

Université de Montréal

**Synthèse et étude d'architectures complexes à base de
poly(lactide) et de poly(2-isopropyl-2-oxazoline) pour des
applications biomédicales**

par

Jean-Richard BULLET

Département de Chimie

Faculté des Arts et des Sciences

Thèse présentée à la Faculté des Études Supérieures et Postdoctorales

en vue de l'obtention du grade de

Philosophiae Doctor (Ph.D) en Chimie

Décembre 2016

© Bullet, 2016

Résumé

Le traitement du cancer est l'un des plus grands défis en chimie médicinale moderne. La majorité des traitements utilisés repose sur la chimiothérapie, impliquant l'emploi de molécules bioactives cytotoxiques. Bien qu'efficaces, ces molécules présentent, pour la plupart, des désavantages notoires tels que le manque de spécificité cellulaire et une solubilité limitée en phase aqueuse. Une façon de remédier aux problèmes exposés est de solubiliser ces molécules au sein de matrices polymères. Il existe différents types de matrices qui sont : les liposomes, les micelles, les nanosphères, les nanocapsules, les dendrimères (et les polymères en étoile), et les polymères conjugués et linéaires. Dans cette thèse, nous faisons l'étude de deux matrices polymères potentielles composées de matériaux biocompatibles : le polylactide et la poly(2-isopropyl-2-oxazoline).

La première partie de la thèse est consacrée à l'étude des polyester-co-éthers portant des groupements pendants fonctionnalisables. Nous avons développé ces copolymères par polymérisation aléatoire en masse de lactones (le lactide ou la caprolactone) et différents taux d'éthers de propargyle et de glycidyle (GPE), à 120°C, en utilisant l'octanoate d'étain comme catalyseur. L'efficacité de la copolymérisation a été mise en évidence par des analyses FTIR, RMN ¹H et COSY. Toutefois, l'analyse GPC a montré une diminution de la masse molaire des polymères et un élargissement de la dispersité en rapport avec l'augmentation du taux de glycidyle initial. De plus, les analyses RMN ¹H ont montré que le taux de propargyl (provenant de l'éther de glycidyle) au sein du copolymère ne dépassait pas 50%. La faisabilité des modifications post-polymérisation a été évaluée en couplant le (9-azidométhyl) anthracène au chaîne de poly(ester-co-éther)s via la chimie clic CuAAC. Cette méthode s'est révélée inoffensive pour la chaîne de polyesters. Des études de cytotoxicité ont prouvé l'innocuité des poly(ester-co-éther)s. Des nanoparticules sphériques ont été préparées à partir de ces polymères et peuvent être utilisées comme nanosphères pour le transport de molécules bioactives hydrophobes.

La copolymérisation des lactones avec des éthers de glycidyles s'avère être une stratégie intéressante de fonctionnalisation des chaînes des polyesters permettant la synthèse d'une large gamme de copolymères pour des applications biomédicales. Afin d'améliorer la synthèse des poly(ester-co-ether)s, nous avons proposé une approche mécanistique tenant compte des réactions de transfert de chaînes.

Dans la deuxième partie de la thèse, nous avons étudié un polymère en étoile composé d'un polymère thermosensible : la poly(2-isopropyl-2-oxazoline) PIPOZ. Nous avons premièrement exploré deux approches synthétiques afin d'obtenir une série d'étoiles de PIPOZ (S-PIPOZ) de structure bien définie à savoir l'approche « *coupling-onto* » et l'approche « *core-first* ». Une première série de S-PIPOZ a été réalisée directement à partir d'un cœur pentaérythryl tétratosylés par polymérisation cationique par ouverture de cycle (CROP) de 2-isopropyl-2-oxazoline pour l'approche « *core-first* ». Pour l'approche « *coupling-onto* », une deuxième série de S-PIPOZ a été réalisée par couplage via la CuAAC entre des PIPOZ-N₃ linéaire (L-PIPOZ N₃) et un cœur à 4 bras portant des alcynes terminaux. Tous les S-PIPOZs obtenus ont été analysés par RMN 1H, IR, MALLS-LS, des analyses UV et par microcalorimétrie différentielle à balayage (HS-DSC). Les polymères obtenus par l'approche « *core-first* » ont montré une microstructure mal-définie comparé à ceux obtenus par l'approche « *coupling-onto* ». Suite à ces résultats, nous avons défini l'approche « *coupling-onto* » comme voie d'obtention des S-PIPOZ. Une explication sur la structure mal-défini des polymères obtenus par l'approche « *core-first* » sera développée dans cette section. Nous exposerons aussi une méthode de purification permettant l'élimination rapide et efficace des L-PIPOZ N₃ qui contaminent les échantillons de S-PIPOZ faits par l'approche « *coupling-onto* ». Cette méthode peut être applicable à d'autres polymères thermosensibles dans une certaine gamme de température.

Dans la troisième partie, nous avons étudié l'effet de l'architecture et de la composition des bras-polymères sur la température de transition de phase et les propriétés des S-PIPOZs. Afin d'étoffer notre étude nous avons synthétisé un polymère en étoile à bloc composé de PIPOZ et de poly(éthylène glycol) PEG. Cette étude a été

réalisée en examinant des solutions chauffées de polymères (S-PIPOZ, S-PIPOZ-b-PEG et tous les précurseurs linéaires) par des analyses de spectrométrie d'absorption UV, HS-DSC, diffusion de la lumière LS. Nous avons évalué la présence ou l'absence de cristaux au sein d'échantillons de S-PIPOZs provenant de solutions chauffées. Cette évaluation a été réalisée par diffusion des rayons-X aux grands angles (WAXS) et par microscopie électronique à transmission (TEM) et à balayage (SEM). La présence de cristaux est néfaste pour la conception de nanomatériaux destinés à des applications biomédicales. Nous exposons aussi dans cette section une méthode basée sur l'amination réductrice permettant de fonctionnaliser les S-PIPOZ avec différents types de macromolécules.

Cette thèse expose les avantages et les inconvénients (synthèses, fonctionnalisation, structures...) des PLA-co-GPE et des S-PIPOZs et constitue dans son ensemble à une première ébauche vers une conception améliorée de futurs nanomatériaux.

Mots clés: Acide Poly(lactique), poly(ester-co-ether), poly(2-isopropyl-2-oxazoline), polymère en étoile, polymère thermosensible, cycloaddition alcyne-azoture catalysée par le cuivre (CuAAC), fonctionnalisation post-polymérisation, délivrance de médicament

Abstract

Treatment of cancer is one of the biggest challenges in modern medicinal chemistry. The vast majority of treatments are based on chemotherapy, involving the use of cytotoxic bioactive molecules. Although effective, most of these bioactive molecules have notorious drawbacks, such as the lack of cellular specificity and limited solubility in aqueous media. A way to address these problems is to dissolve these bioactive compounds into polymer matrices. There are different types of matrices, including liposomes, micelles, nanospheres, nanocapsules, dendrimers (and star-polymers), and conjugate and linear polymers. In this thesis, we explored two different prospective polymers that can be used as matrices. Both are composed of biocompatible materials: polylactide and poly(2-isopropyl-2-oxazoline).

The first part of the thesis is dedicated to the investigation of polyester-*co*-ether with functionalizable pendant groups. First, we developed the polyester-*co*-ether by copolymerization of lactones (lactide or caprolactone) with different ratios of glycidyl propargyl ether (GPE) in the bulk at 120°C in the presence of Sn(Oct)₂. The efficiency of the copolymerization was evidenced by FTIR, ¹H and COSY NMR analyses. However, GPC analyses displayed a decrease of molecular weights and a broadening of the molecular weight dispersity with increasing of the epoxide molar ratio in the feed. ¹H NMR analyses showed that the propargyl content from the epoxide does not exceed 50%. The feasibility of post-polymerization functionalization was evaluated by coupling anthracene to the poly(ester-*co*-ether)s through copper-catalyzed alkyne-azide cycloaddition (CuAAC). The polyester chain was found to support this reaction. Toxicity studies showed that the poly(ester-*co*-ether) was non-toxic. Spherical nanoparticles were prepared from these polymers. They can be suitable nanospheres for drug delivery.

The copolymerization of lactone with glycidyl ether is an interesting approach to functionalize the PLA (or poly(ester)) main chain. It is also a powerful and straightforward strategy to synthesize a large array of functionalized polymers for biomedical applications. In order to improve the synthesis of the polyester-*co*-ether, we investigated

the copolymerization mechanism of the chain transfer reactions leading to the chain reductions and we suggested a mechanistic explanation.

In the second part of this thesis, we focused on developing *star*-polymers from the thermosensitive (2-isopropyl-2-oxazoline) polymer. In order to prepare a well-defined set of *star*-poly(2-isopropyl-2-oxazoline) S-PIPOZs, we explored two different synthetic approaches: the “coupling-onto” and the “core-first” approach. Two sets of S-PIPOZs were prepared by these approaches. For the “core-first” approach, a set of S-PIPOZ was prepared by direct cationic ring opening polymerization (CROP) from a tetra tosylate-functionalized pentaerythryl core. For the “coupling-onto approach”, the S-PIPOZs were prepared by ligation between L-PIPOZ-N₃ and a 4-arm core with an alkyne group via CuAAC. The prepared polymers were analysed by ¹H NMR, IR, Multi Angles Laser Light Scattering - Gel Permeation Chromatography (MALLS-GPC), UV absorption spectroscopy and High Sensitive Differential Scanning Microcalorimetry (HS-DSC). Polymers obtained by the “core-first” approach shows ill-defined microstructure compared to those obtained by the “coupling-onto” approach. In light of these encouraging results, the “coupling-onto” method was pursued for preparing S-PIPOZ. An explanation on the ill-defined structure will be provided within this thesis. Moreover, we developed a purification method for the fast and efficient removal of free PIPOZs, which otherwise contaminate the star-PIPOZ samples that are prepared by the coupling-onto approach. This method is applicable to other thermosensitive polymers within a certain range of temperature.

In the third part, we focused on the effect of the architecture and composition of the S-PIPOZs on the phase transition temperature of the polymer. For this, we synthesized a hetero-star block copolymer composed of PIPOZ and poly(ethylene glycol) PEG. This study was carried out by examining the aqueous polymer solution (the linear precursors, S-PIPOZs, S-PIPOZ-*b*-PEG) upon heating via UV spectroscopy, HS-DSC and light scattering. We also assessed the temperature-induced crystallinity of the Star-PIPOZs by Transmission (TEM) and Scanning (SEM) Electron Microscopy, WAXS. This is important for

biomedical nanodevices. We also provided a straightforward method, based on aminative reduction, to functionalize the S-PIPOZ with different macromolecules.

This thesis discusses the advantages and the drawbacks related to the synthesis, functionalization, structures of PLA-*co*-GPE and the star-PIPOZs. Overall, this represents a pioneering study for improving the design of prospective nanodevices.

Keywords: Poly(lactic acid), poly(ester-*co*-ether), poly(2-isopropyl-2-oxazoline), star-polymer, thermosensitive polymer, copper catalyzed alkyne-azide cycloaddition (CuAAC), post-polymerisation functionalization, drug Delivery

Table des matières

Résumé	ii
Abstract.....	v
Liste des Figures	xvii
Liste des schémas	xxv
Liste des tableaux.....	xxvii
Liste des abbréviations	xxix
Remerciements	xxxiii
CHAPITRE 1: Revue bibliographique.....	1
1.1 L'acide polylactique.....	2
1.1.1 Introduction	2
1.1.2 Voies de synthèses du monomère et du PLA.....	3
1.1.2.1 Différentes voies de synthèse des polylactides	3
1.1.2.2 L'acide lactique	4
1.1.2.3 Le dilactide	5
1.1.2.4 Synthèse par polycondensation.....	6
1.1.2.5 Synthèse du PLA par polymérisation par ouverture de cycle.....	7
1.1.2.5.1 Synthèse par polymérisation cationique	7
1.1.2.5.2 Synthèse par polymérisation anionique	7
1.1.2.5.3 Polymérisation par coordination-insertion	8
1.1.2.5.4 Les organocatalyseurs.....	10
1.1.3 Fonctionnalisation de la chaîne aliphatique du PLA	11
1.1.3.1 Généralités.....	11

1.1.3.2	Fonctionnalisation par modifications post-polymérisation.....	12
1.1.3.3	Fonctionnalisation par copolymérisation.....	13
1.1.4	Applications.....	16
1.2	Les polymères en étoile	17
1.2.1	Introduction	17
1.2.2	Configurations des polymères en étoile	19
1.2.3	Synthèse des polymères en étoiles.....	20
1.2.3.1	Méthode divergente.....	20
1.2.3.2	La méthode convergente.....	21
1.2.3.2.1	La méthode convergente ou méthode des nodules « <i>arm-first</i> »	21
1.2.3.2.2	La méthode convergente « <i>coupling-onto</i> ».....	23
1.2.4	Propriétés et applications des polymères en étoile	26
1.3	Les poly(2-alkyl-2-oxazoline)s.....	27
1.3.1	Synthèse des 2-alkyl-2-oxazolines.....	29
1.3.2	Synthèse des poly-(2-alkyl-2-oxazoline)s: Polymérisation cationique par ouverture de cycles (CROP).....	30
1.3.3	Revue de littérature des différents types d'architectures retrouvés pour les PAKOxs.	34
1.3.4	La thermosensibilité et la température inférieure critique de solubilisation (LCST)	38
1.3.4.1	Techniques de détermination de la transition de phase	42
1.3.4.2	Effets de la masse molaire et des groupements terminaux sur la LCST.	44
1.3.4.3	Effet de la composition et de l'architecture du polymère.....	46

1.3.4.4	Effet des sels sur la LCST.....	48
1.3.5	Cristallisation de la PIPOZ en solution aqueuse.....	51
1.4	Conclusion	54
1.5	Objectifs.....	55
1.6	Structuration de la thèse	55
1.7	Références	57
CHAPITRE 2: Synthesis and characterization of poly(ester-co-ether)s by ring opening polymerization of lactones and glycidyl propargyl ether catalyzed by tin octanoate ..		
2.1	Abstract.....	76
2.2	Introduction.....	77
2.3	Experimental section.....	78
2.3.1	Materials and methods.....	78
2.3.2	Polymer characterizations	79
2.3.3	Preparation of the catalytic complex for synthesis of the polyester-co-ether	79
2.3.4	Kinetic measurements	79
2.3.5	Typical procedure for the synthesis of PLA-co-GPE by copolymerization of dilactide with 5% mol of GPE	80
2.3.6	Typical procedure for the synthesis of PCL-co-GPE by copolymerization of ϵ -CL with 5 mol% of GPE	80
2.3.7	Typical procedure for the anthracene post-polymerization functionalization	80
2.3.8	Nanoparticles preparation.	80
2.3.9	NP characterizations	81

2.3.10	In vitro toxicity studies	81
2.4	Results and discussion	82
2.4.1	Synthesis of the PLA-co-GPE.....	82
2.4.2	Functionalization of the copolymers.....	85
2.4.3	Nanoparticles preparation, characterizations and toxicity assay.....	88
2.4.5	Polymerization mechanistic approach and proposal explanation for the molecular weight decreasing.....	89
2.5	Conclusion	93
2.6	Acknowledgments.....	93
2.7	References	93
 Supporting Information for : Synthesis and characterization of poly(ester-co-ether)s by ring opening polymerization of lactones and glycidyl propargyl ether catalyzed by tin octanoate.....		
S-2.1.	Experimental procedure.....	99
S-2.1.1	Synthesis of 9-(azidomethyl)anthracene (1).....	99
S-2.1.2	Synthesis of (1-(anthracen-9-ylmethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methanol (2)..	99
S-2.2	Additional Spectra.....	100
 CHAPITRE 3: Synthesis of Star Shaped Poly-(2-Isopropyl-Oxazoline): The Dilemma between the “Coupling-onto” and the “Core First” Approach?.....		
3.1	Abstract.....	104
3.1	Introduction.....	104
3.2	Experimental section.....	107
3.2.1	Materials	107
3.2.2	Methods.	107

3.2.3	α -Methyl ω -azido poly(2-isopropyl-2-oxazoline) (L-PIPOZ).....	108
3.2.4	Preparation of star PIPOZ samples by the “coupling-onto” approach (S_{CO} -PIPOZ).	109
3.2.5	Determination of M_n by UV.....	109
3.2.6	Preparation of star PIPOZ samples by the “core-first” approach (S_{CF} -PIPOZ).	110
3.2.7	GPC-MALLS Measurements	110
3.2.8	High-Sensitivity Differential Scanning Calorimetry (HS-DSC).....	111
3.3	Results and discussion	111
3.3.1	Design and synthesis of the cores.	111
3.3.2	Coupling-onto preparation of star poly(2-isopropyl-2-oxazolines): S_{CO} -PIPOZ.	113
3.3.3	Core-first preparation of star poly(2-isopropyl-2-oxazolines): S_{CF} -PIPOZ .	116
3.3.3.1	<i>Towards an understanding of the discrepancy</i>	119
3.3.3.2	<i>Determination of the composition of the CF-S-PIPOZs first and second fractions</i>	122
3.4	Conclusion	123
3.5	Acknowledgement	123
3.6	References	123
	Supporting information for: Synthesis of Star Shaped Poly-(2-Isopropyl-Oxazoline): The Dilemma between the “Coupling-onto” and the “Core First” Approach?	128
S-3.1	Experimental procedures:	129
S-3.1.1	Synthesis of tetrakis[(4-formylphenoxy)methyl]methane (1).....	129
S-3.1.2	Synthesis of tetrakis [[(4-hydroxymethyl)phenoxy]methyl] methane (2).....	129

S-3.1.3 Synthesis of tetrakis [[(4-chloromethyl)phenoxy]methyl] methane (3)	129
S-3.1.4 Synthesis of tetrakis [[(4-azidomethyl)phenoxy]methyl] methane (4)	130
S-3.1.5 Synthesis of 2,5-dioxopyrrolidin-1-yl hex-5-ynoate (5)	130
S-3.1.6 Synthesis of core-4-yne (6)	130
S-3.1.7 Synthesis of tetrakis [[4-(1,3-dioxolan-2-yl) phenoxy]methyl] methane (9)..	131
S-3.1.8 Synthesis of tetrakis [[4-[(2-hydroxyethoxy)methyl]phenoxy]methyl] methane (10)	131
S-3.1.9 Synthesis of core-4-OTs (11)	131
S-3.2 Additional information	132
CHAPTER 4: Synthesis and investigation of the heat-induced phase transition of well-defined homo and hetero-star block poly(2-isopropylloxazoline)	141
4.1 Abstract.....	142
4.2 Introduction.....	143
4.3 Experimental part.....	146
4.3.1 Materials	146
4.3.2 Methods	146
4.3.3 Synthesis of the α-nitro-ω-azido-poly(2-isopropylloxazoline): L-PIPOZ.....	147
4.3.4 Synthesis of α-nitro star poly(2-isopropyl-2-oxazoline): S-PIPOZ.....	147
4.3.5 Synthesis of linear PIPOZ2-block-PEG5k: L-PIPOZ2-b-PEG.	148
4.3.6 Synthesis of the heterostar PIPOZ2-b-PEG5k copolymer.....	148
4.3.7 GPC-MALLS Measurements.	148
4.3.8 Determination of the Mn by UV-Vis absorbance.	149
4.3.9 Turbidity measurement.....	149
4.3.10 High sensitivity scanning calorimetry HS-DSC.	149

4.3.11	Dynamic Light Scattering (DLS).	149
4.3.12	Assessment of the crystallization of L-PIPOZ and S-PIPOZ homo and hetero-block (co)polymers in water.	150
4.3.13	Transmittance Electron Microscopy.	150
4.3.14	Scanning Electron Macroscopy (SEM).	150
4.3.15	Wide Angle X-ray Scattering (WAXS).	150
4.4	Results and discussion	151
4.4.1	Synthesis of the star-poly(2-isopropyl-2-oxazoline)	151
4.4.1.1	<i>Synthesis of the orthogonal core-4-yne</i>	151
4.4.1.2	<i>Synthesis of the linear PIPOZ samples</i>	152
4.4.1.3	<i>Coupling the PIPOZs- arms to the orth-Core-4-yne by the “coupling-onto” approach</i>	155
4.4.2	Solution properties of linear and star PIPOZ.	158
4.4.2.1	<i>Dynamic Light Scattering of linear and star PIPOZ.</i>	158
4.4.2.2	<i>Thermal behaviour of linear and star PIPOZ in water.</i>	160
4.4.2.3	<i>Effect of the core architecture on the phase transition</i>	163
4.4.2.4	<i>Assessment of the crystallization of the polymer samples</i>	164
4.5	Conclusion	165
4.6	Acknowledgements	166
4.7	References	166
	Supporting information for : synthesis and investigation of the heat-induced phase transition of well-defined homo and hetero-star block poly(2-isopropylloxazoline) ..	173
S-4.1	Experimental procedures	174
S-4.1.1	Synthesis of the core	174

S-4.1.1.1 Synthesis of 2-iodo-1,3-dimethoxybenzene (1)[1]	174
S-4.1.1.2 Synthesis of 2,2',6,6'-tetramethoxy-1,1'-biphenyl (2)[1]	174
S-4.1.1.3 Synthesis of 3,3',5,5'-tetrakis(bromomethyl)-2,2',6,6'-tetramethoxy-1,1'-biphenyl (3).....	175
S-4.1.1.4 Synthesis of 3,3',5,5'-tetrakis(azidomethyl)-2,2',6,6'-tetramethoxy-1,1'-biphenyl (4).....	175
S-4.1.1.5 Synthesis of 2,5-dioxopyrrolidin-1-yl hex-5-ynoate (5).....	175
S-4.1.1.5 Synthesis of N,N',N'',N'''-((2,2',6,6'-tetramethoxy-[1,1'-biphenyl]-3,3',5,5'-tetrayl)tetrakis(methylene))tetrakis(hex-5-ynamide) (6)	176
S-4.1.2 Synthesis of the initiator.....	176
S-4.1.2.1 Synthesis of 2-(2-(2-(4-nitrophenoxy)ethoxy)ethoxy)ethan-1-ol (7)....	176
S-4.1.2.2 Synthesis of 2-(2-(2-(4-nitrophenoxy)ethoxy)ethoxy)ethyl 4-methylbenzenesulfonate (8).....	177
S-4.1.4 Synthesis of 9-(azidomethyl)anthracene	177
S-2.1.2 Synthesis of (1-(anthracen-9-ylmethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methanol: positive control.....	178
S-4.2 Additional figures and spectra.....	178
CHAPITRE 5. Discussion générale, conclusion et perspectives.....	205
5.1 Discussion générale.....	206
5.1.1 Discussion autour de la copolymérisation de lactide et d'éther de propargyle et de glycidyle (« <i>Glycidyl Propargyl Ether</i> »)	206
5.1.2 Discussion autour des polymères en étoile à base de poly(2-isopropyl-2-oxazoline)s (S-PIPOZ)	208
5.2 Conclusion générale	213
5.3 Perspectives.....	214

5.4	Références	218
	Annexe 1: Réactions secondaires et problèmes rencontrés dans la cycloaddition alcyne-azoture catalysée par le cuivre (CuAAC)	220
	Annexe 2 : Présentation des différentes voies de synthèse de dendrimères.....	223
	Annexe 3: Information complémentaire sur l'analyse cristallographique de la molécule	187

Liste des Figures

Chapitre 1

Figure 1. 1 Représentation du PLA, PCL et PGA	2
Figure 1. 2 Représentation du marché mondiale du PLA par secteurs d'activité [4].....	2
Figure 1. 3 Représentation des différentes voies d'obtention du PLA	3
Figure 1. 4 Représentation des deux énantiomères de l'acide lactique	4
Figure 1. 5 Différents stéréoisomères du lactide	5
Figure 1. 6 Différents types de microstructure du PLA	6
Figure 1. 7 Présentation de quelques organocatalyseurs regroupés par type de catalyse.	11
Figure 1. 8 Présentation de quelques lactones fonctionnalisées.....	14
Figure 1. 9 Autres monomères utilisés pour la fonctionnalisation des polyesters.	15
Figure 1. 10 a. Schématisation de l'autoassemblage de PLA-b-PEG en phase aqueuse. b. Image de microscopie électronique à transmission de nanoparticules composées de copolymère PLA-g-PEG. Reproduit avec permission de la Réf.[78]. Copyright © 2015, American Chemical Society	17
Figure 1. 11 Représentation des différents polymères ramifiés : a. polymère greffé, b. polymère en étoile, c. dendrimère de première génération, d. polymère hyperbranché.....	18
Figure 1. 12 Aperçu des différents types de polymères étoilés : a. Polymère de type A_n , b. Polymère à bloc $(AB)_n$, polymère «miktoarms» c. de type A_3B_3 , d. de type $A_2B_2C_2$, e. de type $AA'B_3C$. (Adapté de Kakkar et al., 2010)[84]	19
Figure 1. 13 Synthèse des polymères en étoile par la méthode divergente.....	20
Figure 1. 14 Représentation schématique de l'approche des macroamorceurs et des macromomères.	22
Figure 1. 15 Représentation schématique de la synthèse de polymère en étoile selon l'approche d'auto-assemblage-réticulation.	22
Figure 1. 16 Synthèse des polymères en étoile par la méthode « <i>coupling-onto</i> ».	23

