90 deg.
Volume	2209.60(6) Å ³
Z, Calculated density	4, 1.522 Mg/m ³
Absorption coefficient	5.863 mm ⁻¹
F(000)	1056
Crystal size	0.285 x 0.213 x 0.089 mm
Theta range for data collection	2.545 to 76.354 deg.
Limiting indices	-7 ≤ h ≤ 6, -14 ≤ k ≤ 13, -27 ≤ l ≤ 41
Reflections collected / unique	10576 / 4534 [R(int) = 0.0350]
Completeness to theta = 76.354	98.4 %
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	1.00000 and 0.39985
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	4534 / 0 / 311
Goodness-of-fit on F ²	1.070
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0324, wR2 = 0.0816 [4394 Fo]
R indices (all data)	R1 = 0.0351, wR2 = 0.0853
Absolute structure parameter	-0.006(2)
Largest diff. peak and hole	0.341 and -0.360 e.Å ⁻³

Phenyl-6-(4-ferrocenyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy- β -D-glucopyranoside 29

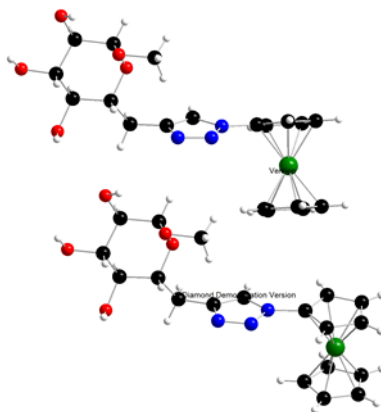
Empirical formula	$C_{25}H_{29}FeN_3O_6$ Or $C_{24}H_{25}FeN_3O_5, CH_4O$
Formula weight	523.36
Temperature	150.0(2) K
Wavelength	1.54184 Å
Crystal system, space group	Orthorhombic, P 21 21 21
Unit cell dimensions	a = 7.2219(2) Å alpha = 90 deg. b = 8.0816(2) Å beta = 90 deg. c = 39.3464(9) Å gamma = 90 deg.
Volume	2296.43(10) Å ³
Z, Calculated density	4, 1.514 Mg/m ³
Absorption coefficient	5.680 mm ⁻¹
F(000)	1096
Crystal size	0.126 x 0.034 x 0.022 mm
Theta range for data collection	4.495 to 72.681 deg.
Limiting indices	-8 <= h <= 7, -9 <= k <= 9, -44 <= l <= 47
Reflections collected / unique	8346 / 4400 [R(int) = 0.0296]
Completeness to theta = 72.681	98.4 %
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	1.00000 and 0.77166
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	4400 / 0 / 321
Goodness-of-fit on F ²	1.061
Final R indices [I > 2sigma(I)]	R1 = 0.0299, wR2 = 0.0711 [4262 Fo]
R indices (all data)	R1 = 0.0315, wR2 = 0.0718
Absolute structure parameter	0.002(2)
Largest diff. peak and hole	0.310 and -0.341 e.Å ⁻³

4-Fluorophenyl-6-(4-ferrocenyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy- β -D-glucopyranoside

30



Empirical formula	$C_{25}H_{28}FFeN_3O_6$ Or $C_{24}H_{24}FFeN_3O_5, CH_4O$
Formula weight	541.35
Temperature	150.0(1) K
Wavelength	1.54184 Å
Crystal system, space group	Monoclinic, P 21
Unit cell dimensions	a = 7.9733(2) Å alpha = 90 deg. b = 7.1751(2) Å beta = 90.648(2) deg. c = 20.4219(6) Å gamma = 90 deg.
Volume	1168.25(6) Å ³
Z, Calculated density	2, 1.539 Mg/m ³
Absorption coefficient	5.668 mm ⁻¹
F(000)	564
Crystal size	0.207 x 0.089 x 0.038 mm
Theta range for data collection	4.330 to 72.533 deg.
Limiting indices	-9 ≤ h ≤ 9, -8 ≤ k ≤ 8, -22 ≤ l ≤ 24
Reflections collected / unique	4410 / 3224 [R(int) = 0.0274]
Completeness to theta = 70.000	98.3 %
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	1.00000 and 0.80543
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	3224 / 1 / 330
Goodness-of-fit on F ²	1.084
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0377, wR2 = 0.0920 [3080 Fo]
R indices (all data)	R1 = 0.0402, wR2 = 0.0939
Absolute structure parameter	0.004(6)
Largest diff. peak and hole	0.488 and -0.251 e.Å ⁻³