Figure 1. 17 Cycle catalytique de formation du noyau triazole. Reproduit avec permission de la Réf [103]. Copyright © 2005, American Chemical Society.....	24
Figure 1. 18 Illustration de l'influence de l'architecture du polymère à travers une membrane poreuse (e.g. à travers la membrane glomérulaire). Reproduit avec permission de la Réf.[107]. Copyright © 2008, John Wiley and Sons.....	27
Figure 1. 19 Présentation des différents isomères de l'oxazoline (a. 2-oxazoline; b. 3-oxazoline; c. 4-oxazoline.) et de la numérotation du cycle (d.).....	27
Figure 1. 20 Représentation générale des poly-2-alkyls-2oxazoline et des polyacrylamides.....	28
Figure 1. 21 Structure du PIPOZ et du PNIPAM	29
Figure 1. 22 Représentation de la 2-méthyl-2-oxazoline (MeOX), de la 2-éthyl-2-oxazoline (EtOX), 2-isopropyl-2-oxazoline (IPOX).....	29
Figure 1. 23 Réactions de couplage et de transfert de chaîne observées par Kataoka <i>et al.</i> Reproduit avec permission de la Réf.[129]. Copyright © 2006, American Chemical Society.....	33
Figure 1. 24 Présentation de quelques coeurs retrouvés dans la littérature.	35
Figure 1. 25 Structure de la glace (a) et structure de l'eau liquide (b) et représentation d'une liaison bifurquée (c). Reproduit avec permission de la Réf. [164]. Copyright © 2008, American Chemical Society.....	38
Figure 1. 26 Représentation d'un diagramme de phase pour un système à LCST.....	40
Figure 1. 27 Représentation de la dépendance de la solubilité des POxs en fonction l'accroissement de la chaîne carbonée. Adapté avec permission de la Réf. [169]. Copyright © 2010, Elsevier Ltd.	41
Figure 1. 28 A. Courbes de transmittance relative obtenues pour échantillon de PNIPAM de $M_w \approx 50$ kg/mol et de concentration 0.5 g/L synthétisés en utilisant l'AIBN dans différents solvants : $M_w = 64.5$ kg/mol (méthanol), 51.7 kg/mol (<i>tert</i> -butanol), 46.5 kg/mol (benzène) et 51.8 kg/mol (1,4-dioxane). Reproduit avec permission de la Réf. [172]. Copyright © 2015, John Wiley & Sons, Inc. B. Endotherme microcalorimétrique (vitesse de chauffe: 1°C/min) et du changement de la lumière diffusée d'une solution aqueuse à 5.0 g/L de C ₁₈ -PNIPAM-C ₁₈ 35K. Reproduit avec permission de la Réf.[173] Copyright © 2006, American Chemical Society.....	43

Figure 1. 29 Thermogrammes DSC de PIPOZ-b-PEOZ (cercles ouverts) et de PIPOZs de DP= 101 et 63 (cercles pleins). La concentration des polymères est de 1g/L. Les courbes en pointillées proviennent de la déconvolution du thermogramme du dibloc. Reproduit avec permission de la Réf. [176]. Copyright © 2012, American Chemical Society.....	44
Figure 1. 30 Effet de la masse molaire et de la concentration sur LCST du PIPOZ. Les cercles pleins représente la T_m et les triangles pleins la T_{CP} . Reproduit avec permission de la Réf. [175]. Copyright © 2004, American Chemical Society.....	44
Figure 1. 31 Endothermes microcalorimétriques de solution aqueuse (concentration en polymère de 0.5g/L) de PNIPAM-7kDa (courbe verte), PNIPAM-13kDa (courbe rouge), PNIPAM-26kDa (courbe verte), et PNIPAM-45K (courbe bleue) coiffées avec (a) de l'hydroxyéthyl, (b) du propargyl, (c) du chloroéthyl, (d) du <i>n</i> -butyl et (e) du <i>n</i> -hexyl. Reproduit de la Réf. [174]	46
Figure 1. 32 Modulation de la LCST de poly(2-oxazoline)s reporté dans la littérature. Reproduit avec permission de la Réf. [121]. Copyright © 2007, Springer-Verlag.....	47
Figure 1. 33 Représentation de l'hydratation des cations et anions. Reproduit avec permission de la Réf. [164]. Copyright © 2008, American Chemical Society	49
Figure 1. 34 Présentation de quelques ions de la classification d'Hofmeister	49
Figure 1. 35 Représentation des différents types d'interactions ayant lieu entre les anions, le PNIPAM et l'eau. Reproduit avec permission de la Réf.[184] .Copyright © 2005, American Chemical Society.....	50
Figure 1. 36 Influence des sels d'Hofmeister sur la T_{CP} de la (a) PEOZ, (b) <i>Pn</i> POZ, (c) <i>Pi</i> POZ, and (d) POEtOxMA. Reproduit avec permission de la Réf. [139]. Copyright © 2010, John Wiley & Sons, Inc.	51
Figure 1. 37 Représentation de la structure cristalline des PIPOZs et des différentes étapes de la cristallisation. Reproduit avec permission de la Réf.[191]. Copyright © 2010, Royal Society of Chemistry. b. et c. Reproduit avec permission de la Réf. [190]. Copyright © 2007, John Wiley and Sons. d. Reproduit avec permission de la Réf.[192]. Copyright © 2012, American Chemical Society.	52
Figure 1. 38 Fibres de PIPOZs cristallisées observées en TEM par Diehl (image de gauche) et par Morimoto (à droite). a. Reproduit avec permission de la Réf.[195]. Copyright © 2015, Royal	

Society of Chemistry. **b.** Reproduit avec permission de la Réf.[137]. Copyright © 2009, Royal Society of Chemistry..... 54

Chapitre 2

Figure 2. 1 Plot of the time/conversion of ROP of Rac-Lactide in the presence (black diamonds) and absence (orange circles) of GPE. 82

Figure 2. 2 FT-IR spectra of the PLA-co-GPE. The rectangle indicates the position of the $-C\equiv H$ and the $-C=O$ vibrational stretching bands..... 83

Figure 2. 3 COSY Spectrum of PLA-co-GPE synthesized with dilactide and 20 mol% of GPE. Signal assignments are indicated on the scheme on the top. 84

Figure 2. 4. Detection of the propargyl moiety within the copolymer by fluorogenic click chemistry 87

Figure 2. 5. TEM images of the NPs prepared from the PLA-co-GPE by nanoprecipitation. 88

Figure 2. 6 Evaluation of the PLA-co-GPE toxicity on RAW 262.7 murine macrophage cell lines by MTT (on the left) and by LDH (on the right) assays. Experiments have been compared with PLGA 89

Figure SI-2. 1 1H NMR spectrum of neat PLA on the bottom, of the PLA-co-GPE in the center and the neat GPE on the top. 100

Figure SI-2. 2 FT-IR spectra of the PCL-co-GPE 40% (from the feed). The rectangle indicates the position of the $-C\equiv H$ vibrational stretching band. 100

Figure SI-2. 3 COSY spectrum of PCL-co-GPE 40% (from the feed). The crosspeaks between the glycidyl methylenes $-CH_2$ and the methine $-CH$ are highlighted by the black circles. 101

Figure SI-2. 4 Stacked 1H NMR spectra of the crude (black spectrum) and the purified (blue spectrum) PCL-co-GPE 40% (from the feed). 101

Figure SI-2. 5 Comparison of determination of GPE within the copolymer before and after CuAAC with the GPE content from the feed. 102

Chapitre 3

Figure 3. 1 Overlapped spectra of Sco-PIPOZ22K after dialysis over 12-14 kDa MWCO membrane (black), after ultrafiltration over 10 kDa MWCO membrane (red), after thermal centrifugal fractionation (blue).....	115
Figure 3. 2 GPC traces (left: A and C) and DSC thermograms (right: B and D) of L-PIPOZ-N ₃ (top) and S _{CO} -PIPOZ (bottom).....	115
Figure 3. 3 GPC traces (left) and DSC thermograms (right) of CF-S-PIPOZ before (top) and after (middle) centrifuging and cleaved arms (bottom).	118
Figure 3. 4 GPC traces (left) and DSC thermograms (right) of different fractions (sediment and supernatants) of S _{CF} -PIPOZ. On the top - illustration of centrifugation procedure.	121
Figure SI-3. 1 UV/Vis absorption spectra of S _{CO} -PIPOZ used for determination of molecular weight M _n . The measurements were carried out with 5 mg of carefully dried polymer dissolved into 3 mL of acetonitrile.	132
Figure SI-3. 2 UV/Vis absorption spectra of core-4-yne (a.) and calibration curve for determination of the extinction coefficient (b.). Measurements were carried out with concentration of core-4-yne in acetonitrile ranging from 0.0274 to 0.1351 mM.	133
Figure SI-3. 3 ¹ H NMR spectrum of core-4-yne in CDCl ₃ at room temperature.....	133
Figure SI-3. 4 FT-IR spectrum of Core-4-yne. The spectrum displays the characteristic vibrational bands of terminal alkyne ($\nu \equiv\text{CH}$ at 3068 cm ⁻¹ and $\nu \text{C}\equiv\text{C}$ at 2116 cm ⁻¹) and the characteristic vibrational bands of the amide (ν_{NH} and ν_{CO} at 3290 cm ⁻¹ and 1638 cm ⁻¹ respectively).	134
Figure SI-3. 5 Site of cleavage for BBr ₃ , CAN and DDQ.....	134
Figure SI-3. 6 ¹ H NMR spectrum of Core-4-OTs in CDCl ₃ at room temperature.	135
Figure SI-3. 7 GPC chromatograms of L-PIPOZ-N ₃ samples. The analyses were performed in DMF containing 0.01M of LiBr at a flow rate of 0.3 mL/min and with a polymer concentration of 5 mg/mL.	136
Figure SI-3. 8 ¹ H NMR spectrum of the L-PIPOZ-N ₃ samples. The NMR spectra were recorded at room temperature, in 0.7 mL and with 10-15 g of polymers.....	136

Figure SI-3. 9 ^1H NMR spectra of the S_{CO} -PIPOZ samples. The NMR spectra were recorded at room temperature, in 0.7 mL of CDCl_3 and with 10-15 g of polymers..... 137

Figure SI-3. 10 ^1H NMR spectra of S_{CF} -PIPOZ- N_3 samples in CDCl_3 . The NMR spectra were recorded at room temperature, in 0.7 mL of CDCl_3 and with 10-15 g of polymers..... 138

Figure SI-3. 11 Enlarged ^1H NMR spectrum of S_{CF} -PIPOZ- N_3 17 K in CDCl_3 139

Figure SI-3. 12 Turbidimetry measurement curves of the S_{CF} -PIPOZs. The measurements were performed at a heating rate of $1^\circ\text{C}/\text{min}$ with a 1 g/L polymer solution. The arrow is depicted a second transition which is not obvious. 139

Chapitre 4

Figure 4. 1 Representation of some thermosensitive polymers. PNIPAM and PIPOZ are structural isomers. 144

Figure 4. 2 ^1H NMR spectra of S-PIPOZ1 (black), S-PIPOZ2 (red) and S-PIPOZ3 (blue). The NMR spectra were recorded with 14-17 g/mL polymer solution in CDCl_3 at r.t. Only a quarter of the molecule is represented for the sake of clarity..... 156

Figure 4. 3 Turbidimetry measurement curves (on the top) and HS-DSC thermograms (on the bottom) of L-PIPOZ (left) and S-PIPOZs (right) samples. Concentration of polymer solutions were 1 g/L..... 161

Figure 4. 4 HS-DSC thermograms of α -nitro-S-PIPOZ bearing two different cores. The sample marked with an asterisk (red curve) is the one bearing the *tetr*-Core-4-yne. Experiments were performed with 1 g/L of polymer solution at a heating rate of $1^\circ\text{C}/\text{min}$ 163

Figure 4. 5 Diffraction pattern of the investigated freeze-dried polymer samples. 165

Figure SI-4. 1 Determination of the molar extinction coefficient of the nitrophenyl ether content of 2-(2-(2-(4-nitrophenoxy)ethoxy)ethoxy)ethan-1-ol (compound **7**) in acetonitrile..... 178

Figure SI-4. 2 ^1H NMR Spectrum of core-4-yne in MeOH-D_4 at room temperature. 179

Figure SI-4. 3 FT-IR spectrum of Core-4-yne. The spectrum evidence the characteristic vibrational bands of terminal alkyne ($\nu \equiv\text{CH}$ at 3069 cm^{-1} and $\nu \text{C}\equiv\text{C}$ at 2116 cm^{-1}) and the characteristic vibrational bands of the amide (ν_{NH} and ν_{CO} at 3287 cm^{-1} and 1642 cm^{-1} respectively). 179

Figure SI-4. 4 Crystal structure of the title compound (6). The ellipsoids are drawn with 50 % of probability level.....	180
Figure SI-4. 5 ¹ H NMR Spectrum of NO ₂ -initiaton in CDCl ₃ at room temperature.....	180
Figure SI-4. 6 ¹ H NMR spectra of L-PIPOZ samples. The NMR spectra were recorded at room temperature, in 0.7 mL of CDCl ₃ with 10-15 g of polymers.	181
Figure SI-4. 7 FT-IR spectra of L-PIPOZ linear samples.....	181
Figure SI-4. 8 GPC chromatograms of all the PIPOZs samples (linear and star-PIPOZ samples). The analyses were performed in DMF containing 0.01M of LiBr at a flow rate of 0.3 mL/min and with a polymer concentration of 5 mg/mL.	182
Figure SI-4. 9 Microcalorimetric endotherms of aqueous solutions of L-PIPOZ2 and PIPOZ2-b-PEG5K (on the left); and star S-PIPOZ2 and S-PIPOZ2-b-PEG5k (on the right).....	182
Figure SI-4. 10 ¹ H NMR Spectrum of L-PIPOZ-b-PEG (top) and S-PIPOZ-b-PEG (bottom) in CDCl ₃ at room temperature. Note: Only a quarter of S-PIPOZ-b-Peg is represented for the sake of clarity.	183
Figure SI-4. 11 Verification of the free alkyne chain presence onto S-PIPOZ incubated in the presence of (9-azidomethyl)anthracene and CuBr by fluorogenic CuAAC. To the left sample before exposition and to the right after exposition to UV-light. The samples concentration were about 2x10 ⁻⁷ mol/L (2-3 mg pf polymer in 0.5 mL of THF).....	183
Figure SI-4. 12 Dependence of the relaxation rate on q ² for linear (a) and star (b) PIPOZ in water at 20 °C and DMF/10 mM LiBr at 40 °C.	184
Figure SI-4. 13 Photography of 10 g/L polymer solution before (row on the top) and after (row on the bottom) 24h of heating. From the left to the right: S-PIPOZ 1, S-PIPOZ2, S-PIPOZ3, L-PIPOZ2, L-PEG5k-b-PIPOZ2, S-PIPOZ2-b-PEG5k. The homo-PIPOZs were heated at 56°C whereas the hetero-block polymers were heated at 75°C. The photography was taken after cooling all samples overnight at 4°C.....	184
Figure SI-4. 14 TEM micrographs of starPIPOZ2 and star PIPOZ2PEG5K obtained after 24 h of heat at 56 and 75 °C, correspondingly. Concentration of polymer solution was 10 g/L.....	185
Figure SI-4. 15 TEM micrographs of starPIPOZ2 and star PIPOZ2PEG5K obtained after 24 h of heat at 56 and 75 °C, correspondingly. Concentration of polymer solution was 10 g/L.....	186

Chapitre 5

Figure 5. 1 a. Représentation du cœur Core-4-Br; **b.** Chromatogramme d'un S-PIPOZ-12K obtenu à partir du cœur Core-4. L'analyse a été réalisée dans le DMF avec une concentration en polymère de 5 g/L et un débit de 0.3 mL/min. Le taux de conversion pour cet échantillon est de 80%.... 209

Figure 5. 2 Structure de l'acide hyaluronique 210

Figure 5. 3 Spectres RMN 1H de l'acide hyaluronique (HA; en noir), de l'étoile à bloc S-PIPOZ2-b-HA (en bleu) et de la S-PIPOZ2 (en rouge). Les spectres du HA et de la S-PIPOZ-b-HA ont été réalisés dans le D₂O tandis que le spectre de la S-PIPOZ dans le CDCl₃. Tous les spectres ont été réalisés à température ambiante. 211

Figure 5. 4 Représentation de la doxorubicine (a) et du plactaxel (b)..... 212

Figure 5. 5 Illustration du type de catalyseurs visés pour la synthèse contrôlée de PLA-co-GPE. Les groupements nitro en para servent à augmenter l'acidité de Lewis de l'atome de calcium..... 215

Figure 5. 6 Représentation de polymères en étoile dendritique (a. homopolymère de PIPOZ; b. polymère panaché séquentiel) à deux générations (G₂) et des polymère en étoile panachés composé de PIPOZ et de PEG (c., d. et e.)..... 217

Annexe

Figure A. 1 Crystal structure of the title compound (6). The ellipsoids are drawn with 50 % of probability level. 187

Liste des schémas

Chapitre 1

Schéma 1. 1 Synthèse de l'acide lactique par voie chimique	5
Schéma 1. 2 Ouverture du lactide par voie cationique.....	7
Schéma 1. 3 Synthèse du PLA par voie anionique	8
Schéma 1. 4 Différents types de réactions secondaires ayant lieu en polymérisation anionique .	8
Schéma 1. 5 Polymérisation par ouverture de cycle du lactide en présence de Sn(Oct) ₂ [28].Reproduit avec la permission de L'ACS. Copyright © 2001, American Chemical Society.	9
Schéma 1. 6 Différents modes d'ouverture de lactone en présence d'organocatalyseurs. Adapté avec permission de la référence [44]. Copyright © 2008, Royal Society of Chemistry.	10
Schéma 1. 7 Fonctionnalisation du PLA selon la méthode de Vert et al.....	12
Schéma 1. 8 Synthèse et modifications de PLA-co-AGE. Adapté de Hildgen et al [74].	16
Schéma 1. 9 Voies synthétiques les plus courantes d'obtention de 2-alkyls-2-oxazolines.	30
Schéma 1. 10 Différents types de mécanisme de polymérisation des 2-alkyl-2-oxazolines. Adapté de la Réf. [120]	31
Schéma 1. 11 Représentation des réactions de transfert de chaîne et de couplage. Adapté de la Réf. [120]	33

Chapitre 2

Scheme 2. 1. Random copolymerization between Rac-Lactide and GPE catalyzed by Sn(Oct) ₂ ..	78
Scheme 2. 2 Functionalization of the polyester-co-ether with anthracene azide. The blue stars denote that the molecules are highly fluorescent after CuAAC.	86
Scheme 2. 3 ROP of Lactide in the presence Sn(Oct) ₂ according to Ryner et al.[28].....	89
Scheme 2. 4 Two possible approaches for the ring opening of epoxide catalyzed by Lewis Acid.[31]	90
Scheme 2. 5 Proposal explanation for the molecular weight decreasing within the copolymerization using a chain transfer mechanism between two metallic centers.....	92

Chapitre 3

Scheme 3. 1 Synthetic pathways to the Core-4-yne (6) and the Core-4-Ots (11).....	112
Scheme 3. 2 Synthesis of star-shaped PIPOZ by the “coupling onto” approach	113
Scheme 3. 3 Synthesis of Star-PIPOZ by “core-first” (S _{CF} -PIPOZ) approach.	117
Scheme 3. 4 Representation of the chain transfer to the monomer and the coupling reaction mechanism proposed by Litt et al.[32].....	119

Chapitre 4

Scheme 4. 1 Synthetic pathway to the <i>ortho</i> -Core-4-yne.....	151
Scheme 4. 2 Synthesis of the telechelic α - nitro- ω -azido-PIPOZ arms.	152
Scheme 4. 3 Synthesis of L-PIPOZ-b-PEG (route a.) and S-PIPOZ-b-PEG (route b.)..	154
Scheme 4. 4 Synthesis of S-PIPOZ by the “coupling-onto” approach	155

Annexes

Schéma A. 1 Réaction d’homocouplage d’alcyne [1].....	220
Schéma A. 2 Cas concret de saturation du cuivre. Reproduit avec permission de la Réf.[3] Copyright © 2005, American Chemical Society.	221
Schéma A. 3 Première voie de synthèse de dendrimère réalisée. (Adapté de Vögtle et al., 1978)[2]	223

Liste des tableaux

Chapitre 1

Tableau 1. 1 Température de fusion des différents lactides [13].....	6
Tableau 1. 2 Représentation de différentes réactions de ligation ayant été utilisées pour la synthèse de macromolécules. Reproduit avec permission de la Réf. [106]. Copyright © 2011, Royal Society of Chemistry.....	25
Tableau 1. 3 Revue de littérature des polymères en étoile à base de PAKOxs.....	36
Tableau 1. 4 Liste de la valeur de la LCST de quelques polymères thermosensibles [168].....	41
Tableau 1. 5 Représentation des effets de quelques groupements terminaux sur la T_{CP}	45

Chapitre 2

Table 2. 1 Molecular characteristics of polyester-co-ether	84
Table 2. 2 Molecular characteristics of the polymers after CuAAC with anthracene azide	87
Table 2. 3 Measurement of the size and the zeta potential the nanoparticles.....	88

Chapitre 3

Table 3. 1 CROP conditions for the synthesis and characterizations of L-PIPOZ- N_3	108
Table 3. 2 Conditions for the synthesis of S_{CF} -PIPOZs.	110
Table 3. 3 Characteristics of S_{CO} -PIPOZs obtained by GPC analysis, NMR and UV spectroscopy.	116
Table 3. 4 Characterization of S_{CF} -PIPOZ mixture by NMR and GPC.	117
Table 3. 5 Characterization of CF-S-PIPOZ _{AC} (AC: after centrifugal fractionation) and the cleaved arms.	121
Table SI-3. 1 DSC data of 1 g/L aqueous solution of I-PIPOZs- N_3 and S_{CO} -PIPOZs.....	137

Chapitre 4

Table 4. 1 Molecular weights (M_n and M_w) and polydispersity index (\mathcal{D}) of linear PIPOZs.....	153
Table 4. 2 Molecular weights (M_n and M_w) and polydispersity index (\mathcal{D}) of homo and hetero-S-PIPOZs.....	157
Table 4. 3 Diffusion coefficients D and hydrodynamic radii R_h of linear (arms) and star PIPOZ obtained in water and 20 °C and DMF/10 mM LiBr at 40 °C.....	159
Table 4. 4 Summary of the thermal behavior of the L-PIPOZs and S-PIPOZs aqueous solutions	161

Liste des abbréviations

ACN: Acétonitrile

C.Fract: Séparation par centrifugation (Anglais : *Centrifugal Fractionation*)

CD: Cyclodextrine

cf.: se référer. (Vient du latin *confer*)

CL: ϵ -Caprolactone

COSY: Correlation Spectroscopy

FDA: Food and Drug Administration

DBU: 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène

DLS: Diffusion dynamique de la lumière. (Anglais: *Dynamic Light Scattering*)

DMA: *N,N*-Diméthylacetamide

DMAP: *N,N*-Diméthylaminopyridine

DMF: *N,N*-Diméthylformamide

DP: Degré de polymérisation

EtOZ ou EtOX: 2-ethyl-2oxaoline

FT-IR: Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier

HA: Acide Hyaluronique

HR-MS: Spectrométrie de masse à haute résolution. (Anglais: *High Resolution Mass Spectrometry*)

HS-DSC: Calorimétrie différentielle à balayage à haute sensibilité

GPC: Chromatographie d'exclusion stérique. (Anglais: *Gel Permeation Chromatography*)

iPOZ ou iPOX: 2-Isopropyl-2-oxazoline

J: Constante de couplage

kCal: Kilocalorie

LDA: Diisopropylamidure de lithium (Anglais: *lithium diisopropylamide*)

LCST: Lower Critical Solution Temperature

LC-TOF: Chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur temps de vol (Anglais: *Liquid Chromatography-Time Of Flight*)

LS: Diffusion de la lumière (Anglais: *Light Scattering*)

M: Molaire (mol.L^{-1})

MALDI: Spectrométrie de masse par désorption-ionisation laser assistée par matrix (Anglais: Matrix Assisted Laser Desorption Ionization)

MeOx ou MeOZ: 2-Methyl-2-Oxazoline

MTBD: 7-Méthyl-1,5,7-triazabicyclo [4.4.0]-déc-5-ène (MTBD)

MW: Masse molaire d'un polymère. (Anglais: *Molecular weight*)

MWCO: Limite de séparation des masses molaires. (Anglais: *Molecular Weight Cut-Off*)

ND: Non-déterminé

NHC: Carbène *N*-hétérocyclique

Non: Nonyle

NonOx: 2-Nonyl-2-oxazoline

p: Para

PAkOX: Poly-2-Alkyl-2-oxazoline

PCL: Polycaprolactone

PEG: Polyéthylène glycol

PEO: Oxyde de polyéthylène

PEOZ: Poly-2-Éthyl-2-oxazoline

PIPOZ: Poly-2-isopropyl-2-oxazoline

PLA: Acide polylactique

PMOZ: Poly-2-méthyl-2-oxazoline

PnPOZ: Poly-2-*n*Propyl-2-oxazoline

PnBuOZ: Poly-2-*n*Butyl-2-oxazoline

POEtOxMA: Poly[oligo(2-éthyl-2-oxazoline)méthacrylate]

Prot.: Protection

ON: Durant la nuit. (Anglais *Overnight*)

orth-Core-4-yne: orthogonal Core-4-yne

OTf: Triflate

OTs: 4-Toluènesulfonyle ou Tosyle

Rh: Rayon hydrodynamique

Rg: Rayon de gyration

RMN: Résonance magnétique nucléaire

ROP: Polymérisation par ouverture de cycle. (Anglais: *Ring Opening Polymerization*)

r.t: température ambiante (Anglais: *room temperature*)

S-PIPOZ: Poly-2-isopropyl-2-oxazline en étoile

S_{CO}-PIPOZ: Poly-2-isopropyl-2-oxazline en étoile réalisée par la méthode «*coupling-onto*»

S_{CF}-PIPOZ: Poly-2-isopropyl-2-oxazline en étoile réalisée par la méthode «*core-first*»

S_{CF}-PIPOZ_{AC}: Poly-2-isopropyl-2-oxazline en étoile réalisée par la méthode «*core-first*» et purifiée par fractionnement centrifuge isotherme.

SEM: Microscopie à balayage (Anglais: *Scanning Electron Microscopie*)

TBD: 1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]dec-5-ene

T_{CP}: Température du point trouble. (Anglais: *Cloud Point Temperature*)

TEG: Triéthylène glycol

TEM: Microscopie électronique à transmission.

tetr-Core-4-yne: Tetrahedral Core-4-yne

THF: Tétrahydrofurane

T_m: Température de démixtion.

U.F.: Ultrafiltration

WAXS: Diffusion des rayons-X aux grands angles (Anglais: *Wide Angle X-Rays Scattering*)



*À ma mère, Lina Jean-Baptiste et à mon très discret père,
Richard Bullet afin de souligner l'amour indéfectible, leur
encouragement ainsi que tous les efforts qu'ils ont pu
fournir pour me faire parvenir à mes fins.*

À mes enfants...



Remerciements

Mes premiers remerciements sont adressés à ma directrice de recherche, la professeure Françoise M. Winnik, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire de recherche et mis à disposition toutes les ressources nécessaires à la réalisation des différents projets. Je vous sais gré de m'avoir soutenu et dépanné financièrement tout au long de ma thèse et pour tous vos encouragements.

Je tiens à remercier singulièrement le Prof. Patrice Hildgen pour m'avoir codirigé et soutenu tant financièrement que personnellement. Merci d'avoir toujours cru en moi particulièrement dans les périodes sombres de ma vie de doctorant. Je vous sais gré pour m'avoir permis de travailler dans des conditions de travail exemplaire et pour avoir su partager avec moi des discussions scientifiques fort intéressantes. Je ne vous remercierai jamais assez de m'avoir accordé toute votre confiance.

Je remercie sincèrement Dr. Jean-Michel Rabanel, pour toute l'aide technique apportée tout au long de ces longues années, pour les différentes réflexions et/ou toutes ces séances de remue-méninges autour du sujet sur l'acide polylactique. Merci particulièrement de m'avoir aidé à finaliser ma thèse.

Je tiens grandement à remercier tous mes collègues du groupe Winnik et particulièrement Eliza Hutter, Pei Lian Ma, Fabien Périneau, Alexandre Moquin pour l'agréable ambiance et toutes les soirées et repas organisés. Je tiens à accorder une mention spéciale à ma grande amie Adeline Lafon aka Adou avec qui j'ai commencé le doctorat et eu quelques différends qui n'altèrent pas à mon sens notre amitié. À ses côtés, j'ai pu partager les joies et surtout les peines de cette tâche ardue. Je ne la remercierai jamais assez pour son aide inconditionnelle, ses réprimandes et sa bonne humeur qui ont contribué à égayer ces longues années.

Merci aux membres du groupe Wuest, particulièrement Daniel Beaudouin, Sophie Langis-Barsetti, Fatima Helzi, Alice Heskia, Pierre-Louis Brunner et Dominique Laliberté pour m'avoir grandement dépanné quand des produits chimiques faisaient défaut dans l'inventaire du laboratoire Winnik. Merci aussi aux personnels des laboratoires de recherche et d'enseignement de la faculté de pharmacie pour toutes les aides fournies.

Je n'oublie pas aussi tous ceux qui ont pu m'enseigner et développer ma curiosité scientifique tout au long de mon parcours scolaire et universitaire. Je sais donc gré aux instituteurs de l'école du Morne Balai, aux enseignants du collège départemental de Basse-Pointe, du Lycée du Joseph Pernock et du lycée Bellevue, aux professeurs de l'université de la Rochelle, de l'université d'Orléans et particulièrement au Prof. Isabelle Gillaizeau et au Prof. Luigi Agrofoglio, et pour terminer aux professeurs du département de Chimie et de la faculté de Pharmacie de l'université de Montréal.

Je remercie aussi tous mes ami(e)s des clubs de boxe l'Académie Sportive et Thailong qui ont parfois contribué à évacuer mes frustrations sur et en dehors du ring. À ce titre je remercie mes amis Aimée, Jean-Robert, Xavier Solis, Christophe, Freddy et Donny, Alan Yu, Farid, Abdou et Lionel. Je remercie également mes ami(e)s Bruno et Eugenio Carpine, Teddy Baptiste, Vanessa Perdreiro, Gisella Ferraiolo, Stéphanie Boissé, Violaine et Florian Vizentin, Richy Hodebourg, Mohamed El Aris, Alexander Cunningham, Briec Guillaume et mon cousin Xavier Trilène pour tous les week-ends festifs, leurs aides, leurs écoutes ainsi que leurs attentions. Je remercie très chaleureusement Lauriane Bernard et Laurie K. pour tout ce qu'elles ont fait pour moi. Je vous suis grandement reconnaissant.

Je souhaite aussi exprimer ma reconnaissance à tous les membres de ma famille (Bullet, Jean-Baptiste, Ravi, Démonière, Tésor, Cyrille, Brudey, Lavenu...) qui sont nombreux et qui se reconnaîtront. J'aimerais toutefois remercier mes frères Williams et Ralph ainsi que mes sœurs Yoanne, Bélinda, Cathie et Nathalie pour leur soutien indéniab le et leur amour fraternel.

Je tiens à remercier solennellement ma conjointe Evgeniya Korchagina pour son aide inestimable et pour m'avoir soutenu lors de ces trois dernières années tant dans ma vie professionnelle que dans ma vie privée.

Je finirai cette tirade de remerciements par ce petit mot certes antédiluvien mais d'une grande importance sociale permettant de souligner toute ma gratitude à la fois envers tous ceux m'ont aidé et tous ceux que j'ai pu oublier:

«Merci...»

«Adan lavi sé yan a lot»

Traduction: *«L'union fait la force»*

Car seul, on ne peut pas tout faire.

CHAPITRE 1: Revue bibliographique

«La charrue en traçant le premier sillon a creusé les fondations de la société. Ce n'est pas seulement du blé qui sort de la terre labourée, c'est une civilisation tout entière.»

Séance publique de la Société d'agriculture de Macon (1er septembre 1839.)

Par Alphonse de Lamartine

Par analogie avec cette citation, je dirais que de bonnes bases sont les préceptes d'une bonne science

1.1 L'acide polylactique

1.1.1 Introduction

L'acide polylactique connu sous l'acronyme de PLA (nom systématique : acide poly(2-hydroxypropionique)), est un polymère dont l'unité constitutionnelle est l'acide lactique (72 g/mol). Carothers, chimiste chez Dupont de Nemours fut, en 1932, le premier à le synthétiser à partir de l'acide lactique. C'est un biopolymère faisant partie de la famille des polyesters dans laquelle on retrouve le polycaprolactone (PCL) et l'acide polyglycolique (PGA). La figure 1.1 ci-dessous présente ces biopolymères. Le PLA est un biopolymère biosourcé et biodégradable. Le terme biosourcé désigne la provenance du polymère tandis que le terme biodégradable désigne le type de dégradation impliqué et donc implicitement a trait à sa durée de vie. Par comparaison, le PCL est un biopolymère d'origine synthétique mais biodégradable.

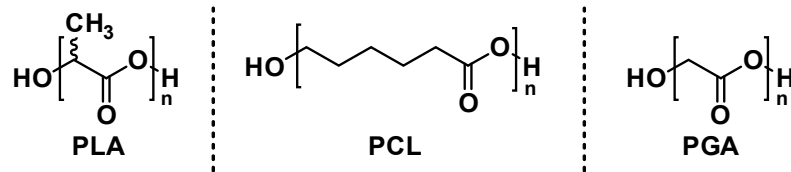


Figure 1. 1 Représentation du PLA, PCL et PGA

En 2016, la production mondiale d'acide polylactique s'élève à 450 000 tonnes par an dont 140 000 tonnes sont produites par NatureWorks® LLC [1, 2]. Bien que sa production soit importante, le PLA ne représente qu'une infime partie (moins de 1%) des 181 millions de tonnes des polymères synthétiques produits annuellement [3].

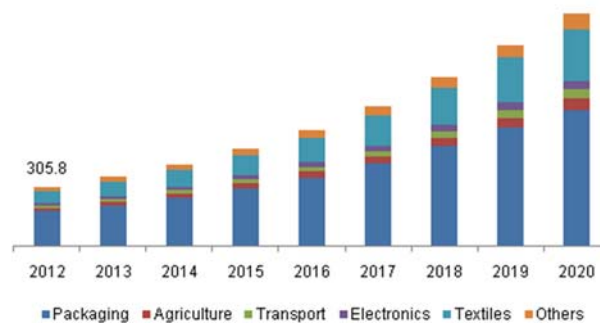


Figure 1. 2 Représentation du marché mondiale du PLA par secteurs d'activité [4].

Le marché du PLA est un secteur en constante progression comme le montre la figure 1.2. Sa biodégradabilité et sa biocompatibilité couplées à sa faible immunogénicité font qu'il se présente comme un substitut de choix aux polymères issus de la pétrochimie. Il est utilisé dans

presque tous les secteurs d'activité avec une forte présence dans la production d'emballage et l'industrie textile. Dans l'industrie des matières plastiques, il se retrouve sous la forme de films, de sacs, de contenants, de paillis pour l'agriculture etc. Dans le secteur médical, il occupe une place prépondérante en chirurgie et en orthopédie où il est particulièrement utilisé sous forme de fils de sutures, de stents, de prothèses et de vis de fixation [5]. L'emploi de matériaux biodégradable à base de PLA, au lieu de matériaux métalliques, permet de se soustraire à une seconde procédure chirurgicale parfois nécessaire pour leur retrait. Toutefois les applications du PLA, indépendamment du secteur d'activité, restent limitées en raison de l'absence de fonctionnalités orthogonales le long de la chaîne du polymère. La présence d'une telle fonctionnalité permettrait d'ajuster les propriétés physico-chimiques du PLA telles que sa cristallinité, sa dégradabilité ou encore l'amélioration de sa solubilité en phase aqueuse qui est un facteur important pour des applications dans les systèmes biologiques. Ces modifications peuvent être réalisées de diverses façons qui vont être développées ci-après. Nous allons tout d'abord exposer les différentes voies d'obtention du monomère et du polymère

1.1.2 Voies de synthèses du monomère et du PLA

1.1.2.1 Différentes voies de synthèse des polylactides

Les deux voies existantes de production du PLA sont la polycondensation directe à partir de l'acide lactique et la polymérisation par ouverture de cycle (ROP) du dilactide. La synthèse par polycondensation peut être réalisée différentes les séquences (Figure 1.3). La masse molaire et la distribution de masse du PLA obtenu sont dépendantes de la voie utilisée. La polycondensation conduit généralement à du PLA de faibles masses molaires variant entre 2 000-10 000 g/mol tandis que la polymérisation par ouverture de cycle produit des PLAs à hauts poids moléculaire (> 100 000 g/mol) [6].

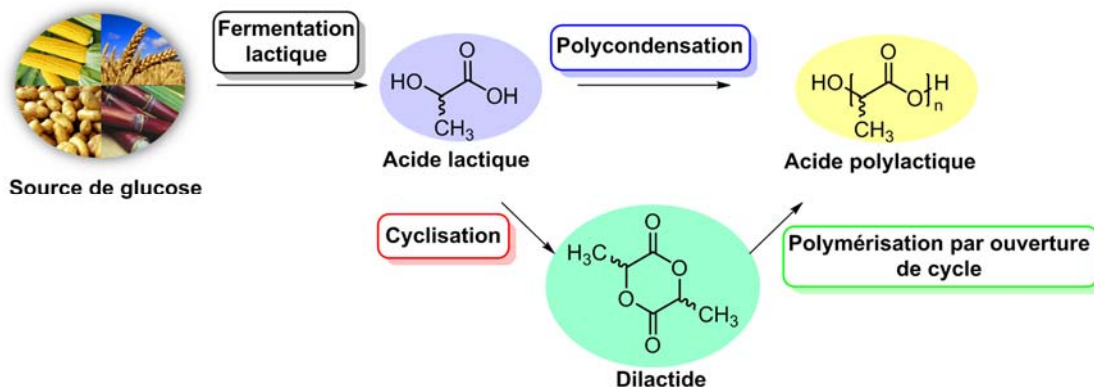


Figure 1. 3 Représentation des différentes voies d'obtention du PLA

1.1.2.2 L'acide lactique

L'acide lactique ou acide 2-hydroxypropanoïque fut découvert et isolé du lait caillé en 1780 par le chimiste suédois, Carl Wilhelm Scheele. Néanmoins, il doit son appellation actuelle au chimiste français Lavoisier [7]. L'acide lactique fait partie de la famille des acides alpha-hydroxylés dont il représente le plus petit constituant et existe sous deux formes racémiques L et D (Figure 1. 4). Seul l'isomère L est métabolisé par le corps humain. L'acide lactique peut être produit par voie chimique ou par fermentation microbienne.

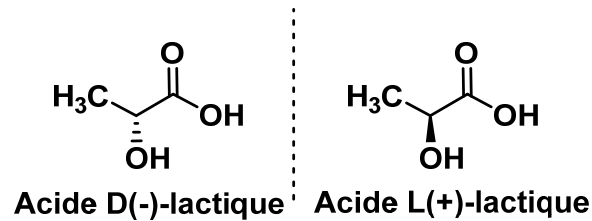
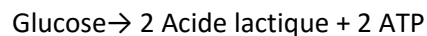
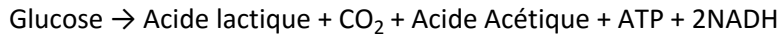
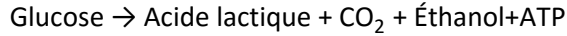


Figure 1. 4 Représentation des deux énantiomères de l'acide lactique

La fermentation lactique microbienne peut être issue de la conversion des glucides provenant de diverses ressources renouvelables telles que le maïs [1], la pomme de terre, le blé, le riz, la canne à sucre, la betterave sucrière [2, 8], la mélasse [9], la bagasse [10], la lignocellulose [11, 12] etc... Le maïs reste néanmoins la source glucidique la plus sollicitée dû à son faible coût de production et sa grande accessibilité. Les souches microbiennes les plus souvent utilisées sont les moisissures (*Rhizopus oryzae*)[11], les levures (*Saccharomyces*, *Candida* génétiquement modifiés...), les lactobactéries (*Lactobacillus*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium*...), les microalgues ou les cyanobactéries [2, 8]. En fonction de la souche microbienne, il est possible de produire soit l'isomère D ou L. Par exemple, *Rhizopus oryzae* produit l'acide L(+)-lactique tandis que l'acide D(+)-lactique peut être produit par *E.coli* génétiquement modifié. Selon le type de souche microbienne, la fermentation peut être soit hétérolactique ou soit homolactique [2, 8, 9]. La fermentation homolactique produit essentiellement de l'acide lactique à partir du glucose via la glycolyse.



Les rendements de production obtenus par cette méthode sont généralement élevés. Ils varient entre 70-99% de rendement (les pourcentages manquants sont dus consommation du glucose comme source de carbone par la biomasse) [8]. La fermentation hétérolactique quant à elle, produit de l'acide lactique (50 % en moyenne) en conjonction avec du dioxyde de carbone, de l'éthanol ou de l'acide acétique [8].



L'énantiosélectivité couplée au fort rendement fait de la fermentation lactique microbienne, la principale voie de production d'acide lactique. NatureWorks® LLC, plus gros producteur mondial, en produit 180 000 tonnes via cette méthode [1].

Chimiquement, l'acide lactique est obtenu par hydrolyse acide de la lactonitrile (Schéma 1.1) ou comme un produit secondaire lors de la synthèse de l'acrylonitrile [13]. La voie chimique aboutit à un mélange racémique D/L d'acide lactique.

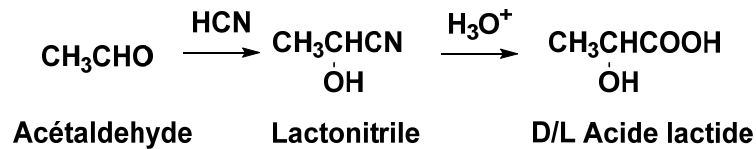


Schéma 1. 1 Synthèse de l'acide lactique par voie chimique

1.1.2.3 Le dilactide

Le dilactide ou lactide est un dimère cyclique d'acide lactique existant sous la forme de trois stéréoisomères (Figure 1.5). Il est produit par dépolymérisation («*back-biting*» en anglais) d'oligomères de PLA (chaîne de masse molaire comprise entre 1 000-5 000 g/mol) catalysée par des sels métalliques à base de plomb [14], d'étain [15], de zinc, d'aluminium [13] etc. La dépolymérisation a lieu à des températures comprises entre 160-250 °C sous vide afin d'éviter des réactions de dégradation thermique.

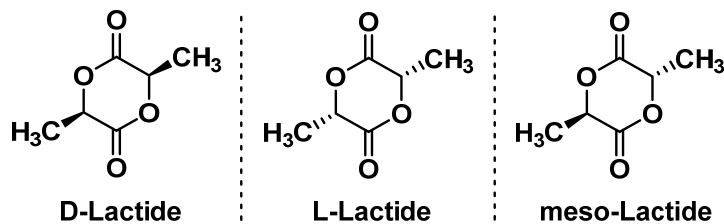


Figure 1. 5 Différents stéréoisomères du lactide

Les dilactides sont souvent utilisés pour la production de PLA par polymérisation en masse à des températures supérieures à leur point de fusion (Cf. Tableau 1.1 à la page suivante). La polymérisation en masse présente des avantages économiques et écologiques importants. Elle permet de s'affranchir de l'utilisation de solvants organiques et de simplifier les conditions de production.

Tableau 1. 1 Température de fusion des différents lactides [13]

Type de lactide	Point de Fusion (°C)
L- Lactide	95-98
D-Lactide	95-98
Méso-Lactide	53-54
Rac-Lactide	122-126

La présence d'un centre chiral au sein du monomère implique que le polymère résultant présente différentes tacticités. Le PLA peut en effet être atactique, hétérotactique, syndiotactique ou isotactique (Cf. Figure 1.6). Les propriétés du PLA dépendent fortement de sa microstructure. Les PLA hétérotactique, syndiotactique et isotactique sont semi-cristallins. L'acide poly-L-lactique PLLA est celui qui est plus utilisé dans le domaine biomédical car, comme mentionné ci-dessus, il est composé de l'acide L-lactique qui est le seul isomère présent dans les organismes supérieurs. Toutefois ses applications dans ce domaine restent limitées par sa cristallinité qui diminue la vitesse de (bio)dégradation du polymère [16, 17]. L'introduction d'objets composés uniquement de PLLA dans un organisme vivant conduit à des réactions d'inflammations [18]. La cristallinité peut être modulée par ajout d'un comonomère tel que l'acide glycolique.

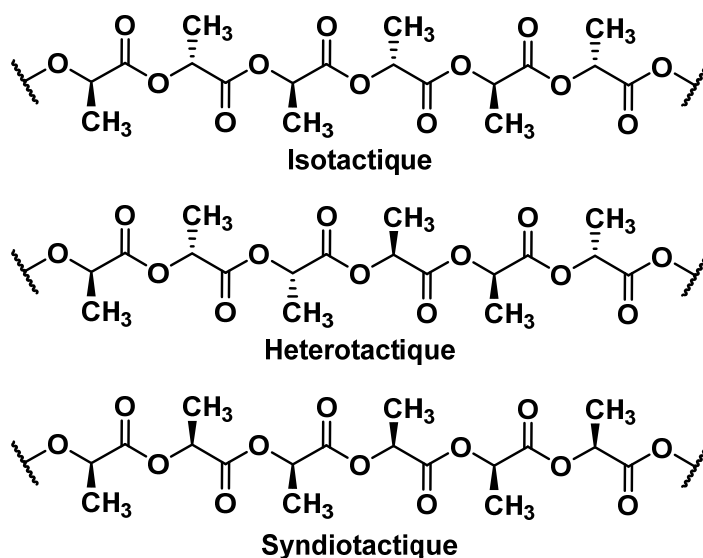


Figure 1. 6 Différents types de microstructure du PLA

1.1.2.4 Synthèse par polycondensation

La synthèse par polycondensation directe fut la première voie utilisée par Carothers en 1932. Dans cette approche, le PLA est synthétisé en chauffant à haute température et sous vide l'acide lactique. Les rendements et les masses molaire obtenus par cette méthode sont faibles et

sont principalement dus à la difficulté d'éliminer l'eau formée durant la polymérisation. Les chercheurs de Mitsui Toatsu chemicals Inc. se sont affranchis de cette contrainte en développant une méthode permettant d'obtenir du PLA à haut poids moléculaire, par polycondensation de l'acide lactide dans un solvant à haut point d'ébullition tel que le m-xylène et le mésitylène [19]. Dans ce procédé, l'eau formée lors de la polymérisation est enlevée dans par distillation azéotropique.

1.1.2.5 Synthèse du PLA par polymérisation par ouverture de cycle

La polymérisation par ouverture de cycle (ROP) du lactide peut se faire par voie anionique [20, 21], cationique [22], par coordination-insertion, par voie enzymatique [23] ou encore via les organocatalyseurs [13, 24] en solution ou dans la masse. Le choix de la méthode de polymérisation dépend, entre autres, des aspects économiques et de la finalité du produit.

1.1.2.5.1 Synthèse par polymérisation cationique

La polymérisation cationique par ouverture de cycle (CROP) se fait en présence d'acides organiques forts, tels que l'acide trifluorométhane sulfonique (TfOH), l'acide chlorosulfonique, l'éthérate de trifluore de bore ($\text{BF}_3\text{O}\cdot\text{Et}_2$) ou d'agent alkylants, tels que le triflate de méthyle (MeOTf) [22, 24]. Dans ce type de polymérisation, un agent alkylant ou un acide organique fort active un des carbonyles du lactide qui est ensuite attaqué par l'alcool. L'ouverture du cycle est induite par la protonation de l'oxygène endocyclique formant ainsi l'ester **1** devenant le nouveau nucléophile (Schéma 1.2). Du fait de la grande réactivité du cation formé, la CROP se fait essentiellement en solution dans des solvants chlorés ou dans le nitrobenzène et à des températures inférieures à 50°C. À des températures supérieures, des réactions de racémisation ont lieu conduisant à des pertes d'énantiosélectivités [22].

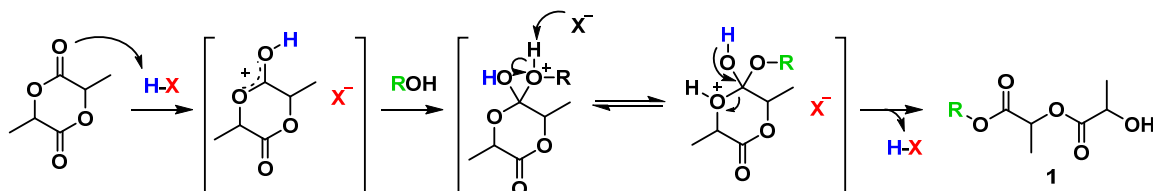


Schéma 1. 2 Ouverture du lactide par voie cationique

1.1.2.5.2 Synthèse par polymérisation anionique

La polymérisation anionique se fait en solution ou en masse et en présence d'alcoolates ou d'hydroxydes, tels que le triisopropanolate d'aluminium ($\text{Al}(\text{O}i\text{Pr})_3$), l'éthanolate de magnésium

(Mg(EtO)₂), le tétrabutanolate de titane (Ti(OBu)₄) [20], etc L'ouverture de cycle par voie anionique a lieu par attaque nucléophile de l'alcoolate sur le carbonyle du lactide menant au clivage de la liaison acyl-oxygène et la formation d'un nouvel amorceur **2** (Cf. Schéma 1.3).

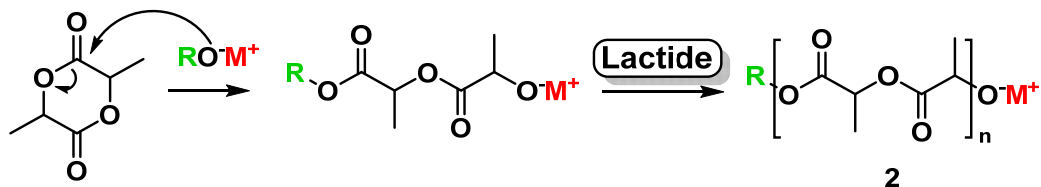
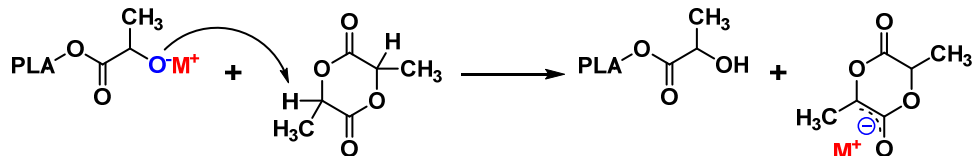


Schéma 1. 3 Synthèse du PLA par voie anionique

La polymérisation anionique du lactide, tout comme la polymérisation cationique, est sujette aux réactions de racémisations (Cf. Schéma 1.4A) et aux réactions de transtérifications (Cf. Schéma 1.4B) conduisant respectivement à la perte de l'énantiosélectivité et à l'augmentation de la distribution des masses molaires. La racémisation est due à la déprotonation de l'hydrogène acide en α -du carbonyle du monomère par l'alcoolate et à la délocalisation de la charge négative résultant de l'abstraction du proton (cf. Schéma 1.4A).