Methyl-6-(4-ferrocenyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-6-deoxy- α -D-glucopyranoside 31

Empirical formula	C ₁₉ H ₂₃ FeN ₃ O ₅
Formula weight	429.25
Temperature	150.0(1) K
Wavelength	1.54184 Å
Crystal system, space group	Monoclinic, C 2
Unit cell dimensions	a = 48.634(6) Å alpha = 90 deg. b = 5.7205(3) Å beta = 95.447(8) deg. c = 13.3273(9) Å gamma = 90 deg.
Volume	3691.1(5) Å ³
Z, Calculated density	8, 1.545 Mg/m ³
Absorption coefficient	6.884 mm ⁻¹
F(000)	1792
Crystal size	0.304 x 0.122 x 0.033 mm
Theta range for data collection	3.331 to 72.669 deg.
Limiting indices	-59 ≤ h ≤ 57, -6 ≤ k ≤ 7, -15 ≤ l ≤ 16
Reflections collected / unique	10919 / 5598 [R(int) = 0.0495]
Completeness to theta = 72.669	98.0 %
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	1.00000 and 0.57159
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	5598 / 1 / 513
Goodness-of-fit on F ²	1.026
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0510, wR2 = 0.1354 [5010 Fo]
R indices (all data)	R1 = 0.0560, wR2 = 0.1422
Absolute structure parameter	-0.022(5)
Largest diff. peak and hole	0.854 and -0.519 e.Å ⁻³

Annexe 2: AFM principle

Atomic force microscopy (AFM) was developed in 1985 by Gerd Binnig and Christoph Gerber from the IBM research laboratory in Zurich in collaboration with Calvin Quate from the Stanford University of California. AFM allows to obtain the morphology in 3D of a material at the nanometric scale, by scanning the sample surface with a probe whose the dimensions are nanometrics. The AFM is based on interatomic interactions (attractive/repulsive forces) between the atoms of the sample surface and the probe. This latter consists of a tip in silicon or silicon nitride fixed on a cantilever. The interaction (sample/probe) is measured via a laser beam reflected on the top of the cantilever towards a photodiode (Figure 3). Depending on the position of the laser beam on the photodiode during the acquisition, we can then obtain a 3D representation of the surface. Fine and tiny displacements in x , y , z are made possible due to piezoelectric motors. In x , y the scan range can be from a few nanometers to a hundred microns, according to the device. The sensitivity in z is of the order of the nanometer fraction and the displacement in z can be up to 6 microns.

There are 3 main modes in AFM:

- *Contact mode*: the tip comes into direct contact with the surface to be studied.
- *Oscillating mode* or better known as *Tapping mode*: the tip has an oscillating movement and intermittently comes into contact with the sample.
- *Oscillating mode without contact* tip oscillates but never comes into contact with the sample.

Scratching: All experiments were performed under ambient conditions. The deposited film was removed in a small sample area by scratching the surface in contact mode with the AFM probe by applying a strong force on the sample. The scratched area was “read” at a larger scale using the tapping mode. The obtained scratch profile is then exploited to extract the layer thickness from the whole scratched area to have an optimal statistic. The thickness was calculated according to a mathematical function (Edge Height, Gwyddion) applied to this profile and error on the thickness is given by this adjustment.

Probes: typically, silicon probes purchased from μ -Mash according to the AFM mode (scratching in contact mode with a low resonance frequency < 40 kHz and a low force constant < 0.8 N/m, and imaging the scratch in tapping mode with a high resonance frequency equal to 325 kHz and medium force constant equal to 40 N/m, typically).

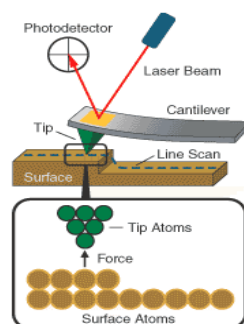


Figure 3: Schematic representation of AFM principle.