A. Déprotonation du monomère



B. Attaque sur la chaîne croissante

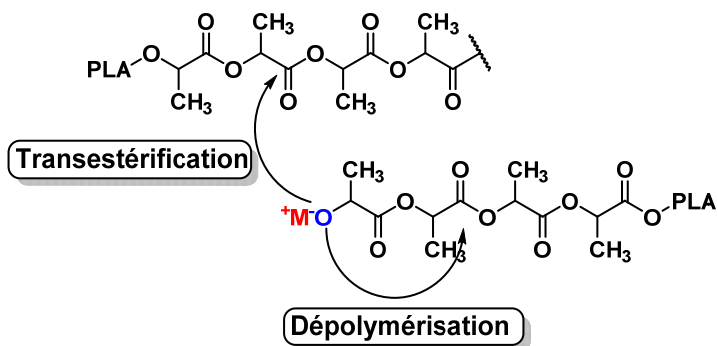


Schéma 1. 4 Différents types de réactions secondaires ayant lieu en polymérisation anionique

1.1.2.5.3 Polymérisation par coordination-insertion

Cette voie de synthèse est celle qui est la plus utilisée industriellement et fut réalisée dans les années 1950 par Schneider (Dupont de Nemours) qui a utilisé ROP du lactide catalysée par de l'oxyde de plomb [14]. Ce catalyseur fut toutefois abandonné du fait de sa toxicité et remplacé par l'octanoate d'étain, un catalyseur accepté par la Food and Drugs Administration (FDA). L'octanoate d'étain présente l'avantage d'être soluble aussi bien dans les solvants organiques que dans le fondu de polymérisation et de n'induire que très peu de racémisation lors des réactions d'ouverture de cycle. Le mécanisme de la synthèse de PLA via la polymérisation par ouverture de cycle de lactide catalysée par l'octanoate d'étain a été décrit dans la littérature et fut sujet à des discussions controversées entre 1990 et 2000.

Le mécanisme de la polymérisation par coordination est présenté sur le Schéma 1.5. Ce mécanisme fut établi par Duda *et al.* suite à des études approfondies de la polymérisation de lactones supportées par des analyses cinétiques et de MALDI [25-27]. Il débute par la coordination du carbonyle de la lactone sur le centre métallique (cf. étape 1) permettant l'activation de ce dernier à une attaque nucléophile par l'alcoolate (cf. étape 2 et 3). L'ajout de l'alcoolate conduit à l'ouverture de cycle et à la formation d'un nouvel alcoolate (cf. étape 4 et 5) qui peut réamorcer la polymérisation. Le catalyseur est ensuite décomplexé par ajout d'un solvant protique

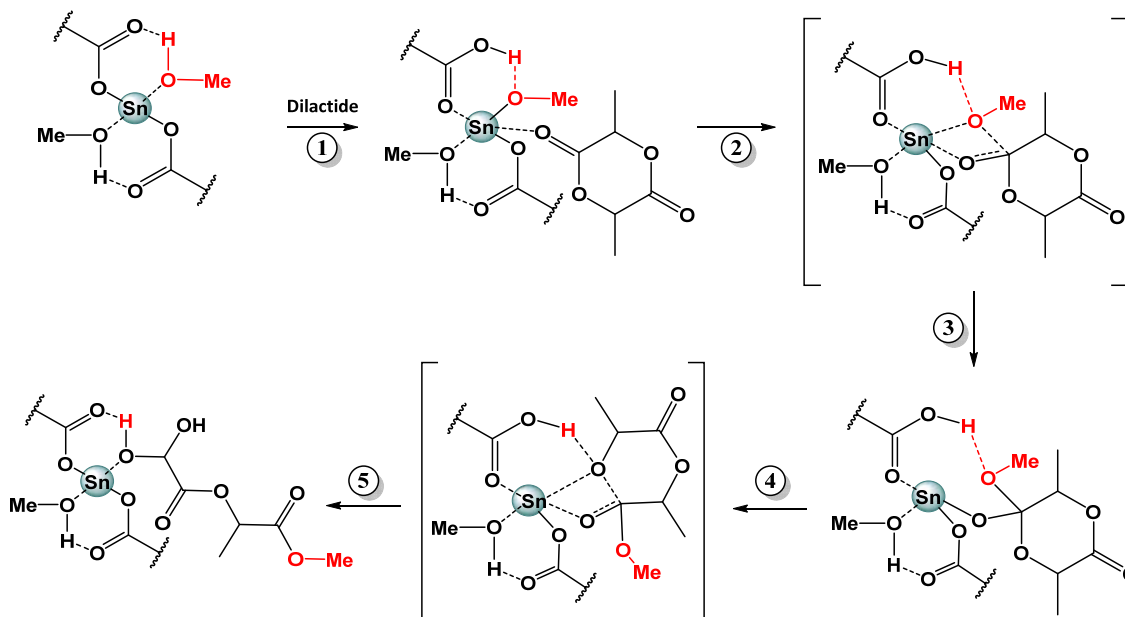


Schéma 1. 5 Polymérisation par ouverture de cycle du lactide en présence de $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ [28]. Reproduit avec la permission de L'ACS. Copyright © 2001, American Chemical Society.

La ROP du lactide via le mécanisme de coordination-insertion peut se faire soit en solution ou en masse avec une préférence pour la masse due aux raisons économiques liées à la

production. Il est possible d'obtenir des masses molaires élevées (>100 000 g/mol) par cette méthode toutefois la distribution de masse molaire est élevée (environ 1,5) due à des réactions de transestérification induites par la haute température utilisée lors de la polymérisation (>80°C). La ROP par coordination-insertion peut se faire avec une grande variété de métaux du groupe 2, des terres rares, et du groupe 4 [29, 30].

Bien qu'approuvé par la FDA et grandement éliminé durant les étapes de purifications, l'octoate d'étain ayant des effets adverses et toxiques n'est pas recommandée pour les applications biomédicales du polymère. L'utilisation de catalyseurs composés de métaux biocompatibles est privilégiée pour de telles applications. Des catalyseurs à base de calcium [31, 32], magnésium [33-35], zinc [31, 33, 35-38], manganèse [39], fer [39-42] ont été développés dans ce but. En plus de leur biocompatibilité, ces catalyseurs produisent des chaînes de PLA avec une dispersité de taille très étroite [31, 32, 34-36, 39, 40].

1.1.2.5.4 Les organocatalyseurs

La polymérisation du PLA via les organocatalyseurs a été développée afin de s'affranchir de la présence de métal dans le polymère. Les organocatalyseurs sont de nature très variée. Ils peuvent être des carbènes N-hétérocyclique (NHC), des pyridines, des phosphines, des phosphazènes, des thiourées, des amidines ou guaninides [43]. Leurs mécanismes catalytiques sont aussi très variés. Il existe trois types de mécanismes d'ouverture de lactones en leur présence (Cf. Schéma 1.6 ci-dessous).

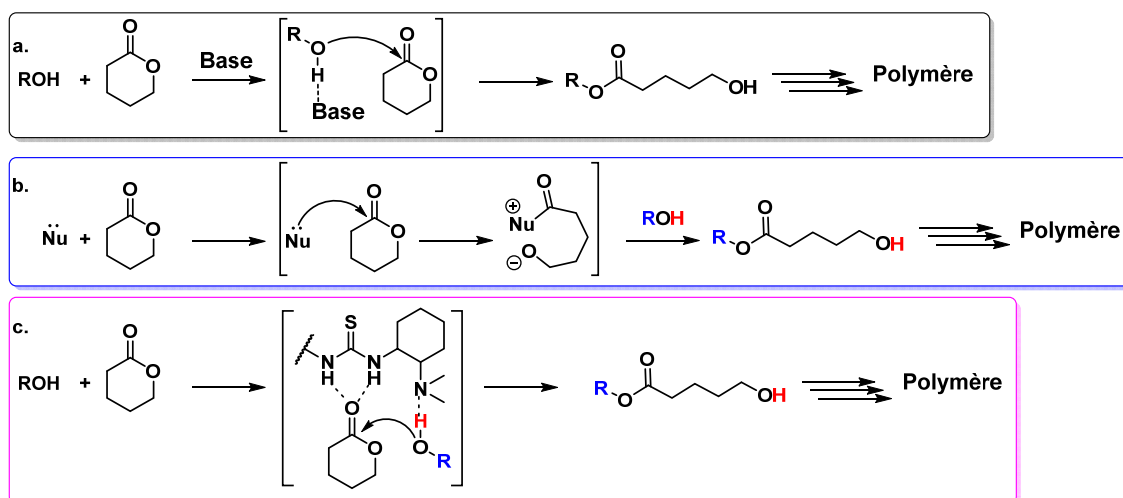


Schéma 1. 6 Différents modes d'ouverture de lactone en présence d'organocatalyseurs. Adapté avec permission de la référence [44]. Copyright © 2008, Royal Society of Chemistry.

Ils peuvent agir soit par activation de l'alcool (Cf. Schéma 1.6 a.), soit par activation nucléophile du monomère (Cf. Schéma 1.6 b.), soit par une action combinée des deux voies précédemment citées (Cf. Schéma 1.6 c.). La voie **a.** est réalisée par les catalyseurs tels que le 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène (DBU), la 1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]dec-5-ène (TBD), sa version méthylée, la 7-méthyl-1,5,7-triazabicyclo [4.4.0]-déc-5-ène (MTBD) ou la 2-tert-butylimino-2-diéthylamino-1,3-diméthylperhydro-1,2,3-diazaphosphorine (BEMP)[45], la voie **b.** par des molécules de la famille des NHC ou par la N,N-diméthylaminopyridine (DMAP) et la voie **c.** par les membres de la familles des thiourées [46] (cf. Figure 1.7 ci-dessous).

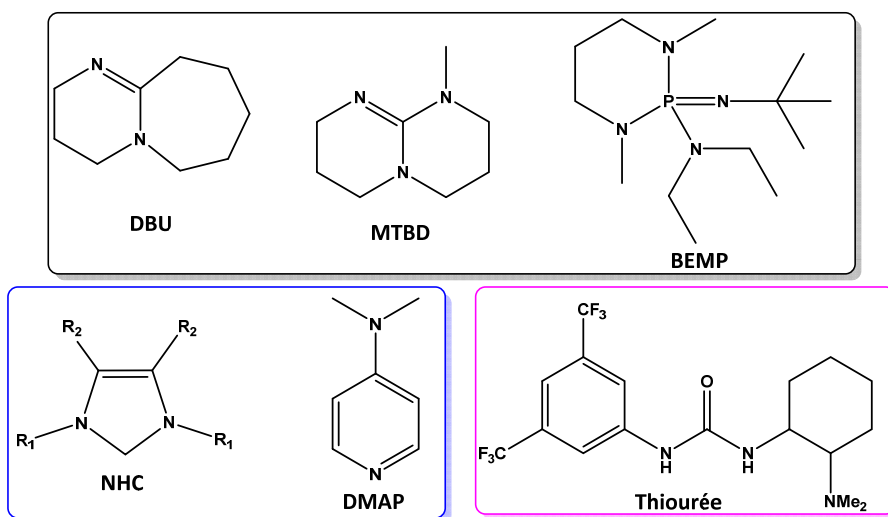


Figure 1. 7 Présentation de quelques organocatalyseurs regroupés par type de catalyse.

En plus de s'affranchir de la présence des métaux, les organocatalyseurs tels que la DMAP [47] le DBU, la TBD [48], les thiourées[46], les phosphazènes [45] permettent aussi d'obtenir des chaînes de PLA avec une dispersité très étroite en un temps de polymérisation court. La TBD par exemple catalyse la polymérisation du PLA de degré de polymérisation de 100 et de 500 en, respectivement, 20 secondes et 1 minute [48]. Bien que le PLA puisse être produit par différentes méthodes efficaces de polymérisation, son utilisation reste toutefois restreinte due à l'absence de groupements fonctionnels le long de la chaîne aliphatique qui permettraient l'introduction de petites molécules et ou de polymères. Nous allons détailler quelques exemples de fonctionnalisations effectuées.

1.1.3 Fonctionnalisation de la chaîne aliphatique du PLA

1.1.3.1 Généralités

La fonctionnalisation des PLA, ou de façon plus généralisée, des polyesters peut se faire selon trois approches:

- Par fonctionnalisation post-polymérisation : modification directe de la chaîne de polyesters
- Via la synthèse de lactones fonctionnalisées
- Par copolymérisation avec un monomère de nature différente ou par greffage/couplage à un polymère préexistant.

La fonctionnalité rajoutée doit répondre à certains critères. Les réactions de fonctionnalisation doivent avoir des taux de rendements élevés. Elles doivent être compatibles avec les réactions de (co)polymérisations contrôlées. Les réactions de modifications ultérieures (post-polymérisations) ne doivent pas induire de clivages de la chaîne aliphatique du polyester. De plus, la fonctionnalité incorporée ne doit pas conduire à des sous-produits toxiques de dégradation si le polymère formé est destiné à des applications biomédicales [49, 50].

1.1.3.2 Fonctionnalisation par modifications post-polymérisation

Cette méthode repose sur l'abstraction d'un ou plusieurs protons acides en α du carbonyle de l'ester de la chaîne aliphatique par une base forte non-nucléophile, suivi de désactivation du carbanion formé par un électrophile (cf. Schéma 1.7). La base utilisée est le diisopropylamidure de lithium (LDA). Cette méthode fut développée par Vert et al [51-53]. Ils synthétisèrent des polymères à base de PCL, de PCL-b-PLA et de PLA modifiés avec des groupes méthyles, des composés carbonylés, et de courtes chaînes de polyéthylène glycol. Cette voie de fonctionnalisation bien qu'efficace en termes de rendement de degré de fonctionnalisation conduit cependant à des altérations de la chaîne aliphatique. Des réactions secondaires similaires aux réactions de dépolymérisation et de transestérification sont observées (cf. Schéma 1.4 B). Elles n'impliquent plus un alcoolate mais un carbanion [51].

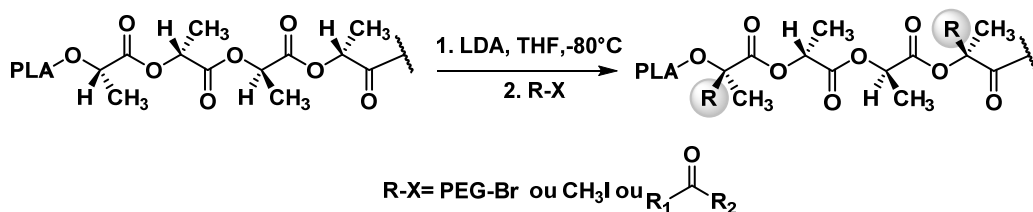


Schéma 1. 7 Fonctionnalisation du PLA selon la méthode de Vert et al.

D'autres voies d'introduction de fonctionnalité directes ou indirectes permettent de contourner ces réactions secondaires, comme la copolymérisation en présence de lactones fonctionnalisées ou avec d'autres types de monomères.

1.1.3.3 Fonctionnalisation par copolymérisation

Les premières fonctionnalisations réalisées sur le PLLA ne visaient pas à introduire des fonctionnalités transversales le long de la chaîne aliphatique mais à modifier ses propriétés physiques telles que sa cristallinité par copolymérisation avec du glycolide par exemple. En plus de modifier la cristallinité du polymère, l'introduction d'acide glycolique permet d'améliorer le caractère hydrolytique de la chaîne. Toutefois, ces fonctionnalisations n'améliorent guère la solubilité du polymère en phase aqueuse, un caractère important dans le domaine biomédical. Les premières fonctionnalisations réalisées en ce sens furent faites par Langer et al. qui synthétisèrent un dibloc de polyéthylène glycol-b- acide poly(lactique-co-glycolique) (PEG-PLGA) par ROP du dilactide en présence de $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ et de méthoxy-PEG-OH comme macroamorceur [54]. Le caractère hydrophile est apporté par la chaîne de polyéthylène glycol (PEG). Ce dibloc PLGA-PEG s'autoassemble en solution aqueuse pour former des micelles polymères avec comme cœur les chaînes de PLA et comme couronne externe les chaînes de PEG. Ces micelles peuvent véhiculer des drogues hydrophobes au sein de leur cœur. Des triblocs peuvent être aussi préparés par cette méthodologie [55] ou en présence d'organocatalyseurs comme le TBD [48]. Le PEG permet à la micelle d'être furtive vis-à-vis du système immunitaire et ainsi prolonger la durée de son séjour dans la circulation sanguine [56]. Toutefois des préoccupations concernant la bioaccumulation du PEG ont menées les chercheurs à développer des systèmes composés de biopolymères et/ou de polymères biodégradables. Des modifications de la chaîne de PLA furent réalisées avec de l'acide hyaluronique [57, 58], des dextrans [59, 60], du pullulane [61], de la cellulose [62] ou encore de la poly-(2-éthyl-2-oxazoline) [63] etc. Le PLA peut se retrouver avec ces polymères sous forme de dibloc linéaire ou sous forme de brosse. Cependant ces modifications ne se limitent qu'aux extrémités des polymères. Le nombre de fonctionnalités au sein de la chaîne de PLA, ou de polyester en général, peut être efficacement augmenté par copolymérisation aléatoire avec des lactides dissymétriques, des ϵ -caprolactones ou des glycolides fonctionnalisées. Il existe une grande variété de lactones fonctionnalisées. Quelques exemples sont représentés dans la Figure 1.8 ci-dessous.

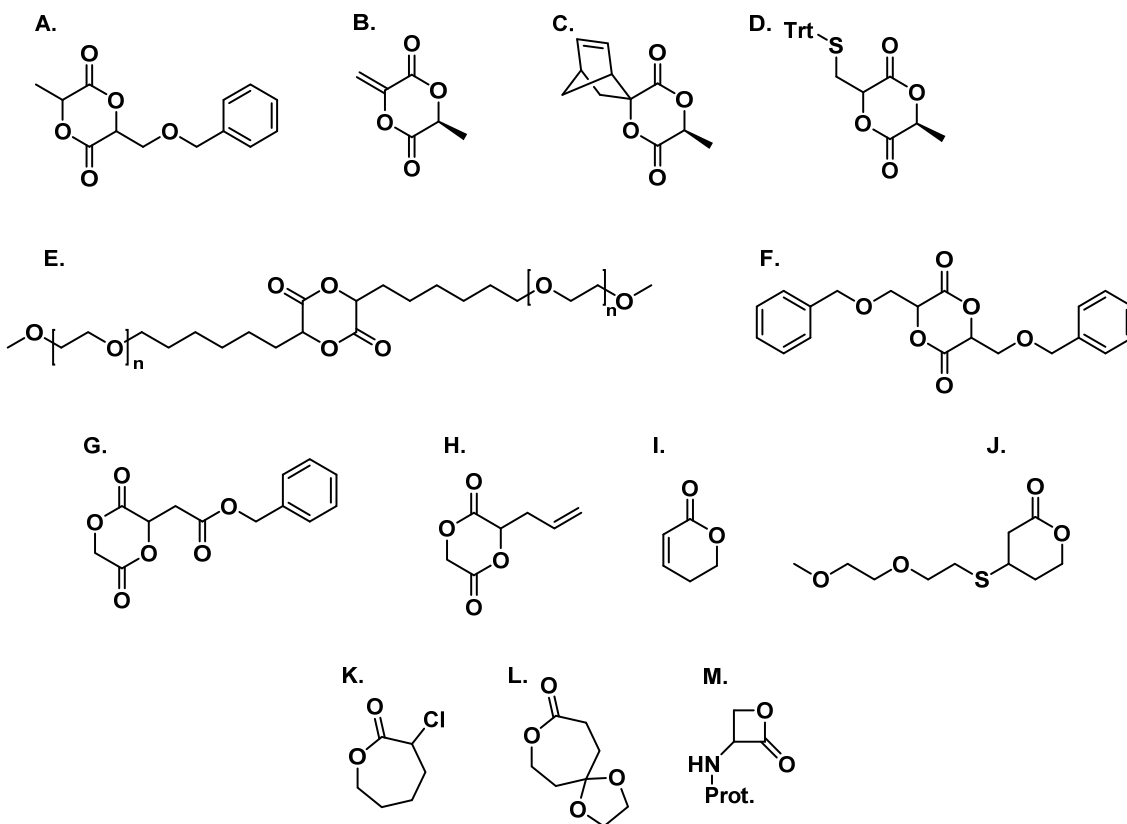


Figure 1. 8 Présentation de quelques lactones fonctionnalisées.

Des lactides dissymétriques (cf. Figure 1.8 A) ont été synthétisées par Leemuis et al. permettant d'introduire des groupement hydroxyles après déprotection au sein de la chaîne de polyester[50]. Warner *et al.* ont synthétisé des lactones symétriques permettant d'introduire les mêmes fonctionnalités (cf. Figure 1.8 F) [64]. Des alcènes peuvent aussi être introduits au sein des polyesters par polymérisation de lactones telles que les molécules B et C [65]. Fuoco *et al.* ont modifié la lactone B par réaction avec des thiols via la réaction thiol-ène pour obtenir la molécule D [66]. L'introduction des thiols permet d'avoir des chaines latérales pouvant être clivées par des réactions d'oxydo-réduction. Ils ont aussi fonctionnalisé la spirolactone C par réaction avec des azotures (R-N₃) par cycloaddition 1,3 dipolaire. D'autres types de lactones portant des fonctions alcènes ont été synthétisés par Leemhuis *et al.* (cf. Figure 1.8 H) [67] et par Kim *et al.* (cf. Figure 1.8 I) [68]. Kim et al. tout comme Fuoco accrochèrent des α -thio- ω -méthoxy-oligoéthylènes glycols (cf. Figure 1.8 J) à la valérolactone I. Jiang *et al.* ont synthétisé une lactone symétrique portant des chaînes latérales composés d'oligoéthylène glycol (cf. Figure 1.8 E). Le polymère issu de ces lactones est soluble en phase aqueuse et présente une température de solution critique inférieure (LCST) [69]. Des fonctionnalités telles que les acides carboxyliques peuvent aussi être

introduites sur les lactones mais sous forme protégée car elles peuvent inhiber la ROP des lactones (cf. Figure 1.8 **G** et **L**) [70, 71]. Les lactones peuvent être aussi obtenues à partir d'acides aminés. Warner *et al.* ont produit une lactone protégée (cf. Figure 1.8 **M**) issue de la sérine. Ce produit a été copolymérisé avec des lactides et des caprolactones [64]. Comme mentionné précédemment, les lactones peuvent apporter une fonctionnalité directement au sein de la chaîne aliphatique et/ou par modification post-polymérisation. Par exemple, Jérôme *et al.* modifièrent le polymère résultant de la lactone **K** (cf. Figure 1.8) avec des azotures [49]. Cette fonctionnalité leur permit ensuite de modifier le polyester par chimie clic (cycloaddition alcyne-azoture catalysée par le cuivre (CuAAC)) [49]. Les groupements pendants alcènes issus de la polymérisation de la lactone **H** ont été transformés par Leemhuis *et al.* soit en époxyde par action de l'acide *méta*-chloroperbenzoïque (mCPBA) soit en diols par action du tétroxyde d'osmium.

Bien que ces lactones puissent être utilisées pour obtenir des polyesters possédant des groupements pendants, leur utilisation reste encore limitée car leur synthèse peut s'avérer fastidieuse et difficile à adapter à grande échelle.

Une autre approche de fonctionnalisation consiste à copolymériser la lactone avec un monomère de nature différente. Zheng *et al.* ont synthétisé un polyester avec des groupements pendants alcynes par copolymérisation aléatoire de ϵ -caprolactone (ϵ -CL) avec des phospholanes (cf. Figure 1.9) portant un alcyne [72]. Carpentier *et al.* ont aussi fonctionnalisé des polyesters avec des carbonates portant des groupements pendants [73].

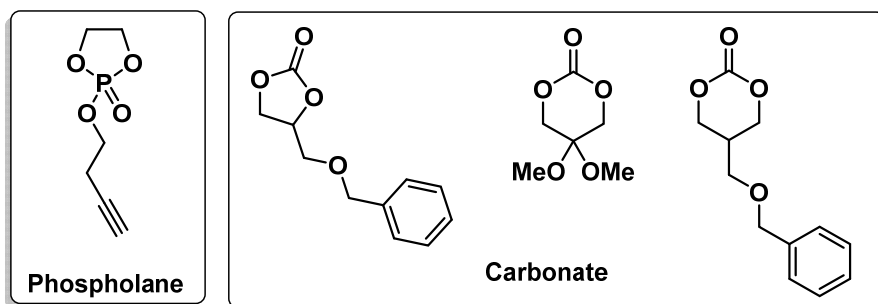


Figure 1. 9 Autres monomères utilisés pour la fonctionnalisation des polyesters.

Une approche intéressante fut aussi développée par Hildgen *et al.* [74]. Elle consiste à copolymériser en masse aléatoirement des lactones (dilactide, ϵ -CL) avec des époxydes en présence de sel d'étain (tétraphényl étain Sn(Ph)₄ ou octoate d'étain Sn(Oct)₂). Cette approche est très intéressante car une grande variété d'époxyde est disponible commercialement et/ou

peut être facilement accessible par synthèse via l'oxydation d'alcènes par l'oxone ou l'acide métachloroperbenzoïque (mCPBA), l'époxydation de Jacobsen, ou par substitution nucléophile intramolécule d'halohydrines.

Hildgen *et al.* ont utilisé est l'éther d'allyle et glycidyle. La fonctionnalité est apportée par la chaîne allylique (schéma 1.8) [74]. Les glycidyl éthers sont des dérivés du glycérol.

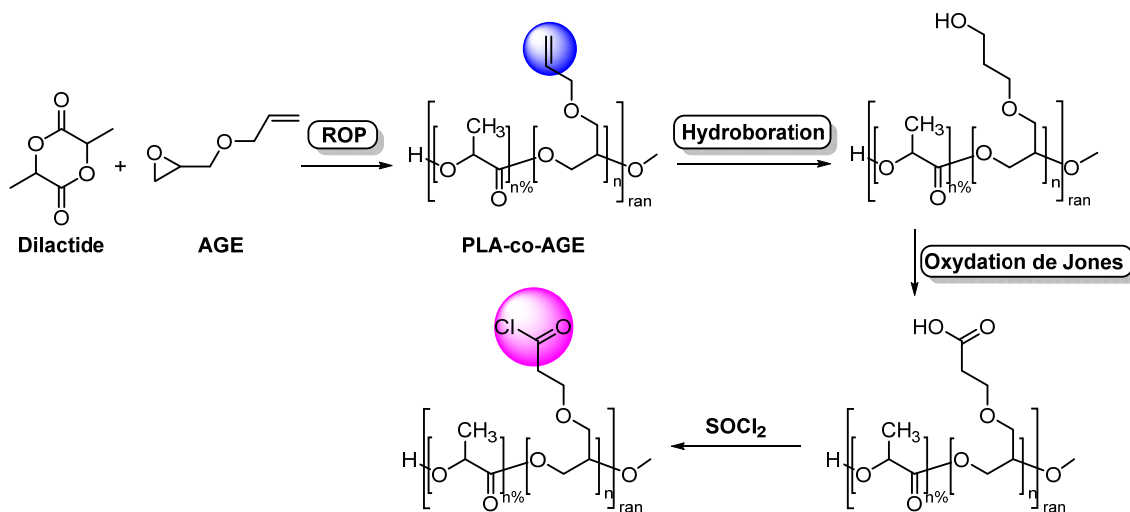


Schéma 1. 8 Synthèse et modifications de PLA-co-AGE. Adapté de Hildgen et al [74]. Conditions: i. Sn(Ph)₄, 180°C; ii.a. BH₃-THF, THF, 0°C; b. NaOH, H₂O, H₂O₂; iii. Réactif de Jones (CrO₃/H₂SO₄/H₂O), acétone, 0°C iv. SOCl₂, CH₂Cl₂, 0°C.

La chaîne allylique du polymère est transformée en acide carboxylique par hydroboration suivie d'une oxydation de Jones, puis en chlorure d'acyle par réaction avec du chlorure de thionyle. Ces modifications post-polymérisation permettent de lier des PEG [75] et des ligands de récepteurs cellulaires (la sélectine) [76]. Les polymères fonctionnalisés avec du PEG s'auto-assemblent en solution aqueuse pour former des nanoparticules.

L'introduction d'une fonctionnalité pendante le long de la chaîne aliphatique permet d'introduire une large gamme de molécules et d'accéder à d'autres architectures telles que les peignes.

1.1.4 Applications

En médecine, le PLA est utilisé comme matériaux pour les outils orthopédiques tels que les vis, les fils de suture, les prothèses, et dans l'industrie du plastique comme matériel d'emballage. Il est aussi utilisé de dans le domaine biomédical, en ingénierie tissulaire, et dans l'agriculture. En

raison de son hydrophobie, le PLA est utilisé en nanomédecine comme vecteur de médicaments hydrophobes comme la doxorubicine ou la curcumine. Les systèmes amphiphiles à base de PLA s'auto-assemblent en solution aqueuse pour former des nanoparticules dont le centre est constitué de chaînes de PLA (qui tendent à limiter leurs interactions avec l'eau) et la couronne de polymères hydrophiles (par exemple du PEG, de l'acide hyaluronique). La Figure 1.10 illustre des nanoparticules faites à partir de PLA-g-PEG. Des drogues peuvent être insérées au sein des nanoparticules et être délivrées passivement à des tumeurs via l'effet de perméabilité et de rétention [77].

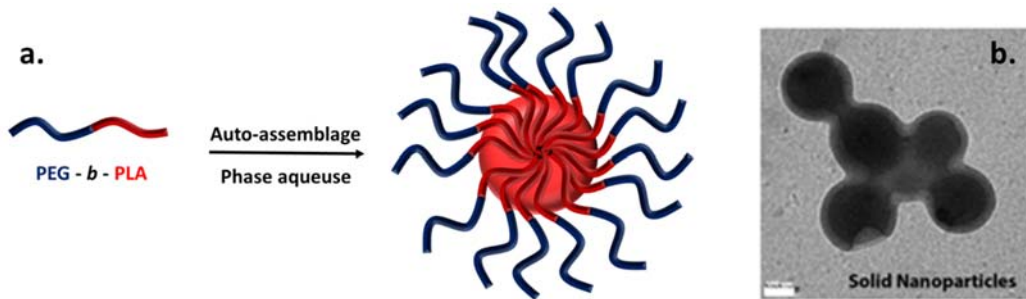


Figure 1. 10 a. Schématisation de l'autoassemblage de PLA-b-PEG en phase aqueuse. **b.** Image de microscopie électronique à transmission de nanoparticules composées de copolymère PLA-g-PEG. Reproduit avec permission de la Réf.[78]. Copyright © 2015, American Chemical Society

Le PLA est aussi utilisé dans l'agriculture pour le relargage contrôlé de pesticides permettant ainsi de limiter les déversements intensifs de pesticides dans l'environnement [79]. En ingénierie tissulaire, le PLA est utilisé sous forme d'hydrogel couplé à d'autres polymères en tant que matrice pour la culture cellulaire ou tissulaire [59, 80]. Les hydrogels peuvent être insérés au sein d'une lésion ou d'un organe pour faciliter la cicatrisation par prolifération cellulaire et résorption (biodégradation, érosion) de la matrice PLA.

Bien que le PLA soit largement utilisé dans le domaine biomédical, d'autres systèmes tels que les polymères en étoile à base de polymères biocompatibles et biodégradables tels les poly-(2-alkyl-2-oxazoline)s se présentent comme des systèmes prometteurs.

1.2 Les polymères en étoile

1.2.1 Introduction

Les polymères en étoile font partie des polymères ramifiés dans lesquels on retrouve les polymères greffés, les dendrimères et les polymères hyperbranchés.

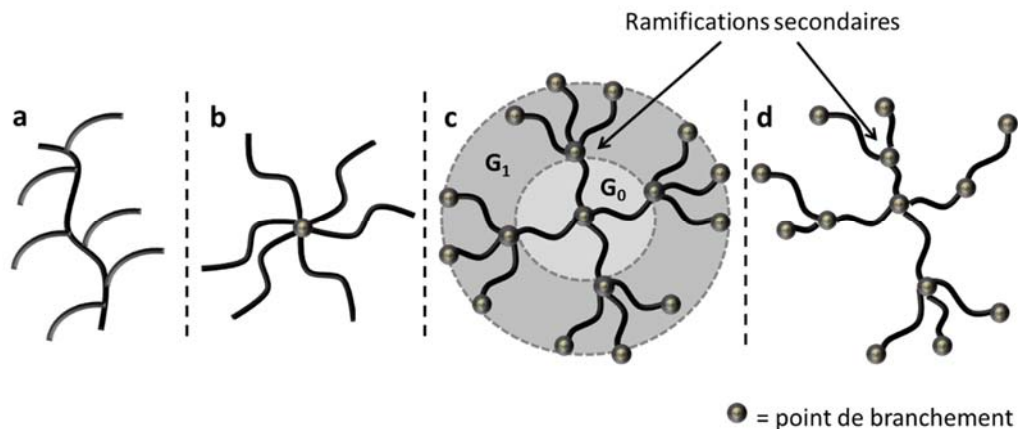


Figure 1. 11 Représentation des différents polymères ramifiés : a. polymère greffé, b. polymère en étoile, c. dendrimère de première génération, d. polymère hyperbranché

Les dendrimères (dont le nom provient du grec ancien *dendron* signifiant arbre, et *meros*, signifiant parts) sont des polymères à forte arborescence, de structure monodisperse et hautement symétrique (cf. Figure 1.11 c) [81]. Ils sont aussi nommés «arboroles» qui provient du mot latin *arbor* signifiant aussi arbre [82]. Les dendrimères sont composés de trois régions distinctes: le cœur central multivalent permettant l'accrochage des branches primaires, une zone centrale composée des branches de différentes générations et une zone périphérique constituée de groupements terminaux pouvant interagir avec le milieu [83]. Ils sont généralement synthétisés itérativement à partir de monomères de type $(AB)_n$ avec $n \geq 2$ soit par méthode divergente et/ou méthode convergente (cf. annexe. 1 pour une description de ces deux méthodes). Chaque couche d'arborescence est appelée génération. Le nombre de génération est déterminé par le nombre de points d'embranchement à partir du cœur vers la surface externe du dendrimère (cf. Figure 1.11 c). Ainsi un dendrimère de quatrième génération, noté dendrimère-G4, est un polymère contenant quatre points de branchement. Il est bien de noter que le cœur n'est pas un point de branchement en soi et que la couche périphérique au cœur est souvent référée comme étant la génération zéro ou G0.

Les polymères hyperbranchés sont synthétisés tout comme les dendrimères à partir de monomère de type $(AB)_n$ avec $n \geq 2$, mais contrairement à ces dernières, ils sont issus de polymérisations aléatoires le plus souvent réalisées en une étape. Il en résulte donc un polymère possédant une architecture asymétrique comportant des segments à la fois linéaires et

dendritiques. Ce mélange conduit de ce fait à un mélange de polymère à forte dispersité (cf. Figure 1.11 d).

Les polymères en étoiles se différencient des polymères hyperbranchés et des dendrimères par le nombre de point de branchement. En effet, contrairement à ces dernières, ils sont constitués de plusieurs bras (au minimum trois bras) de polymères connectés à un cœur central multifonctionnel. Les dendrimères et les polymères hyperbranchés par opposition possèdent des ramifications secondaires (cf. Figure 1.11 a).

1.2.2 Configurations des polymères en étoile

En fonction de la composition de leurs branches, les polymères en étoiles peuvent être classés en deux catégories : **les polymères en étoiles homogènes** possédant des branches de mêmes longueurs et **les polymères en étoiles hétérogènes** possédant des branches de longueurs variées. Ces deux catégories peuvent à leur tour être subdivisées en trois sous-catégories selon la composition des branches en:

- **Homopolymères de type A_n** où tous les bras sont constitués d'un seul type de monomère (cf. Figure 1.12 a).
- **Polymères à bloc de type $(AB)_n$** où les bras sont constitués de deux blocs de polymères A et B distincts (cf. Figure 1.12 b).
- **Miktoarms** (provenant du grec *miktos* et signifiant «mélanger») dans lesquels la composition de chaque bras varie soit chimiquement soit par la masse molaire (cf. Figure 1.12 c-e).[84]

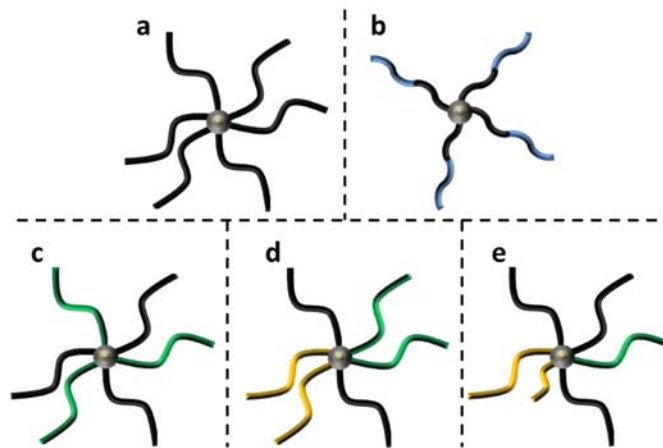


Figure 1. 12 Aperçu des différents types de polymères étoilés : a. Polymère de type A_n , b. Polymère à bloc $(AB)_n$, polymère «miktoarms» c. de type A_3B_3 , d. de type $A_2B_2C_2$, e. de type $AA'B_3C$. (Adapté de Kakkar et al., 2010)[84]

1.2.3 Synthèse des polymères en étoiles

Historiquement, le premier article traitant des polymères en étoile parut en 1948 et fut rédigé par le célèbre physico-chimiste Paul J. Flory et son collaborateur John R. Schaefer. Ils synthétisèrent des polymères en étoile à base de polyamide par polycondensation [85]. Il existe deux approches permettant l'obtention de polymères étoilés qui sont la méthode divergente et la méthode convergente.

1.2.3.1 Méthode divergente

La **méthode divergente** (« *core first* » dans la littérature anglaise) fut celle employée par Flory et Schaefer. Elle consiste à synthétiser le polymère en étoile de façon radiale à partir d'un cœur plurifonctionnel via des polymérisations vivantes contrôlées, telles que la polymérisation cationique, anionique et radicalaire (cf. Figure 1.13). Les polymérisations radicalaires les plus utilisées pour la conception de polymères en étoiles sont la polymérisation radicalaire par transfert de chaîne réversible par addition-fragmentation (**RAFT** : *Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer polymerization*), la polymérisation radicalaire par transfert d'atome (**ATRP** : *Atom Transfer Radical Polymerization*) et la polymérisation radicalaire médiée par le nitroxyde (**NMP** : *Nitroxide Mediated radical Polymerization*). L'emploi de polymérisation vivante contrôlée permet d'obtenir des polymères avec une dispersité de masse (\bar{M}_w/\bar{M}_n) étroite.

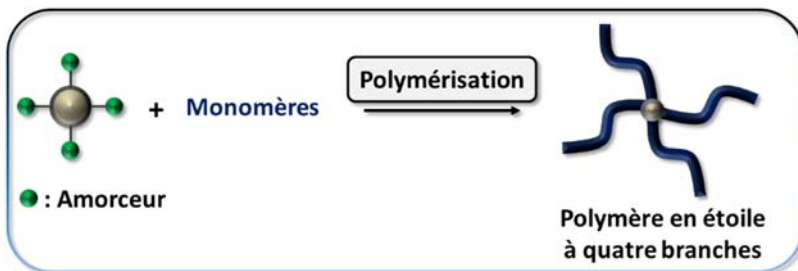


Figure 1. 13 Synthèse des polymères en étoile par la méthode divergente

La méthode divergente donne facilement accès à des polymères en étoiles avec des masses molaires très élevées. La purification des étoiles obtenues se limite principalement à l'élimination du monomère et des éventuels catalyseurs et/ou ligands. L'emploi de polymérisations vivantes pour réaliser les bras de l'étoile, donne la possibilité de synthétiser des polymères à bloc par introduction séquentielle d'un autre monomère, ou encore d'introduire directement un groupement fonctionnel terminal par désactivation de la polymérisation. Quirk et Tsai ont synthétisé des polymères en étoile à trois branches de poly(styrène) avec en bout de chaîne des

acides carboxyliques par désactivation de l'espèce propagatrice lithiée (*poly(styryl) lithium*) avec du gaz carbonique [86]. Toutefois, la méthode divergente n'est pas adéquate à l'élaboration de polymères en étoile «*miktoarms*» et est généralement réalisée à de faibles taux de conversion afin d'éviter les réactions de couplages intra- ou inter-polymères qui conduisent à une large distribution des masses molaires. Ces réactions de couplages sont principalement présentes dans les polymérisations radicalaires.

De plus, les cœurs utilisés dans cette méthode étant généralement de petites molécules organiques limitent la possibilité d'avoir des polymères en étoile avec un nombre élevé de bras ($3 < \text{nombre bras d'un cœur} < 21$ [87, 88]). L'emploi de dendrimères ou de molécules hyperbranchées comme cœur réactionnel permet néanmoins de contourner ce problème [89-93]. Matyjaszewski *et al.* ont aussi développé une approche permettant d'avoir des étoiles avec un nombre élevé de bras par polymérisation à partir d'un cœur plurifonctionnel généré *in-situ* par réticulation [94]. Cette méthode permet d'avoir des polymères en étoile de 43 à 86 bras mais néanmoins avec des compositions très hétérogènes. Bien qu'il soit possible d'augmenter le nombre de bras, les informations relatives à ceux-ci (M_n , M_w et la dispersité \mathcal{D}) sont toutefois difficiles à déterminer et nécessitent parfois le clivage des bras.

1.2.3.2 La méthode convergente

La méthode convergente permet de synthétiser les polymères en étoile selon deux approches bien distinctes :

- L'approche des nodules «**arm-first**»
- L'approche «**coupling-onto**»

Ces approches font toutes deux appel à un bras polymère mais différent cependant dans la synthèse de l'étoile. Contrairement à la méthode divergente, ces deux approches permettent au préalable, d'avoir les informations relatives aux bras polymères (M_n , M_w , \mathcal{D}).

1.2.3.2.1 La méthode convergente ou méthode des nodules «*arm-first*»

Dans cette approche, contrairement à la méthode divergente, le cœur du polymère en étoile (**nodule réticulé**) est construit par polymérisation réticulante entre des bras polymères et des monomères plurifonctionnels. La réticulation peut se faire soit via une polymérisation radicalaire ou soit par couplage chimique. Cette approche fut réalisée pour la première fois par Zilliox *et al.* en 1968 [95]. Elle est référée dans la littérature sous l'appellation de «*arm-first*», «nanogel approach» ou encore «*core-cross linked star polymer*» (CCS).

Il existe trois voies synthétiques permettant de réaliser cette méthode convergente:

- **L'approche des macroamorceurs** où le polymère en étoile est construit par polymérisation de monomères plurifonctionnels (agents de réticulation) amorcée par le bras polymère (macroamorceur).
- **L'approche des macromonomères** où le polymère en étoile est synthétisé par polymérisation d'un bras polymère comportant un ou plusieurs sites réactionnels (e.g. des acrylates ou des groupements vinyliques) en bout de chaîne et un agent de réticulation. Les deux approches sont schématisées sur la figure 1.14 ci-dessous.

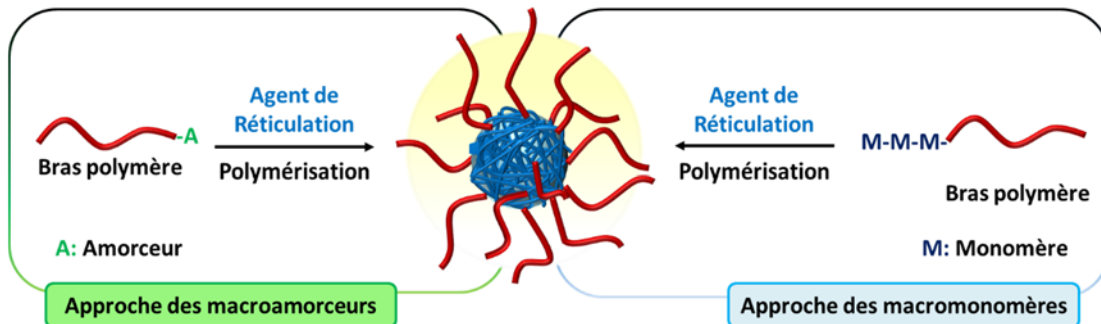


Figure 1. 14 Représentation schématique de l'approche des macroamorceurs et des macromomères.

- **L'approche d'auto-assemblage-réticulation** (cf. Figure 1.15) qui peut être réalisée par l'approche des macromonomères ou des macroamorceurs et dans laquelle des bras polymères à blocs sont préalablement auto-assemblés en micelle avant de subir la polymérisation réticulante [96].

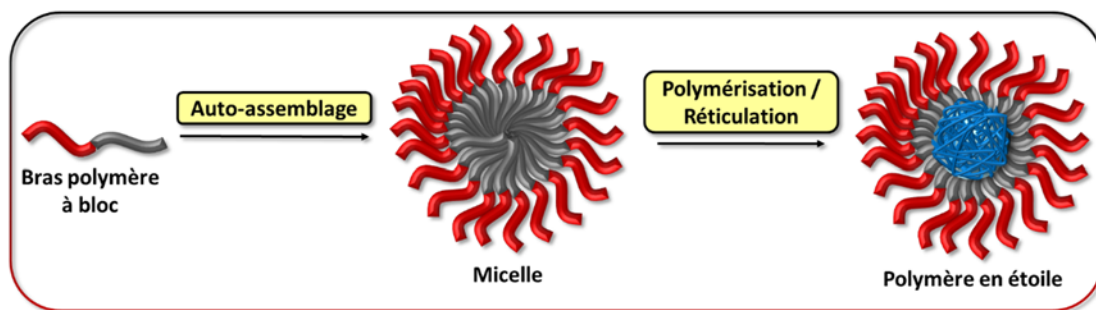


Figure 1. 15 Représentation schématique de la synthèse de polymère en étoile selon l'approche d'auto-assemblage-réticulation.

Il est possible d'avoir accès à des polymères en étoile avec un très grand nombre de bras (>100) [97] et des masses molaires supérieures à 1000 kDa via la méthode des nodules [98]. Cependant, le manque de contrôle sur le nombre de bras introduits dans le polymère en étoile

conduit très souvent à des systèmes fortement hétérogènes dus principalement à une distribution aléatoire des cœurs formés. Contrairement à la méthode divergente et à la méthode «*coupling-onto*» (qui sera abordée ci-après), le cœur dans cette méthode occupe 10-30 % de la masse du polymère [97]. La purification des étoiles obtenues par cette méthode est très fastidieuse car elle nécessite à la fois l'élimination des bras polymères n'ayant pas réagi et les polymères en étoile faiblement réticulés. Les polymères en étoile panachés («*miktoarms*») peuvent être facilement obtenus par cette méthode [99].

1.2.3.2.2 La méthode convergente «*coupling-onto*»

La méthode convergente «*coupling-onto*» contrairement à la méthode précédente consiste à lier un bras polymère possédant une fonctionnalité complémentaire en bout de chaîne à un cœur multifonctionnel. La fonctionnalité sur le bras polymère peut être introduite soit directement via l'amorceur ou après la polymérisation (cf. Figure 1.16). L'emploi de polymérisations vivantes pour synthétiser les bras-polymères permet d'avoir des étoiles avec une microstructure très bien définie et homogène (faible dispersité). Toutefois cela requiert des méthodes de couplage très efficaces, spécifiques et tolérantes aux éventuelles fonctionnalités transversales présentes sur la chaîne principale du polymère et/ou sur le cœur comme par exemple la cycloaddition entre un alcyne et un azoture catalysée par le cuivre (CuAAC).[100, 101]

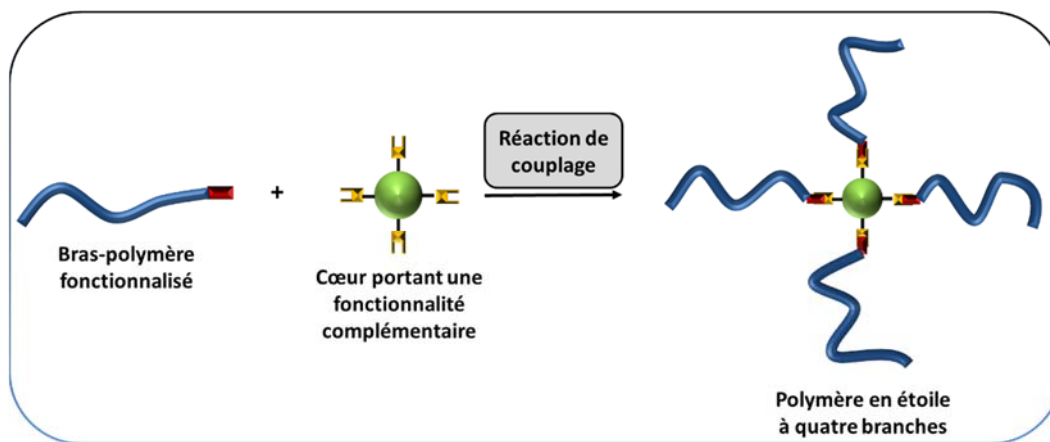


Figure 1. 16 Synthèse des polymères en étoile par la méthode «*coupling-onto*».

La cycloaddition entre un alcyne et un azoture catalysée par le cuivre (CuAAC), parfois référée sous le nom de «*chimie clic*», concept développé par Sharpless et présenté lors de la 217^{ème} rencontre de l'American Chemical Society en 1999 [102]. Il s'agit d'une variante de la

cycloaddition de Huisgen catalysée par du cuivre (I) aboutissant essentiellement à un 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué. (cf. Figure 1.17).