Annexe 3: Pyrolyzed Photoresist Film (PPF) preparation

PPF was used for its high smoothness as a carbon electrode (sp^2 -bonded carbon) in an electrochemical cell in order to determine the thickness of an electrografted organic molecules layer using AFM by scratching. PPF preparation is not expensive and was carried out in several steps as described in the literature.¹⁸⁶ The first step consisted to remove the protective film of a silicon wafer. Then, the silicon wafer was pre-cut in a square (1.5 cm X 1.5 cm) using a diamond tip and was sonicated in successive baths of acetone, methanol, and isopropyl alcohol before being dried with nitrogen gas. A photoresist film was spin-coated on the silicon wafer at 3500 rpm for 30 s. Once the wafer was covered with resin, it was soft-baked at 100 °C for 6 min, then was cooled to room temperature before putting another layer of photoresist film by spin-coating at 4500 rpm for 30 s. The modified wafer was soft-backed again at 100 °C for 6 min and was cooled to room temperature. The photoresist-coated wafer was placed into a furnace inside a quartz tube under gas atmosphere (95 % nitrogen, 5 % hydrogen) during the heating and cooling phases of pyrolysis (flow rate = 0.5 L.min⁻¹). The furnace took times to reach the maximum temperature equal to 1125 °C which was kept for 1 h. After the furnace was cooled to room temperature, the wafer was taken and was sonicated for 3 s in different baths of acetone, methanol, and isopropyl alcohol. Finally, it was dried with nitrogen gas and stored under a glovebox.

¹⁸⁶ Brooksby, P. A.; Downard, A. J., *Langmuir* **2004**, *20*, 5038-5045.

Annexe 4: X-Ray Photoelectron Spectrometry (XPS) principle

XPS was developed in 1960s by a Swedish physicist, Kai Siegbahn, in the Uppsala University. The goal of this analytical technique is to determine the quantitative atomic composition and the chemical composition of a surface (atomic percentage, oxidation state, chemical bond...). The principle consists to irradiate a sample with monochromatic X-Ray source under vacuum which allows the electrons to pass to an excited state before being emitted with a certain kinetic energy which is specific to the origin of the electron. It means that the kinetic energy depends on the kind of atom, the orbital and the chemical environment of the atom (Figure 4). Only core electrons are emitted outside the atom. Therefore, the hydrogen and helium atoms cannot be detected because they have only valence electrons. The photon energy ($h\nu$) is delivered to the electron in the form of kinetic energy (E_c) and binding energy (E_l) to destroy the link between the electron and the atom, which is given by the Einstein equation (1):

$$E_l = h\nu - E_c \quad (1)$$

h is the Planck constant equal to $6.626\ 070\ 15 \times 10^{-34}$ J.S and ν represents the frequency.

Another phenomenon can be also observed. When an electron is excited by a photon, this electron is released from the atom through the kinetic energy. In the atom, another electron from the outside layer can replace the electron which is gone and a photon is then produced. This photon can be absorbed by an electron which is going to be excited and emitted outside the atom. This electron is the Auger electron.

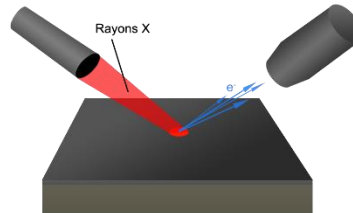


Figure 4: Schematic representation of X-Ray photoelectron spectrometry (XPS) principle.

Annexe 5: Water Contact Angle Principle

The measure of a contact angle allows to evaluate the capacity of a liquid to wet the substrate without damaging the surface. The principle consists to deposit a drop of liquid on the substrate, fixed on a platform, using a syringe. A camera allows to record the profile of the drop in order to a software can calculate the contact angle values.

The shape of the droplet is defined by the contact angle θ (deg), which depends on the surface tension of the liquid γ_L ($\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$), the surface energy of the solid γ_S ($\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$) and the solid/liquid interfacial energy γ_{SL} ($\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$) as described in the Figure 5 and in the equation (2):

$$\gamma_L \cos \theta = \gamma_S - \gamma_{SL} \quad (2)$$

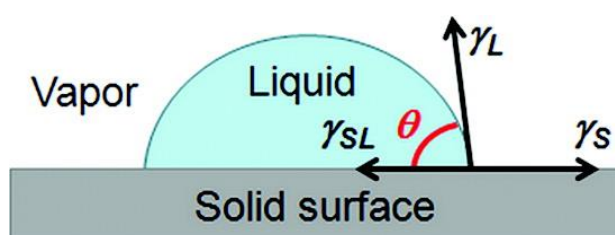


Figure 5: Young's theory describing the equilibrium condition of a liquid droplet surrounded by its vapor and placed in contact with a smooth solid surface.¹⁸⁷

If the liquid used is water and if $\theta_w < 90^\circ$, the surface is wettable and hydrophilic whereas if $\theta_w > 90^\circ$, the surface is not wettable and it is hydrophobic. The surface is considered as superhydrophobic when $\theta_w > 150^\circ$. Furthermore, the weaker water contact angle is, the stronger interaction between the substrate and water is.