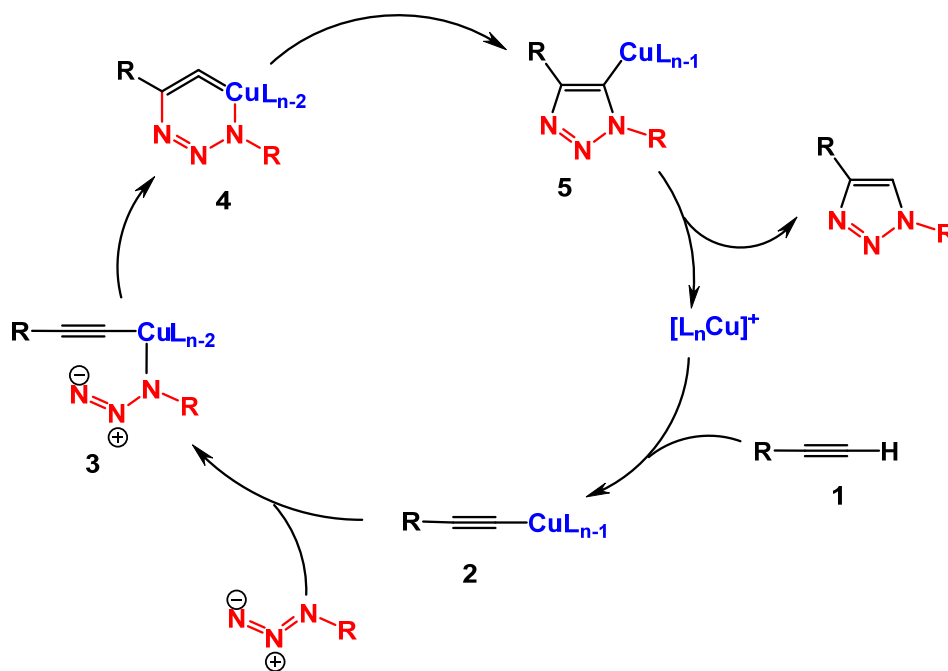
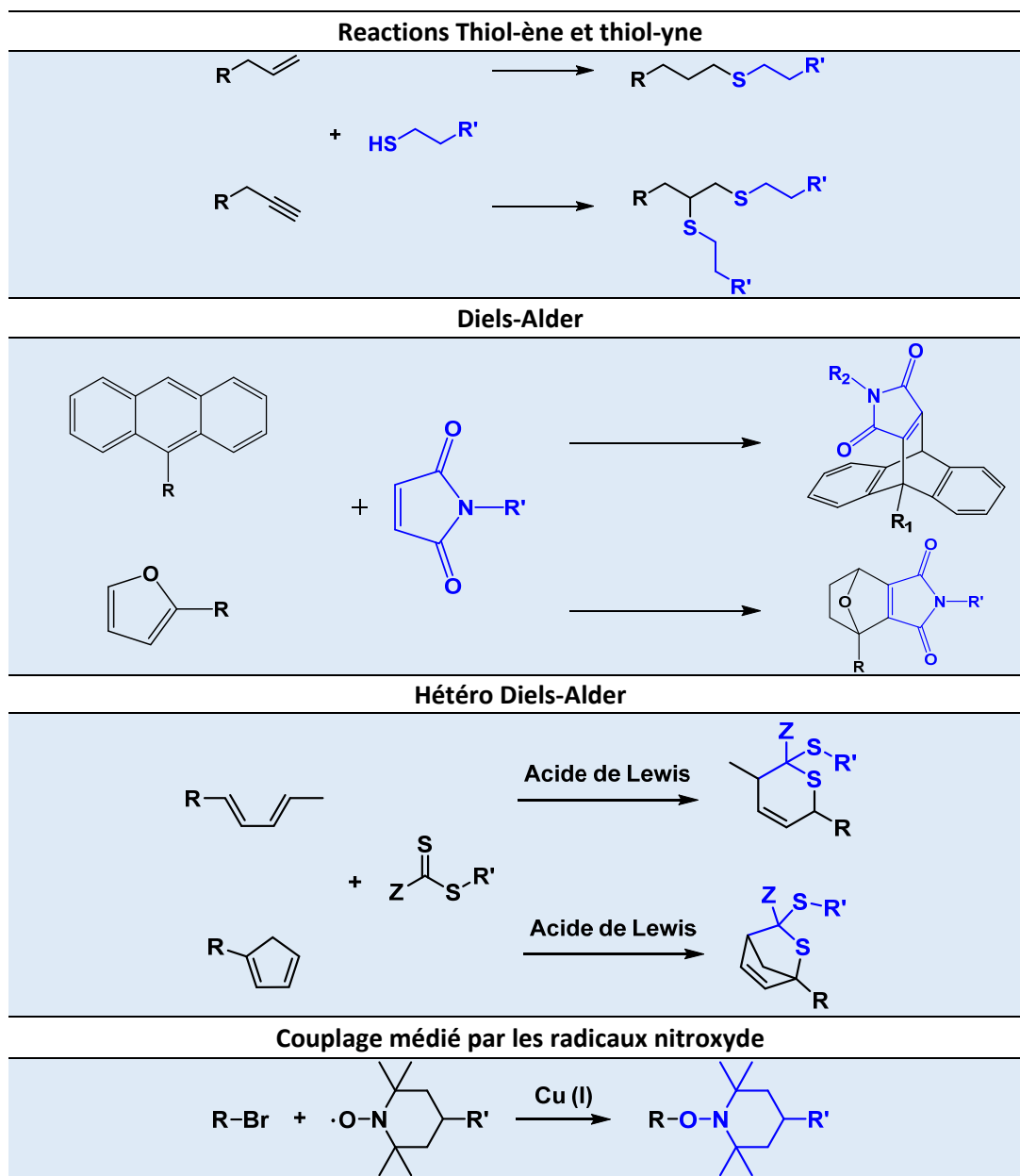


Figure 1. 17 Cycle catalytique de formation du noyau triazole. Reproduit avec permission de la Réf [103]. Copyright © 2005, American Chemical Society

La CuAAC conduit à de très grands rendements réactionnels. Beaucoup de solvants peuvent être utilisés dans cette réaction, tels que le THF, DMSO, DMF, l'eau ou encore un mélange dans un rapport 2:1 de *tert*-butanol et d'eau. Elle peut se faire dans une très large gamme de pH allant de 4 à 12 [104]. Les inconvénients de la CuAAC sont principalement dus la toxicité et aux réactions secondaires ayant lieu avec le cuivre, ainsi qu'à la réactivité de l'azoture (voir annexe 2). Outre la CuAAC, il existe d'autres méthodes de couplage dites aussi « clic » permettant de lier efficacement les bras de polymère au cœur et tolérantes aux fonctionnalités transversales comme celles présentées dans le Tableau 1.2 à la page suivante.

Comme pour la méthode divergente, le nombre de bras est dicté par la nature du cœur utilisé ($3 < \text{nombre de sites réactionnels} < 8$). L'emploi d'un cœur avec un très grand nombre de sites réactionnels conduit à des polymères en étoile de structure hétérogène résultant du couplage incomplet des bras. En effet, l'encombrement stérique généré par les chaînes de polymère greffées limite l'accessibilité aux sites réactionnels libres. [105].

Tableau 1. 2 Représentation de différentes réactions de ligation ayant été utilisées pour la synthèse de macromolécules. Reproduit avec permission de la Réf. [106]. Copyright © 2011, Royal Society of Chemistry.



Cet effet est aussi valable pour le couplage de bras de masse molaire élevée (> 20 kDa) même avec un cœur ayant trois sites réactionnels. Comme pour la méthode des nodules, l'étape de purification et d'isolation du polymère en étoile nécessite l'élimination des bras polymères. Ce processus peut s'avérer fastidieux car un couplage efficace via cette approche requiert généralement un large excès de bras polymère par rapport au cœur. Il est possible via cette approche de synthétiser des polymères en étoile panachés («*miktoarms*») dépendamment des fonctionnalités présentes sur le cœur.

1.2.4 Propriétés et applications des polymères en étoile

L'architecture des polymères en étoile présente deux avantages majeurs par rapport aux polymères linéaires. Les polymères en étoile présentent une grande densité de groupements fonctionnels terminaux. Il est donc possible d'accrocher un plus grand nombre soit de biomolécules (doxorubicine, paclitaxel), de prodrogues, de ligands cellulaires (des sélectines, des intégrines, etc.), de polymères (pour permettre la furtivité vis-à-vis des protéines plasmatiques) ou de sondes fluorescentes (fluorescéine, rhodamine etc.) à la périphérie de ces derniers. En imagerie, les polymères en étoiles peuvent être aussi utilisés en tant qu'agent de contraste. Par exemple, Li et al. ont synthétisé des polymères en étoile par la méthode «*arm first*» à base de poly(ethylene glycol methyl ether acrylate) contenant du gadolinium complexé pour l'imagerie par résonance magnétique nucléaire [106].

Selon leurs compositions, les polymères en étoile peuvent encapsuler des molécules bioactives dans les espaces interstitiels des bras. De plus, la grande densité de chaînes au sein de leurs structures confère aux polymères en étoile une conformation globulaire plus proche d'une sphère dure que d'une pelote statistique. La structure compacte des polymères en étoile confère à leurs solutions une viscosité intrinsèque plus faible que celle de leurs analogues linéaires.

Les polymères en étoile présentent une reptation moins importante à travers les pores de diamètres inférieurs à leur rayon hydrodynamique que les polymères linéaires [107]. Cette caractéristique prolonge le séjour des polymères en étoile dans la circulation sanguine (cf. Figure 1.18 ci-après). Les polymères en étoile trouvent d'autres applications, comme par exemple en tant que nanoréacteurs et/ou catalyseurs et dans l'industrie comme modificateurs de viscosité d'huiles et de peintures, ou encore comme agents démoussants [108].

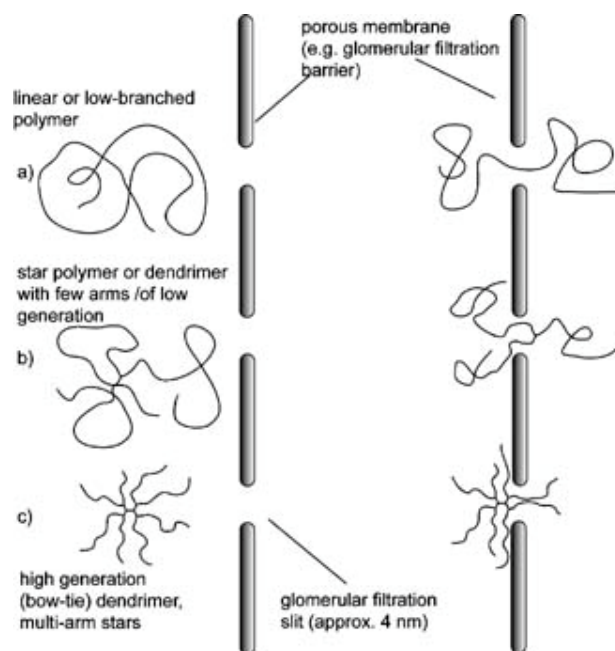


Figure 1. 18 Illustration de l'influence de l'architecture du polymère à travers une membrane poreuse (e.g. à travers la membrane glomérulaire). Reproduit avec permission de la Réf.[107]. Copyright © 2008, John Wiley and Sons.

Un des objectifs de cette thèse est la synthèse de polymères en étoile à base de 2-isopropyl-2-oxazoline. Les prochaines sections traiteront donc des poly(2-alkyls-2-oxazoline)s, de leurs synthèses et de leurs propriétés physico-chimiques.

1.3 Les poly(2-alkyl-2-oxazoline)s

Bien que les oxazolines (4,5-dihydrooxazole) soient connues depuis 1889 [110], il fallut attendre le milieu des années 1960 pour voir l'apparition des premiers poly-(2-alkyl-2-oxazoline)s [111-114]. Les oxazolines sont des iminoethers cycliques à cinq atomes dont il existe trois isomères (cf. Figure 1.19 ci-dessous). Toutefois, ce sont uniquement les 2-oxazolines non substituées en position quatre et cinq qui sont polymérisables [115].

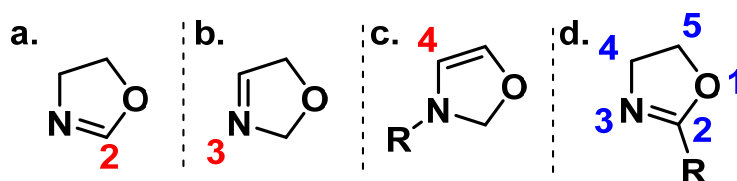


Figure 1. 19 Présentation des différents isomères de l'oxazoline (a. 2-oxazoline; b.3-oxazoline; c. 4-oxazoline.) et de la numérotation du cycle (d.).

Le nom de poly-(2-alkyl-2-oxazoline)s (PAkOX) ne reflète pas *stricto sensu* la structure du polymère qui est chimiquement parlant un poly(*N*-acétylènimines). Ce type de polymère peut être vu comme un pseudo-peptide et est un analogue des polyacrylamides. La structure des poly-(2-alkyl-2-oxazoline)s est représentée sur la Figure 1.20. Les PAkOXs sont synthétisés principalement par polymérisation cationique par ouverture de cycle (CROP). Un paragraphe sur le mécanisme de la CROP sera développé ultérieurement.

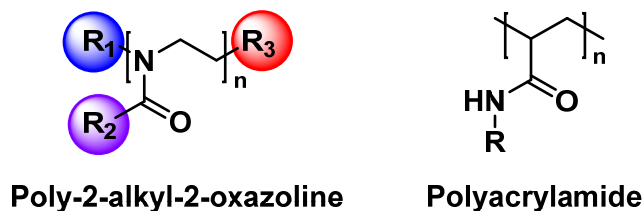


Figure 1. 20 Représentation générale des poly-2-alkyls-2oxazoline et des polyacrylamides

Le groupement R_1 est généralement apporté par l'amorceur utilisé, le groupement R_2 est intrinsèque à l'oxazoline étudiée tandis que le groupement R_3 dépend du type d'agent de terminaison utilisé. L'étude des PAkOXs a connu un essor important entre les années 1965 jusqu'au début des années 1980 puis est tombée en désuétude jusqu'au début des années 2000. Le regain d'intérêt pour l'étude des oxazolines fut induit à la fois par l'introduction des polymérisations catalysées par les microondes permettant de réduire considérablement le temps de polymérisation et par l'étude d'oxazolines hydrosolubles à applications biomédicales (poly-(2-méthyl-2-oxazoline) PMeOZ; poly-(2-éthyl-2-oxazoline) PEOZ; poly-(2-isopropyl-2-oxazoline) PIPOZ). La PEOZ et la PIPOZ en plus d'être hydrosolubles ont l'avantage d'être thermosensibles en solution aqueuse. De plus, les poly(2-alkyl-oxazoline)s sont des polymères ayant une faible cytotoxicité. D'ailleurs la PEOZ est un polymère accepté par la FDA en tant qu'additif alimentaire indirect [116]. Nous nous consacrerons principalement à l'étude des PIPOZs.

La PIPOZ est un isomère de constitution du poly-*N*-isopropylacrylamide (PNIPAM) polymère phare dans la chimie des polymères (cf. Figure1.21 ci-après). Il est un polymère thermosensible tout comme le PNIPAM. Il présente une **température inférieure critique de solubilisation (LCST en anglais)** d'environ 38°C qui est une température proche des conditions physiologiques. L'amide dans la chaîne de polymère étant tertiaire confère des propriétés particulières à la PIPOZ.

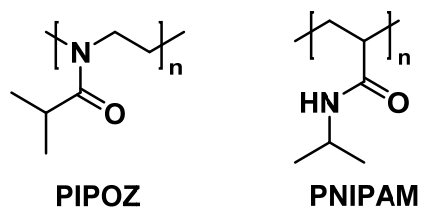


Figure 1. 21 Structure du PIPOZ et du PNIPAM

Cette partie sera consacrée à l'étude des oxazolines. Nous verrons dans un premier temps quelques voies d'obtention du monomère, puis comment procède la polymérisation des oxazolines. On finira en exposant les propriétés intrinsèques à la PIPOZ.

1.3.1 Synthèse des 2-alkyl-2-oxazolines

Il existe une pléthore de 2-alkyl-2-oxazolines dans la littérature avec des groupements R étant soit des groupements alkyls, aryls, des groupements fluorés etc. Une liste exhaustive présentant divers 2-alkyls-2-oxazolines est dressée par Rossegger *et al.* [117] Certaines 2-oxazolines telles que la 2-méthyl-2-oxazoline, la 2-éthyl-2-oxazoline et la 2-isopropyl-2-oxazoline, sont commerciales (cf. Figure 1.22). Cependant, il est possible d'avoir des oxazolines avec des groupements très variés en position 2.

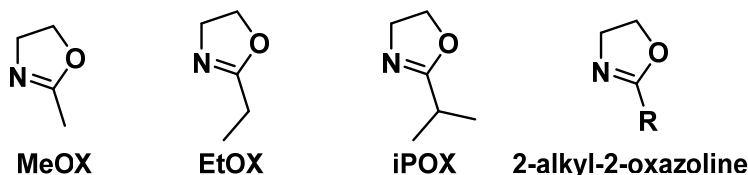


Figure 1. 22 Représentation de la 2-méthyl-2-oxazoline (MeOX), de la 2-éthyl-2-oxazoline (EtOX), 2-isopropyl-2-oxazoline (iPOX)

Différentes voies de synthèses d'oxazolines sont exposées dans la littérature. Kobayashi [118], Aoi et Okada [119] en font une revue bien détaillée. Toutefois, les voies de synthèses les plus représentatives pour la conception de 2-oxazolines sont la réaction entre un nitrile et un aminoalcool en présence d'un sel métallique qui est généralement de l'acétate de zinc, et la cyclisation d'haloamine en présence de bases fortes telles que l'hydrure de sodium ou l'hydroxyde de potassium (cf. Schéma 1.9 ci-dessous).

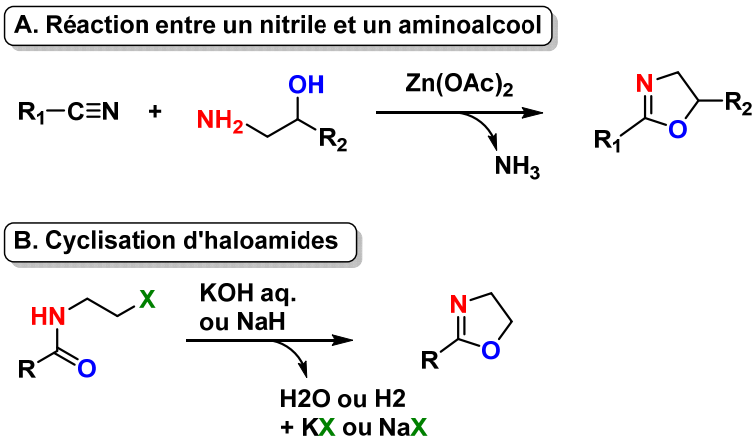


Schéma 1. 9 Voies synthétiques les plus courantes d'obtention de 2-alkyls-2-oxazolines.

La réaction entre un nitrile et un aminoalcool est la méthode la plus favorisée pour la synthèse de 2-oxazolines substituées en position 2 (la fonctionnalité étant apportée par le nitrile utilisé).

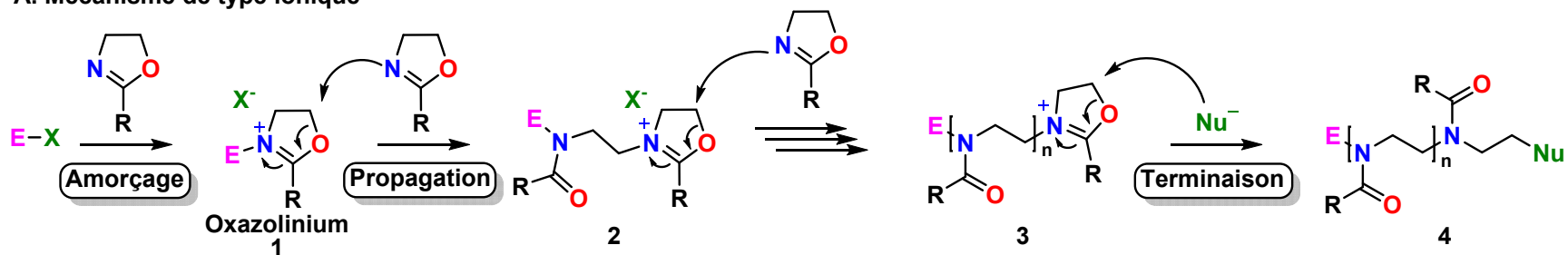
1.3.2 Synthèse des poly-(2-alkyl-2-oxazoline)s: polymérisation cationique par ouverture de cycles (CROP)

La polymérisation des 2-alkyl-2-oxazolines est décrite sur le Schéma 1.10 ci-après. Elle peut être soit de type ionique ou covalent. Le type de mécanisme est déterminé par la réactivité du contre-ion. La polymérisation est amorcée, indépendamment du type de mécanisme, par attaque de l'azote endocyclique sur un électrophile formant l'oxazolinium **1**. Les deux mécanismes réactionnels divergent après cette étape.

Dans la **polymérisation de type ionique**, l'oxazolinium **1** reste actif sous forme cyclique tout au long de la polymérisation. Lors de l'étape de propagation, l'oxazolinium **1** est ensuite attaqué en position 5 par l'azote d'une oxazoline présente dans le milieu réactionnel. Il s'en suit un clivage de la liaison entre l'atome C(5) et l'atome O(1) et l'isomérisation de l'oxazolinium **1** aboutissant à une *N*-acétylèneimine portant un nouvel oxazolinium **2** en bout de chaîne devenant la nouvelle espèce propagatrice. L'étape de terminaison a lieu par désactivation de l'oxazolinium par un nucléophile ayant une réactivité supérieure à celle du monomère et/ou du contre-ion.

Dans la **polymérisation de type covalent** contrairement à la polymérisation de type ionique, l'oxazolinium formé lors de l'étape d'initiation et de propagation est attaqué en position 5 par le contre-ion X^- qui a une plus grande nucléophilie que le monomère induisant une ouverture du cycle formant les espèces **5** et **7** (cf. Schéma 1.10 B), Ces dernières peuvent à leur tour être attaquées par les 2-alkyl-2-oxazolines.

A. Mécanisme de type ionique



B. Mécanisme de type covalent

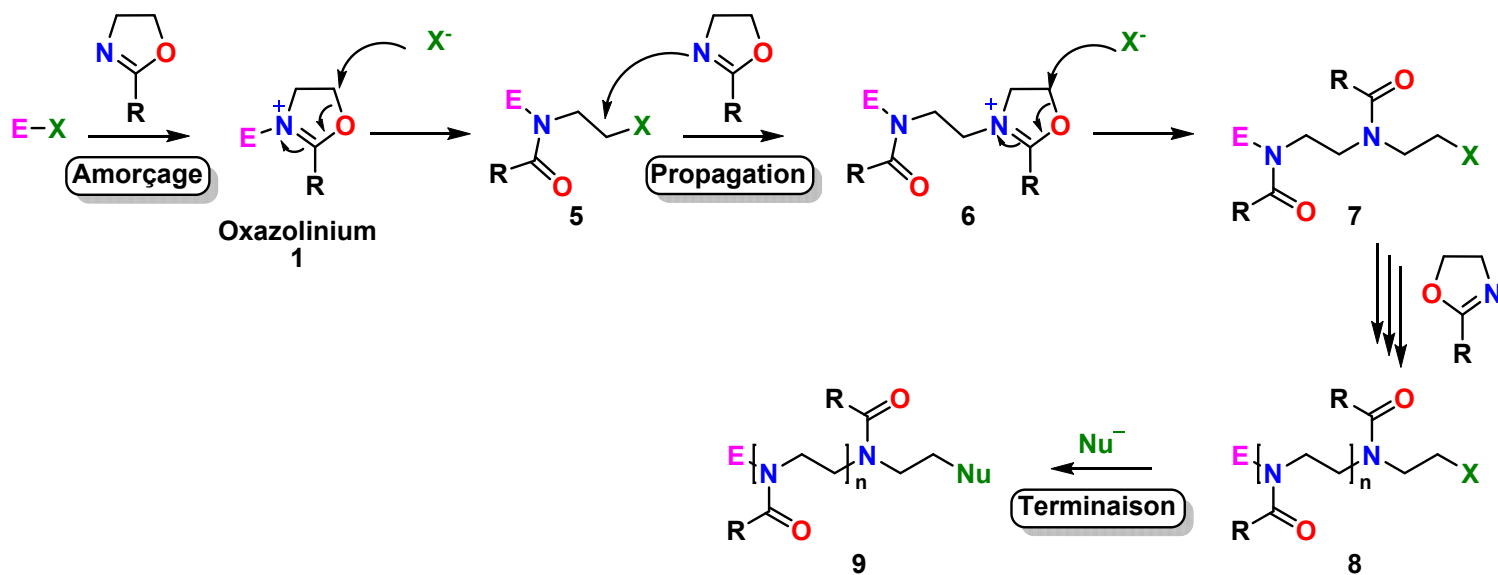


Schéma 1. 10 Différents types de mécanisme de polymérisation des 2-alkyl-2-oxazolines. Adapté de la Réf. [120]

Les amorceurs peuvent être de différentes natures. Ils peuvent être des acides de Lewis (trifluorure de bore, trichlorure d'aluminium ...), des esters sulfoniques (tosylate de méthyl, triflate de méthyl [121], triflate de triméthylsilyle [122]...), des anhydrides sulfoniques, des esters de sulfates [120], des acides protiques (acide triflique, sulfurique, perchlorique [120, 123] ...), des halogénures d'alkyles (benzyl chloride, benzyl bromide [120, 124], methyl iodide [125], ...), les chloroformates [126] ou encore des sels oxazoliniums [120, 123].

Les agents de terminaisons peuvent être soit des molécules nucléophiles telles que l'eau, des amines (pyridine, pipéridine, pipérazine ...), ou des sels (azoture de sodium, hydroxyde de potassium). L'eau étant un agent de terminaison implique que les polymérisations cationiques se font dans des conditions anhydres et inertes

Le choix de l'amorceur et l'agent de terminaison est primordial car il permet en plus d'introduire des fonctionnalisations en α et ω de la chaîne de polymère. Par exemple une terminaison avec de l'eau permet d'obtenir une chaîne avec un ω -OH ou encore avec un ω -N₃ si la terminaison est effectuée avec de l'azoture de sodium. Ces deux groupements fonctionnels permettent de faire des modifications post-polymérisation respectivement via une estérification ou par «chimie clic» CuAAC.

La CROP des 2-oxazolines est une polymérisation vivante sous certaines conditions. Hoogenboom *et al.* ont montré que pour que la polymérisation soit considérée comme vivante, il faut que la concentration en monomère soit d'au moins 3 mol.L⁻¹ ou idéalement comprise entre 4 et 8 mol.L⁻¹ pour la polymérisation de la EtOX amorcée par le benzyl bromide dans le DMA à 100°C [124]. Ils ont aussi démontré que des réactions de transfert de chaîne ont lieu pour des polymérisations se déroulant à faibles concentrations en monomères (<3 mol.L⁻¹).

Les réactions de transfert de chaînes furent décrites et mise en évidence par Litt *et al.* [120, 127, 128]. Elle est induite par déprotonation du méthylène en α du carbocation de l'oxazolinium par un monomère du milieu réactionnel donnant ainsi une chaîne avec une énamine **1** et un oxazolinium protoné **2**. (cf. Schéma 1.11 voie A). L'énamine peut attaquer une chaîne croissante aboutissant après polymérisation à un polymère ramifié (cf. Schéma 1.11 voie B). L'oxazolinium protoné **2** peut amorcer une polymérisation pour donner un polymère possédant un amide secondaire en bout de chaîne (Schéma 1.11 voie C). Litt a remarqué que les réactions de transfert de chaîne étaient plus favorisées pour les oxazolines possédant un méthylène activé par exemple la 2-benzyl-2-oxazoline ou encore la 2-acétoxyméthyl-2-oxazoline [127].

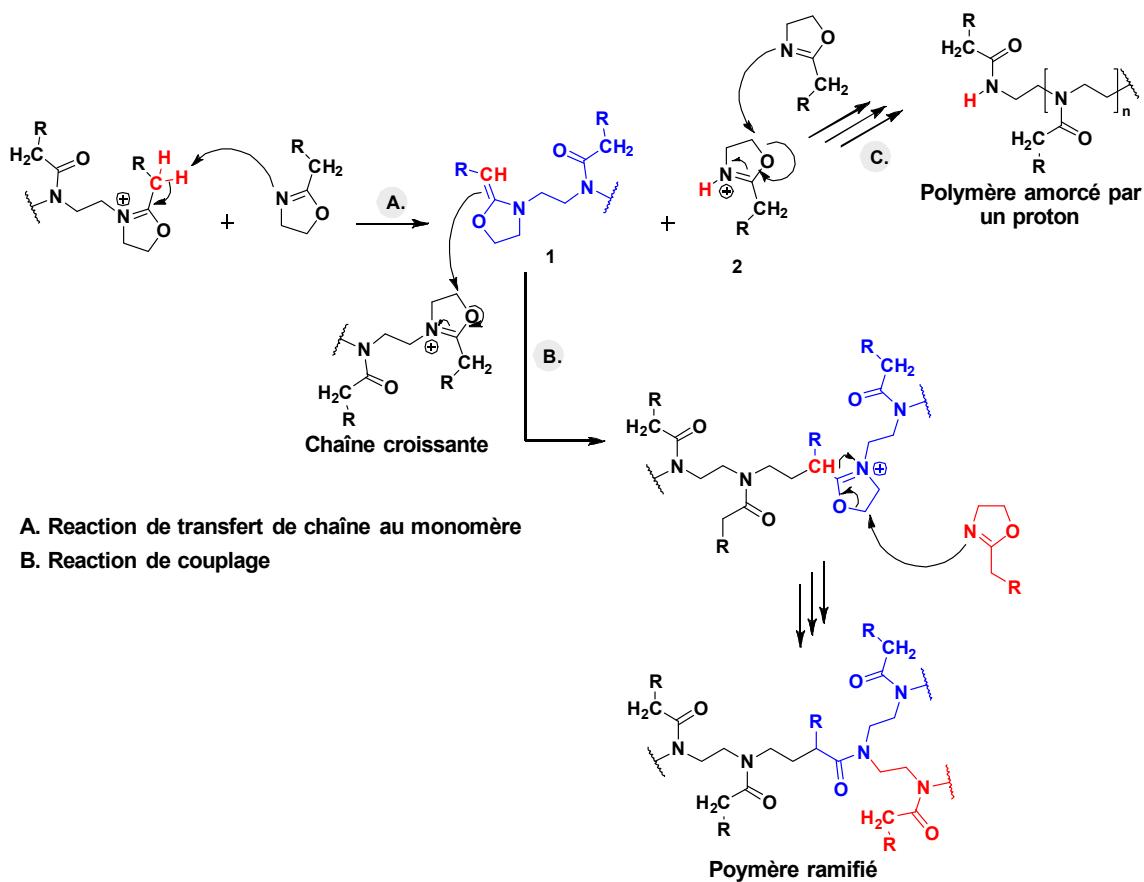


Schéma 1. 11 Représentation des réactions de transfert de chaîne et de couplage. Adapté de la Réf. [120]

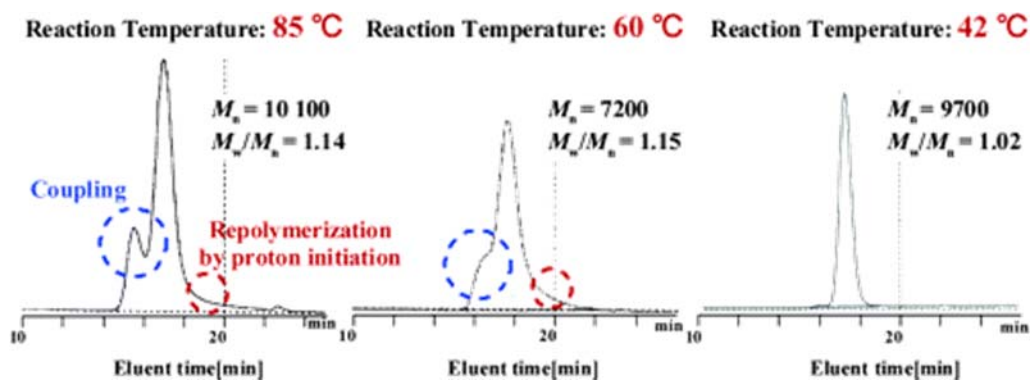


Figure 1. 23 Réactions de couplage et de transfert de chaîne observées par Kataoka *et al.* Reproduit avec permission de la Réf.[129]. Copyright © 2006, American Chemical Society.

Les réactions de transfert de chaîne et de couplage ont beaucoup été observées dans la littérature. Hoogenboom [130], Kataoka [129], Schubert [131] et D'hooge [132] en font l'observation. Un exemple est montré dans la Figure 1.23.

Litt *et al.* ont aussi démontré que les solvants à base de cétones, d'amides primaires ou secondaires utilisés lors des réactions de polymérisation peuvent aussi induire des réactions de transfert de chaînes [128].

En dépit des réactions secondaires qui peuvent être contrôlées, le caractère vivant de la CROP donne accès à la synthèse de copolymères à bloc ou gradient ou encore à des polymères en étoiles.

1.3.3 Revue de littérature des différents types d'architectures retrouvés pour les PAKOxs.

Plusieurs types d'architectures ont été explorés dans la littérature avec les PAKOxs. Des polymères semi-téléchéliques et téléchéliques avec des C18 en bout de chaîne ont été explorés par Obeid *et al.* [133] ou encore avec diverses fonctionnalités telles que le triéthylène glycol (TEG), de la pipéridyne, de la pipérazine, des groupements nonyles ou des oligo-2-oxazolines par Huber *et al.* [134]. Des PAKOxs cycliques à base de PIPOZ [135] et de PEOZ [136] ont été récemment synthétisés et étudiés. En plus des architectures linéaires et cycliques, la famille des polymères ramifiés a été aussi explorée. Par exemple, des pullulanes (polysaccharide composé de maltotriose) branchés avec des chaînes de PIPOZ (3 et 7 kDa) de taux de greffage allant 18 à 33 % en poids ont été synthétisés par Morimoto *et al.* [137]. Des brosses de poly-[oligo(2-éthyl-2-oxazoline)méthacrylate] et de poly-[oligo(2-cyclopropyl-2-oxazoline)méthacrylate] ont aussi été synthétisés par Hoogenboom *et al.* [138, 139]. Dans ces deux systèmes, les chaînes latérales sont constituées de cinq unités d'oxazolines. Des brosses cylindriques à base de polyisoprènes portant des chaînes latérales composées aussi de EtOx ou de iPOx avec des degrés de polymérisation d'environ compris entre 18 et 23 ont été synthétisées par Zhang *et al.* [140].

Des structures ramifiées plus complexes ont été aussi étudiées par Pospisilova *et al.* en branchant des chaînes de PIPOZs ou de PIPOZ-co-nBuOZ sur la structure dendritique du glycogène [90]. Les polymères en étoile furent aussi examinés. Les premières poly-2-alkyl-2-oxazolines en étoile furent décrites en 1991 par Dworak et Schultz. [126]. De nos jours, beaucoup de PAKOxs en étoiles sont décrits dans la littérature principalement à base de MeOx ou de EtOx. Les systèmes en étoiles à base d'iPOXs sont eux aussi décrits.

Le tableau 1.3 ci-après donne une description des PAkOxs en étoiles retrouvés dans la littérature. La figure 1.24 ci-dessous montre quelques cœurs utilisés pour la synthèse des polymères en étoile.

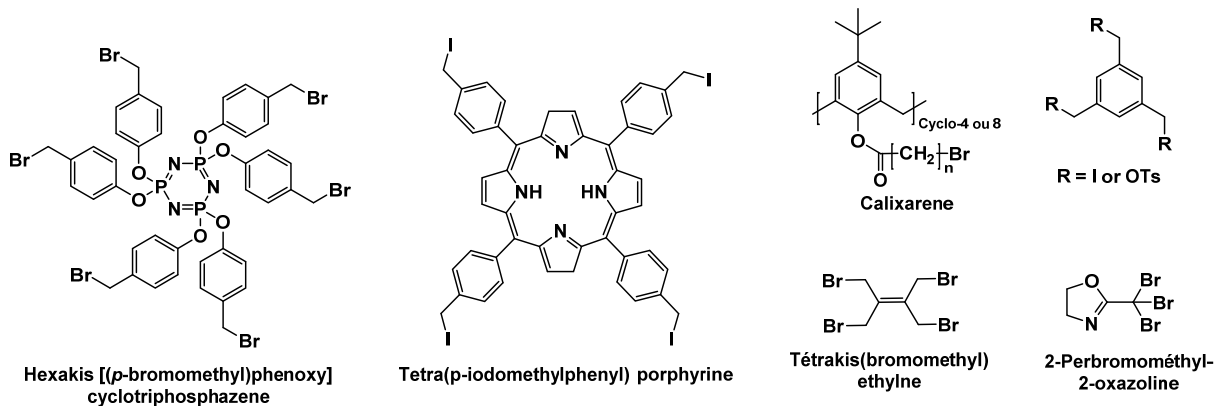


Figure 1. 24 Présentation de quelques cœurs retrouvés dans la littérature.

Nature des bras (polymères)	Type de coeur	Nombre de Bras	Approche utilisée	Masse molaire obtenue (M _n)	Auteurs (Réf.)
PMeOZ	2-perbromomethyl-2-oxazoline	3	Méthode divergente («Core-first»)	3.0-12.6 kDa	Bera et Sivaram [141]
	Hexakis[<i>p</i> -bromomethyl]phenoxy] cyclotriphosphazene	6	Méthode divergente	4.1-23.3 kDa	Chang <i>et al.</i> [142]
	Tris(iodométhyl)benzene ou Tris(<i>p</i> -toluenesulfonoxyméthyl)benzene	3	Méthode divergente	1.2 kDa	Chujo <i>et al.</i> [143]
	Chloroformate de 2,2-bis(hydroxyméthyl)-1-butanol	3	Méthode divergente	1.0-3.0 kDa	Dworak et Schulz [126]
	Calix[4]resorcinaréne Octa(3-bromopropionate)	8	Méthode divergente	3.1-6.1 kDa	Jeerupan <i>et al.</i> [144]
	Pentaerythritol tetrakis(trifluorométhylsulfonate)	4	Méthode divergente	3.0-7.0 kDa	Luxenhofer <i>et al.</i> [108]
	2,3,6,7,10,11-Hexa(6-bromohexyloxy)triphenylene (6BrTP)	6	Méthode divergente	8.2-23.2 kDa	Ogoshi <i>et al.</i> [145]
	octa(3-tosylpropyl-octasilsesquioxane (Cube-OTs)	8	Méthode divergente	1.4- 7.9 kDa	Kim <i>et al.</i> [146]
	heptakis(6-deoxy-6-iodo-2,3-di-O-acetyl)β-CD	7	Méthode divergente	6.7-39.4 kDa	Pereira <i>et al.</i> [147]
	Heptakis(6-deoxy-6-amino)β-CD		Méthode convergente («Coupling-onto»)		
	Octa(3-iodopropyl) Polyhedral Oligomeric Silsesquioxane	8	Méthode convergente «Arm-First»	29.0 kDa	Shen <i>et al.</i> [148]
PEI (hyperbranché)	Non reporté	Méthode convergente («Coupling onto»)	13.0-452 kDa	Zhang <i>et al.</i> [149]	
PEOZ	Cœur réticulé fait par couplage entre le (2-(3-butinyl)-2-oxazoline) et du 3-mercaptopropionate	Non reporté	Méthode convergente («Arms first: CCS»)	5.0-10.0 kDa	Brummelhuis et Schlaad [150]

Tableau 1. 3 Revue de littérature des polymères en étoile à base de PAKOx

Nature des bras (polymères)	Type de coeur	Nombre de Bras	Approche utilisée	Masse molaire obtenue (M _n)	Auteurs (Réf.)
PEOZ	5,10,15,20-tetrakis(4-hydroxybutyloxy tosylate)-21H,23H-porphyrin	4	Méthode divergente	10.7 kDa	Hoogenboom <i>et al</i> [151]
	Heptakis azido-β-cyclodextrin	7	Méthode convergente («Coupling-onto»)	26.0 kDa	Fijten <i>et al.</i> [152]
	Dipentaerythryl hexakis(4-nitrobenzenesulfonate)	6	Méthode divergente	15.0-20.6 kDa	Kowalczyk <i>et al.</i> [89]
	Polyglycidol hyperbranché tosylé	13	Méthode divergente	5.5-14.5 kDa	
	Amine dendritique à 4 et 8 bras (polypropyleneimine)	4-8	Méthode convergente («Coupling-onto»)	5.0-10.7 kDa	Lambermont-Thijs <i>et al.</i> [105]
PEOZ PEOZ-b-AmOx (Am = Amine)	Coeur réticulé fait par couplage entre des amines pendantes et des dialdéhydes (glutaraldéhyde)	Non reporté	Méthode convergente («Arms first: CCS»)	10.1-12.0 kDa (bras polymère)	Hartlieb <i>et al.</i>
PEOZ PEG-b-PEOZ	Coeur composé de huit bras de PEG	8	Méthode divergente et convergente («Coupling-onto»)	22.0-67.0 kDa	Rudolph <i>et al</i> [153].
PMEOZ PEOZ	Tétrakis(bromométhyl)éthylène	4	Méthode divergente	1.9-8.0 kDa 1.8 kDa	Kobayashi [154]
PMEOZ PEOZ-b-MEOZ	Hexakis(bromométhyl)benzène	6	Méthode divergente	21.4 kDa 29.0 kDa	Jin [155]
PEOZ-b-MEOZ PEOZ PMEOZ	Tetra(<i>p</i> -iodo ou chlorométhylphényl)porphyrine	4	Méthode divergente	11.5-129.4 kDa	Jin [156, 157]
PIPOZ	<i>n-tert</i> -butylcalix [n]arene- <i>n-ω</i> -bromoalkanotes	n= 4 ou 8	Méthode divergente	12.0-42.0 kDa	Tenkovtsev <i>et al.</i> [158-162]
PIPOZ-b-PEOZ	Octa- <i>tert</i> -butylcalix[8]arene octa- <i>ω</i> -bromoundécánotes	8	Méthode divergente	27.0-48.0 kDa	Tenkovtsev <i>et al.</i> [163]

Tableau 1. 3 Revue de littérature des polymères en étoile à base de PAkOx (suite)

1.3.4 La thermosensibilité et la température inférieure critique de solubilisation (LCST)

L'eau est une molécule triatomique composée de deux atomes d'hydrogène et d'un atome d'oxygène, hybridé sp^3 et formant un angle de 104.5° . La forte électronégativité de l'atome d'oxygène confère à la molécule une polarité. C'est un dipôle contenant deux charges partielles positives réparties sur les atomes d'hydrogène et deux charges partielles négatives réparties sur l'atome d'oxygène.

La différence de charge dans la molécule d'eau induit l'attraction réciproque des molécules. Cette attraction est à l'origine de la formation de la liaison hydrogène qui a lieu entre l'atome d'oxygène chargé négativement et l'atome d'hydrogène chargé positivement. Ces liaisons hydrogènes induisent des contraintes géométriques. Cette contrainte géométrique vient du fait que cette liaison a lieu le long de l'axe entre deux atomes d'oxygène induisant la linéarisation de la liaison. Si cette liaison se courbe, il y aura chevauchement des orbitales moléculaires résultants en un affaiblissement de la liaison hydrogène. Par ailleurs, la formation de ces liaisons hydrogènes tient les molécules d'eau à distance et les empêchent de s'entasser comme c'est le cas pour tous les autres liquide (cf. figure 1.25) [164].

Une des propriétés de l'eau liquide comme pour l'eau solide (la glace) est sa capacité à former un réseau 3D de molécules auto-assemblées via les liaisons hydrogènes et l'hybridation sp^3 de l'atome d'oxygène. Les molécules d'eau dans la glace sont interconnectées via les liaisons hydrogènes à quatre voisins dans une configuration tétraédrique (cf. figure 1.25 a).

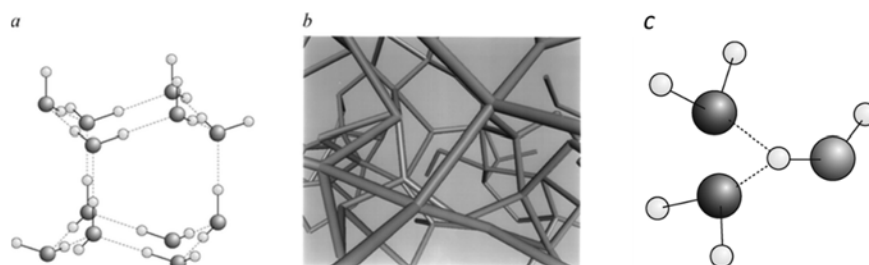


Figure 1. 25 Structure de la glace (a) et structure de l'eau liquide (b) et représentation d'une liaison bifurquée (c). Reproduit avec permission de la Réf. [164]. Copyright © 2008, American Chemical Society

Cette configuration n'est pas retrouvée dans l'eau liquide vu la mobilité des atomes. Des mesures de diffraction de neutrons et des simulations ont suggéré que les molécules étaient liées en moyenne à 3.5 voisins. Par ailleurs, Sciortino *et al.* ont suggéré, suite à des simulations, qu'il y

avait des défauts dans l'eau liquide sous forme de liaisons bifurquées (Figure 1.25 b). Ces liaisons bifurquées ont lieu entre un atome d'hydrogène et deux atomes d'oxygène et semblent jouer un rôle très important, selon les auteurs, dans la mobilité moléculaire de l'eau à l'état liquide. Elles abaissent la barrière d'énergie de diffusion de Gibbs [164]. L'eau liquide est donc considérée comme un mélange biphasé contenant des molécules dans une configuration pseudo-cristalline (*icelike*) et dans une configuration similaire à celle du liquide (*liquide-like*). Dans la première configuration, les molécules sont dans un réseau apparenté à celui de la glace tandis que dans l'autre elles sont dans un réseau contenant des liaisons hydrogènes partiellement rompues (Voir Figure 1.25 c).

Néanmoins, des simulations ont suggéré que 75% des molécules d'eau liquide sont interconnectées dans un réseau en trois dimensions avec trois ou quatre de ses voisins à n'importe quel moment [165]. Ce réseau, bien que de nature transitive (car la durée de vie de la liaison hydrogène est d'environ 1 picoseconde) est si vaste qu'il est souvent mentionné dans la littérature sous le nom de « **structure de l'eau** » (*water structure*) [165]. Toutefois, c'est la formation de cette *structure* qui prête l'environnement à la solvation de molécule ou d'ion. L'introduction de sels ou de molécules dans l'eau conduit à des changements de cette structure.

La solubilisation d'un polymère hydrosoluble est gouvernée par l'enthalpie libre du mélange ΔG . Pour qu'un polymère soit soluble dans l'eau, il faut que $\Delta G_{\text{mélange}} < 0$. Pour avoir un $\Delta G_{\text{mélange}} < 0$, il faut favoriser les interactions eau-polymère.

$$\Delta G_{\text{Mélange}} = \Delta H - T\Delta S$$

H et S sont respectivement l'enthalpie et l'entropie du mélange et T la température.

La solvation des polymères hydrosolubles neutres donc dépourvus de charge se fait par formation de liaison hydrogène entre l'eau et un groupement hydrophile ou groupement polaire (amide, ester, éther, alcool, thiol, etc.), soit par hydratation des parties hydrophobes. La formation de cages hydrophobes n'est valable que pour les petites molécules ou parties hydrophobes. Il n'en est pas de même avec les grandes molécules ou parties hydrophobes [164]. Ces cages sont formées des parties hydrophobes entourées de molécule d'eau dans une configuration pseudo-cristalline (semblable à celle de la glace). La formation de ces cages résulte de l'incapacité de l'eau liquide à former des liaisons hydrogènes avec les parties apolaires et de sa volonté de maintenir son réseau de liaisons hydrogènes [164, 166]. La formation de ces cages

diminue l'entropie du mélange ($\Delta S < 0$) tandis que la formation des liaisons hydrogènes avec les parties polaires diminue l'enthalpie de celui-ci ($\Delta H < 0$). La solubilisation des polymères hydrosolubles est due à une contribution enthalpique dominante.

Le système eau-polymère présente une transition de phase quand la température augmente favorisant un $\Delta G_{\text{mélange}} > 0$. La transition de phase est due à deux phénomènes [166, 167]:

1. À la désorganisation des cages hydrophobiques autour des parties apolaires favorisant les interactions de type Van der Waals (interactions hydrophobes) et provoquée par l'augmentation de l'entropie induite par l'accroissement de la température.
2. À l'affaiblissement des liaisons hydrogènes entre les groupements polaires et les molécules d'eau entraînant une augmentation de l'enthalpie.

Une représentation générale d'un diagramme de phase dans le cas d'un polymère hydrosoluble est illustrée sur la Figure 1.26. Sur ce diagramme on peut voir qu'il existe une température critique de solution (Lower Critical Solution Temperature: LCST) correspondant au minimum de la courbe de démixtion. Toute température de transition pour une fraction volumique donnée autre que la LCST est appelée point trouble T_{CP} .

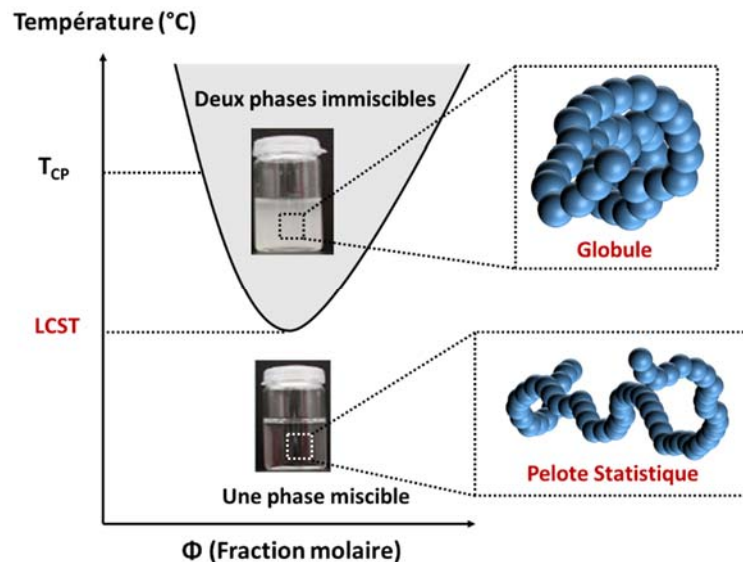


Figure 1. 26 Représentation d'un diagramme de phase pour un système à LCST.

En dessous de la LCST, le polymère est hydraté (une seule phase dans laquelle le polymère est sous forme de pelote statistique) tandis qu'à des températures supérieures, on a une

séparation de phase (deux phases constituées d'une zone riche en solvant et d'une zone riche en polymère non-hydraté sous forme globulaire).

Parmi les polymères hydrosolubles présentant une LCST, on retrouve les oxydes de polyalkyles tels que le poly(éthylène glycol) (PEG) et l'oxyde de polypropylène (PPO); ou encore les poly-*N*-acrylamides dont le membre phare est le poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAM); le poly(*N,N*-diméthyléthylamino méthacrylate) (PDMAEMA) ou encore le poly(*N*-vinylcaprolactame) (PVCL). Le tableau 1.4 ci-dessous liste la valeur de la LCST de ces polymères.

Tableau 1. 4 Liste de la valeur de la LCST de quelques polymères thermosensibles dans l'eau [168]

Polymères	LCST (°C)
Poly(éthylène glycol) (PEG)	100-175
Oxyde de polypropylène (PPO)	-5
Poly(<i>N</i> -isopropylacrylamide) (PNIPAM)	30-35
poly(<i>N,N</i> -diméthyléthylamino méthacrylate) (PDMAEMA)	30-70
poly(<i>N</i> -vinylcaprolactame) (PVCL)	32

L'hydrophilie des poly(2-alkyl-2-oxazolines) est déterminée par la longueur de la chaîne latérale. Les PAkOXs avec des chaînes carbonées composées de 1 à 3 trois atomes de carbone sont solubles dans l'eau. Toutefois seuls les PEOZ, le PIPOZ et PnPOZ présentent une LCST (cf. Figure 1.27 ci-dessous). La transition de phase chez les oxazolines fut remarquée et reportée pour la première fois par Litt et al. en 1968 [127].

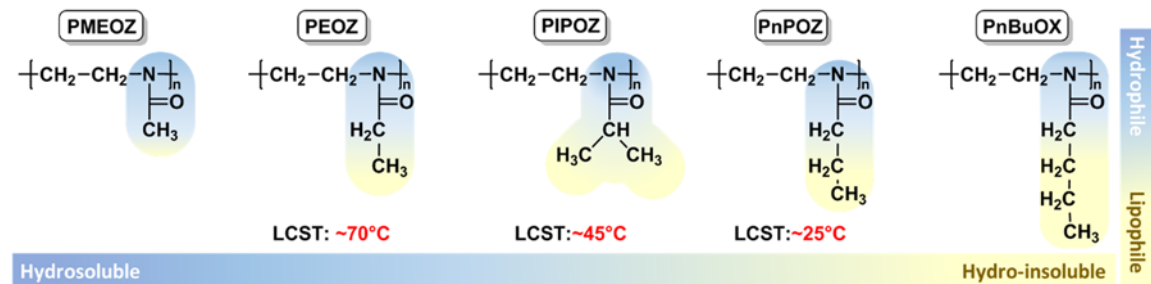


Figure 1. 27 Représentation de la dépendance de la solubilité des POx en fonction l'accroissement de la chaîne carbonée. Adapté avec permission de la Réf. [169]. Copyright © 2010, Elsevier Ltd.