¹⁸⁷ Lejars, M.; Margailan, A.; Bressy, C., *Chemical Reviews* **2012**, *112*, 4347-4390.

Synthèses et Caractérisations de Glucides Électrostimulables pour des Applications Antifouling

Mots clés : Glucide, Système conjugué, Fonctionnalisation de surface, Amine, Sel de diazonium, Carbone vitreux, Stimulation électrique, Protéines, Bactéries, Test anti-adhésion bactérienne, Antifouling.

Résumé : Les bio-salissures marines représentent l'accumulation indésirable d'organismes biologiques sur les surfaces de structures immergées dans l'eau de mer. Malheureusement, ce phénomène naturel a de sérieuses conséquences sur les plans économiques, environnementaux et matériels. Depuis l'interdiction de certains biocides dans les peintures antisalissures (en particulier le TBT en janvier 2008) à cause de leur toxicité envers des espèces marines non-ciblées et de leur accumulation dans l'environnement marin, la recherche a mis l'accent sur le développement de nouveaux revêtements antifouling efficaces, durables et respectueux de l'environnement sans relargage d'espèces toxiques. Ainsi, les travaux de cette thèse portent sur la fonctionnalisation de carbone vitreux par des glucides reliés à des systèmes conjugués électrostimulables via un lien triazole pour développer des surfaces à activité antifouling. En effet, ce type de revêtement a été

conçu pour intervenir dans les premières étapes du biofouling. Tout d'abord, le glucide, très hydrophile, devrait lutter contre la formation du film conditionnant en s'entourant d'une barrière aqueuse résistante aux protéines. D'autre part, la modification de l'état de charge de la surface en continu par application d'un courant électrique sur le système conjugué électroactif devrait perturber la colonisation bactérienne retardant l'installation du biofilm marin. Notre étude repose donc sur la synthèse et l'immobilisation d'un ensemble de glucides électrostimulables sur une surface de carbone vitreux par oxydation de l'amine aromatique en milieu organiques et aqueux. Un test microbiologique a été réalisé sur un des revêtements glucidiques en présence de la souche bactérienne TC8 dans les puits d'une microplaque contenant des cellules électrochimiques reliées à un potentiostat. La stimulation électrique de ce revêtement a permis d'améliorer ses propriétés antibactériennes.

Syntheses and Characterizations of Electrostimulable Carbohydrates for Antifouling Applications

Keywords: Carbohydrate, Conjugated system, Surface functionalization, Amine, Diazonium salt, Glassy carbon, Electrical stimulation, Proteins, Bacteria, Anti-bacterial assay, Antifouling.

Abstract: Marine biofouling represents the undesirable accumulation of biological organisms on the surfaces of structures submerged in seawater. Unfortunately, this natural phenomenon has serious economic, environmental and material consequences. Since the ban of some biocides in antifouling paints (TBT in January 2008) because of their toxicity on the nontargeted marine species and their accumulation in the marine environment, research has focused on the development of new efficient, durable and environmentally friendly antifouling coatings without releasing toxic species. Thus, the work of this thesis deal with the functionalization of glassy carbon surface by carbohydrates linked to an electrostimulable conjugated system via a triazole link in order to develop surfaces with antifouling activity. Indeed, this kind of coating was designed to intervene in the first steps of biofouling.

First, the carbohydrate, which is very hydrophilic, should fight against the formation of the conditioning film by surrounding itself with an aqueous barrier resistant to proteins. On the other hand, the continuous modification of charge state by applying an electric current to the electroactive conjugated system is expected to disrupt the bacterial colonization delaying the installation of marine biofilm. Our study is therefore based on the synthesis and the immobilization of electrostimulable carbohydrates on a glassy carbon surface by aromatic amine oxidation in organic and aqueous media. A microbiological test was carried out on one of the carbohydrate coatings in the presence of the TC8 bacterial strain in the wells of a microplate containing electrochemical cells connected to a potentiostat. Electrical stimulation of this coating allowed to improve its antibacterial properties.