La LCST peut être affectée :

- Par la masse molaire et la concentration
- Par la présence d'un comomère et des groupements en bouts de chaîne

- Par l'architecture du polymère : linéaire, peigne, étoile, etc.
- Par la présence d'un cosolvant : la présence d'un cosolvant en faibles fractions volumiques dans la solution peut abaisser la LCST de plusieurs degrés. C'est le phénomène de **co-nonsolvation** [166].
- Par la présence de sels dans la solution : les sels peuvent avoir différents effets sur la LCST

1.3.4.1 Techniques de détermination de la transition de phase

Les techniques les plus souvent utilisées pour déterminer la température transition de phase d'un mélange sont la transmittance (UV), la calorimétrie différentielle à balayage (DSC) en solution ou encore la diffusion de la lumière (LS). Les mesures réalisées par UV et par LS se basent respectivement sur la détermination du changement de la turbidité et de l'intensité de la lumière diffusée d'une solution aqueuse de polymère chauffée graduellement. La calorimétrie par opposition détermine les changements physico-chimiques associés à la mesure de l'énergie absorbée ou relâchée sous forme de chaleur lors d'un balayage de température d'une solution aqueuse d'un échantillon.

Le nom employé pour définir la transition de phase varie en fonction de la méthode utilisée. Elle est définie comme étant la température du point trouble (T_{CP}) par mesure de transmittance (cf. Figure 1.28 A) et diffusion de la lumière ou encore comme la température maximale de démixtion (T_M) par mesure DSC (cf. Figure 1.28 B).

Bien que la définition de la T_M reste toujours la même et correspond au maximum de la courbe de C_p en fonction de la température, la T_{CP} quant à elle peut être définis comme étant [170]:

- La température d'apparition du trouble
- La température à différentes étapes de l'augmentation de l'absorbance ou de la diminution de la transmittance. (par exemple 10% ou 50 % de la diminution de la transmittance comme indiqué sur la figure 1.28 A)
- La température au point d'inflexion de la courbe de turbidité
- La température à l'intersection de la tangente entre la ligne de base (le zéro en absorbance ou le 100% en transmittance) et la tangente à la courbe de turbidité.

Dépendamment de ces définitions et en fonction de l'allure de la pente de la courbe de turbidité, les valeurs de la T_{CP} et de la T_M peuvent légèrement varier [171].

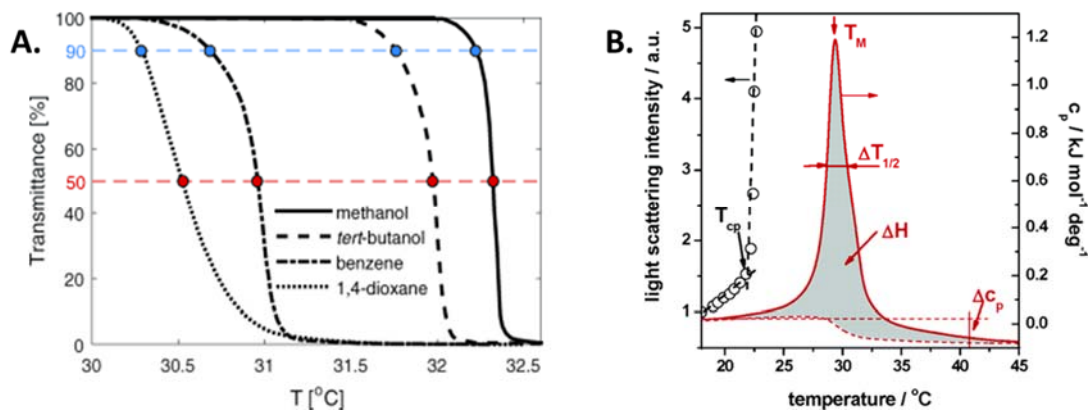


Figure 1. 28 A. Courbes de transmittance relative obtenues pour échantillon de PNIPAM de $M_w \approx 50$ kg/mol et de concentration 0.5 g/L synthétisés en utilisant l'AIBN dans différents solvants : $M_w = 64.5$ kg/mol (méthanol), 51.7 kg/mol (*tert*-butanol), 46.5 kg/mol (benzène) et 51.8 kg/mol (1,4-dioxane). Reproduit avec permission de la Réf. [172]. Copyright © 2015, John Wiley & Sons, Inc.

B. Endotherme microcalorimétrique (vitesse de chauffe: $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$) et du changement de la lumière diffusée d'une solution aqueuse à 5.0 g/L de C_{18} -PNIPAM- C_{18} 35K. Reproduit avec permission de la Réf. [173] Copyright © 2006, American Chemical Society.

En plus de la T_M , la DSC permet d'avoir directement via l'intégration de la courbe, l'enthalpie libre ΔH nécessaire pour rompre les liaisons hydrogènes entre l'eau et le polymère ainsi qu'à la différence de capacité calorifique ΔC_p avant et après la transition (cf. Figure 1.28 B). ΔH est généralement comprise entre 5.5 kJ (1.31 kcal/mol) et 7.5 kJ (1.79 kcal/mol) par unité de NIPAM dans le PNIPAM [174] et comprise entre 1.50 kJ/mol (0.36 kcal/mol) et 5.62 kJ/mol (1.35 kcal/mol) [175]. La DSC permet aussi de distinguer différentes fractions de polymères. Par exemple Takahashi *et al.* ont démontré qu'il est possible de distinguer les endothermes provenant du PEOZ et du PIPOZ d'un dibloc PIPOZ-PEOZ par analogie avec des PIPOZs linéaires (cf. Figure 1.29 ci-après).

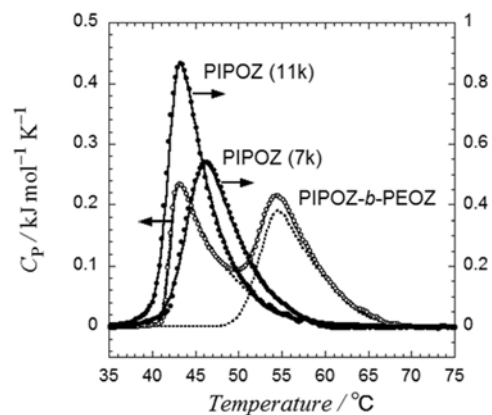


Figure 1. 29 Endothermes microcalorimétriques de PIPOZ-b-PEOZ (cercles ouverts) et de PIPOZs de DP= 101 et 63 (cercles pleins). La concentration des polymères est de 1g/L. Les courbes en pointillées proviennent de la déconvolution du thermogramme du dibloc. Reproduit avec permission de la Réf. [176]. Copyright © 2012, American Chemical Society.

1.3.4.2 Effets de la masse molaire et des groupements terminaux sur la LCST

La valeur de la LCST n'est pas arbitraire et est dépendante de nombreux facteurs. Winnik *et al.* ont démontré que la LCST du PIPOZ tout comme le PNIPAM [177, 178] était à la fois dépendante de la masse molaire du polymère ainsi que de la concentration étudiée (cf. Figure 1.30). Par exemple ils ont montré que la LCST du PIPOZ pouvait varier de 76.5 à 48°C pour des PIPOZ de masses molaires de 1 700g /mol et de 5 700 g/mol respectivement et de 56 à 47°C pour des concentrations allant de 0.5 à 5.0 g/L [175, 179].

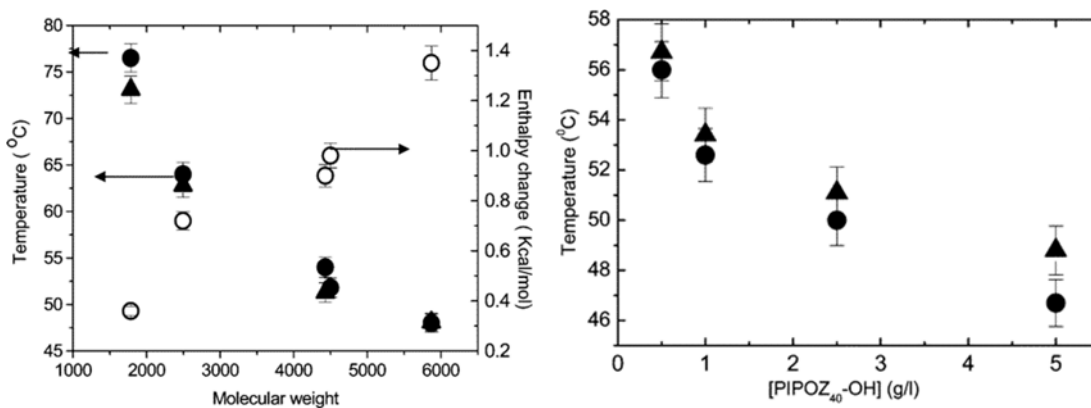


Figure 1. 30 Effet de la masse molaire et de la concentration sur LCST du PIPOZ. Les cercles pleins représente la T_M et les triangles pleins la T_{CP} . Reproduit avec permission de la Réf. [175]. Copyright © 2004, American Chemical Society.

Cet effet de la masse molaire fut aussi observé sur la LCST des PEOZ et PnPOZ par Hoogenboom *et al.*[180]. Toutefois, la LCST est indépendante de la concentration pour des masses molaires élevées [173]. Bien que dépendante de la masse molaire et de la concentration, la LCST est aussi influencée par la polarité des groupements terminaux présents sur la chaîne de polymères. Kujawa *et al.* ont montré que la T_{CP} de PNIPAMs téléchéliques modifiés avec des groupements hydrophobes C18 de différentes masses molaires (12k, 22k, 35k, 49k) diminuait conjointement avec la longueur de la chaîne. T_{CP} varie de 30.7°C à 25.1°C respectivement pour les C18-PNIPAM-C18-49 kDa et C18-PNIPAM-C18-12 kDa [173]. Cette diminution de la T_{CP} en fonction des groupements terminaux est selon Kujawa *et al.* attribuée à l'association des polymères téléchéliques en micelle ou en réseau micellaire conduisant à une masse molaire apparente supérieure à celle de l'homopolymère correspondant. Cet important coût entropique est favorable à la démixtion du système. Ces effets ont aussi été étudiés par Huber *et al.* [121] et par Obeid *et al.* [133] sur le PIPOZ. Le tableau 1.5 ci-dessous liste les effets des groupements hydrophiles et hydrophobes en bout de chaîne sur la T_{CP} de la PIPOZ observés par les deux équipes. Tout comme le pour le PNIPAM, la T_{CP} de la PIPOZ diminue ou augmente quand les bouts de chaînes sont respectivement hydrophobes et hydrophiles. Jordan *et al.* ont observé que les groupements nonyles placés latéralement à la chaîne principale ont un plus grand effet sur la diminution de la T_{CP} . La T_{CP} est de 28°C pour le Non-PIPOZ 3 kDa tandis qu'il est de 15°C pour le PIPOZ-NonOx₁ (où la chaîne nonyle est placée latéralement).

Tableau 1. 5 Représentation des effets de quelques groupements terminaux sur la T_{CP}

Polymères	T_{CP} (°C)	Polymères	T_{CP} (°C)
Me-PIPOZ-OH 6kDa	48.1	MeOx ₃ -PIPOZ ₂₅ -MeOx ₃ 3kDa ^c	53
Me-PIPOZ-OH 10kDa ^b	44.0	MeOx ₃ -PIPOZ ₂₅ 3kDa ^c	47
HO-PIPOZ-C18 7kDa ^b	32.5	PIPOZ ₂₅ -Pipérazine 3kDa ^c	48
HO-PIPOZ-C18 10kDa ^b	33.2	TEG-PIPOZ ₃₅ 3kDa ^c	42
HO-PIPOZ-C18 13kDa ^b	39.0	TEG-PIPOZ ₃₄ -TEG 4kDa ^c	42
C18-PIPOZ-C18 7kDa ^b	31.6	Non-PIPOZ ₂₅ 3kDa ^c	28
C18-PIPOZ-C18 10kDa ^b	32.1	Non-PIPOZ ₂₅ -Non 3kDa ^c	32
C18-PIPOZ-C18 13kDa ^b	34.9	PIPOZ ₂₄ -NonOx ₁ 3kDa ^c	15

a. Valeur prise de la Réf. [175]

b. Valeurs prises de la Réf. [181]

c. Valeurs prises de la Réf. [134]

L'effet des groupements terminaux sur la TCP diminue rapidement avec l'augmentation de la masse molaire. Au-dessus de 10 kDa, l'effet des groupements hydrophobes devient négligeable.

Qiu *et al.* ont démontré cette dépendance de la T_m en fonction la masse molaire et de différents groupement terminaux pour le PNIPAM [174] (Voir figure 1.32 ci-dessous).

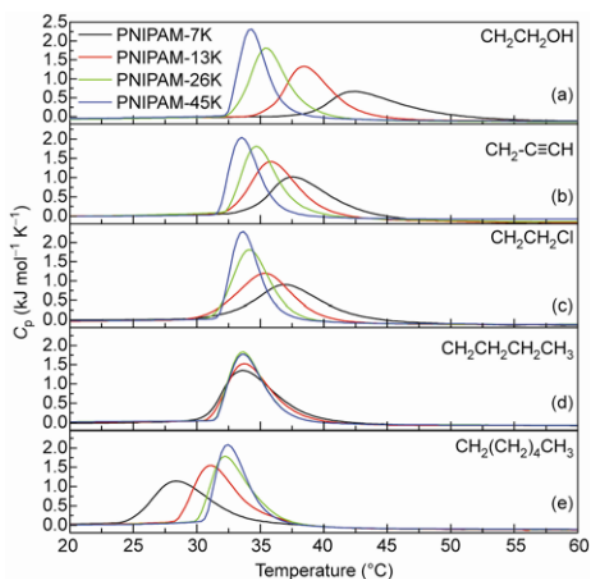


Figure 1. 31 Endothermes microcalorimétriques de solution aqueuse (concentration en polymère de 0.5g/L) de PNIPAM-7kDa (courbe verte), PNIPAM-13kDa (courbe rouge), PNIPAM-26kDa (courbe verte), et PNIPAM-45K (courbe bleue) coiffées avec (a) de l'hydroxyéthyl, (b) du propargyl, (c) du chloroéthyl, (d) du *n*-butyl et (e) du *n*-hexyl. Reproduit de la Réf. [174]

L'effet de la masse molaire sur la LCST est intrinsèquement lié à la polarité des groupements terminaux à masses molaires faibles. La concentration des groupements terminaux hydrophobes ou hydrophiles devient de moins important au fur et à mesure que la masse molaire augmente comme le montre la figure 1.31 ci-dessus. Cependant, la masse molaire et les groupements terminaux ne sont pas les uniques facteurs agissant sur La LCST des PAKOx hydrosolubles. Cette dernière est aussi dépendante de l'architecture et de la composition du polymère étudié.

1.3.4.3 Effet de la composition et de l'architecture du polymère

Hoogenboom *et al.* ont aussi démontré que LCST peut être modulée en fonction de la composition du polymère. En copolymérisant aléatoirement le PnPOZ avec PEOZ, ils ont réussi à moduler la LCST à environ 34°C (PEOZ₇₅-PnPOZ₇₅) et 58 °C (PEOZ₁₂₀-PnPOZ₃₀) [180]. Park et Kataoka [129], ainsi qu'Huber et Jordan ont reportés des observations similaires pour des polymères gradients composés respectivement de IPOx/EOx (Park et Kataoka), IPOx/*n*BuOx, IPOx/*n*POx ou encore IPOX/NonOx (Huber et Jordan).

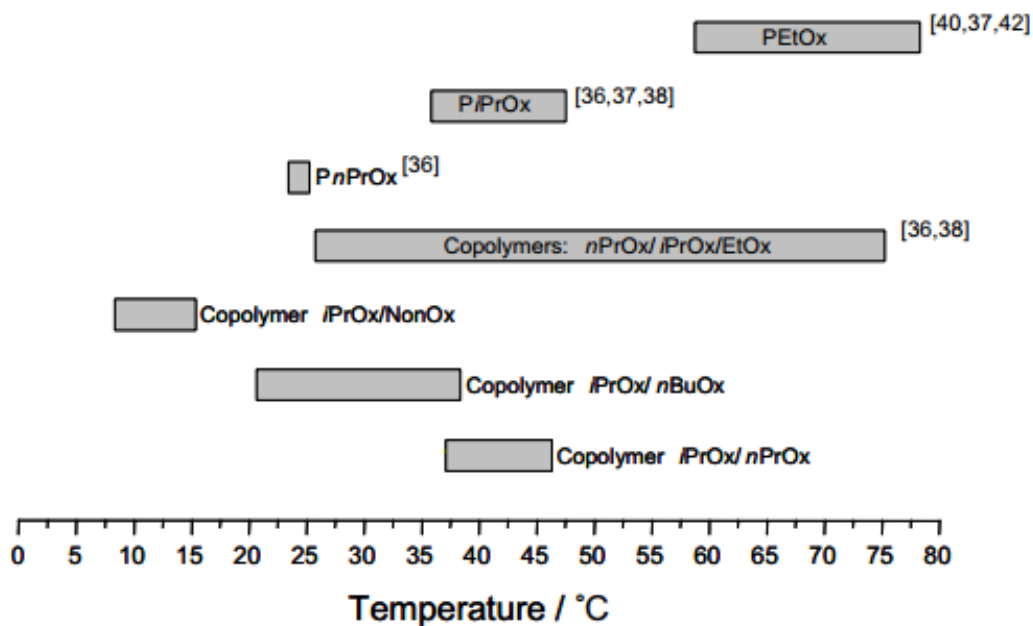


Figure 1. 32 Modulation de la LCST de poly(2-oxazoline)s reporté dans la littérature. Reproduit avec permission de la Réf. [121]. Copyright © 2007, Springer-Verlag

En somme, tout comme pour l'effet des groupements terminaux, la transition de phase d'une polyoxazoline est abaissée par ajout d'un co-monomère hydrophobe (e.g. T_{CP} de la PIPOZ₂₅ est de 47°C tandis qu'elle est de 9°C pour le P(IPOZ₂₂nNonOX₃) [121]) et est augmentée par ajout d'un co-monomère hydrophile comme le résume la Figure 1.32.

L'architecture du polymère (linéaire, cyclique, brosse, ou en étoile) influence aussi la température de transition de phase. Jordan *et al.* ont montré que des brosses composées de PEOZ ou de PIPOZ ont une T_{CP} très étroite et inférieure à celle des polymères linéaires correspondants [140]. Ils ont aussi remarqué que la T_{CP} diminuait avec l'augmentation de la DP des chaînes de polymères. Par exemple, elle est de 53°C pour la brosse de PEOZ de 78 kDa, 27°C et 30°C pour la brosse de PIPOZ 53 kDa et 125 kDa par opposition, respectivement, à 69°C et 37°C pour la PEOZ et la PIPOZ linéaire. Des observations similaires ont aussi été reportées par Schubert *at al.* sur des brosses de PEOZ préparées avec une procédure différente et des brosses de poly-[oligo(2-cyclopropyl-2-oxazoline)méthacrylate] (pCRPropOx) [138, 182]. La diminution est d'environ 10°C pour la T_{CP} de brosses de pCRPropOx comparativement à celle de la poly-2-cyclopropyl-2-oxazoline linéaire correspondante. Cet affaissement de la T_{CP} est dû à la fois à l'augmentation des groupements terminaux et à l'accroissement de la concentration locale des chaînes de polymères. L'architecture a un effet opposé sur la LCST pour les polymères cycliques. Jung *et al.* ont observé

une T_{CP} de 48.1°C pour des PIPOZs cycliques de 4 kDa à 5g.L⁻¹ contre 38.6°C pour les PIPOZs linéaires correspondants à la même concentration [135]. Cette augmentation de la température de séparation de phase fut aussi observée pour les PNIPAMs cycliques par Winnik *et al.* [183]. Ils ont attribué cet incrément à deux raisons :

- La restriction des enchevêtrements intermoléculaires imposée par l'architecture
- L'absence de groupements terminaux

Contrairement à ces résultats, Zheng et Pan ont observé pour des PNIPAMs en étoile que la T_{CP} était indépendante de l'architecture du polymère. Ils ont déterminé une T_{CP} d'environ 32°C pour des PNIPAMs en étoiles avec des cœurs dendritiques de 8 à 16 bras et des masses molaires (M_n) allant de 9.7 kDa à 87.1 kDa [93]. Cependant ces valeurs reposent sur des observations de transmittance. Xu et Liu ont montré via des études de DSC que les PNIPAMs en étoile, dépendant de la densité des chaînes autour du cœur et de la longueur des bras polymères, pouvaient présenter une transition de phase soit monomodale ou bimodale [87].

Les effets de l'architecture sur la transition de phase peuvent varier d'un système à un autre. En plus des facteurs intrinsèques au polymère (groupements terminaux, masses molaires, architecture, composition et concentration), la transition de phase est affectée par des facteurs extrinsèques tels de que la concentration en sels de la solution.

1.3.4.4 Effet des sels sur la LCST

Les sels dans la nature, quand ils ne sont pas dissous, sont sous forme de cristaux composés de cations et d'anions disposés de façon régulière dans l'espace. La cohésion du cristal est assurée par des interactions électrostatiques entre les ions de charges opposés résultant en un cristal électriquement neutre. En solution aqueuse, l'eau de par sa forte constante diélectrique fragilise les liaisons ioniques dans le cristal par interaction électrostatique avec la surface de celui-ci qui finissent par se rompre en libérant des ions. Les ions libérés qui sont chargés soit positivement ou négativement, sont engagés dans des interactions électrostatiques (interactions de Coulomb) avec les molécules d'eau environnantes conduisant à l'hydratation des ions. Les ions hydratés sont entourés de molécules d'eau - c'est la sphère d'hydratation - dont l'orientation et le nombre varie en fonction du type et de la taille de l'ion donc de la surface d'hydratation. L'eau solvate les cations avec l'oxygène orienté vers l'ion tandis que pour les anions ce sont les hydrogènes qui le sont (cf. Figure 1.33) [164, 165].

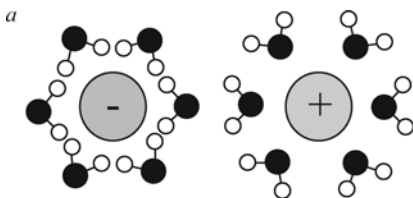


Figure 1. 33 Représentation de l'hydratation des cations et anions. Reproduit avec permission de la Réf. [164]. Copyright © 2008, American Chemical Society

Toutefois, la capacité des molécules d'eau hydratant l'ion à s'auto-associer pour former un réseau 3D est interrompue puisqu'elles sont orientées dans le champ électrique de l'ion. Cette orientation conduit à différents types de structure dans l'eau locale dépendante de la taille de l'ion et de la surface d'hydratation. Les ions imposant un ordonnancement local plus structuré dans les molécules d'eau environnantes et renforçant les liaisons hydrogènes sont appelés des ions « **structure making** » ou **cosmotropes** tandis que ceux qui augmentent le désordre en affaiblissant les liaisons hydrogènes sont appelés des « **structure breaking** » ou **chaotropes** (cf. Figure 1.34) [164, 165, 184, 185]. Les cosmotropes induisent un ordonnancement dans l'eau similaire à celui de la glace (*icelike*) tandis que les chaotropes induisent une structure plus similaire à celui d'un liquide (*liquide-like*) [164]. Ces ions ont été classés par Hofmeister en 1888. Originellement, cette série évaluait la capacité des ions à solubiliser (*salting-in*) et/ou à précipiter (*salting-out*) les protéines. Maintenant elle est employée pour évaluer la capacité d'un sel à stabiliser ou déstabiliser la structure de l'eau.

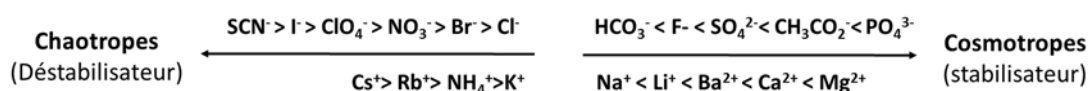


Figure 1. 34 Présentation de quelques ions de la classification d'Hofmeister

Ce classement range les ions en fonction de leur densité de charge de surface [186]. Ce concept de cosmotrope et de chaotrope est très important car il permet d'expliquer les phénomènes ayant lieu pour les solutions de polymères hydrosolubles neutres dans les systèmes salins. L'effet des sels sur les solutions aqueuses de polymères peut être vu, comme une compétition de solvatation entre les ions et les polymères. L'ion pouvant coordonner l'eau (cf. figure 1.33) dans des sphères d'hydratation affecte la structure de l'eau précédemment décrite. Les ions cosmotropes ou ceux qui sont hautement chargés, créent un démouillage des polymères provoquant leur précipitation tandis que les ions chaotropes ou faiblement chargés augmentent

leur solubilité (*salting-in*) à faible concentration. À forte concentration, ils la diminuent [164, 184, 187]. Cremer et al. ont étudié l'effet des sels d'Hofmeister sur la LCST du PNIPAM et ont conclu qu'ils agissaient selon trois types de mécanisme comme le montre le schéma ci-dessous. Ils peuvent agir :

- Par **polarisation** de la molécule d'eau impliquée dans la liaison hydrogène avec l'amide (Figure 1.35 a.)
- Soit en **dissociant** les cages hydrophobes exposant ainsi à l'eau les groupements isopropyles et la chaîne carbonée (cf. Figure 1.35 b.)
- Soit en **se liant** au groupement amide (cf. Figure 1.35 c.)

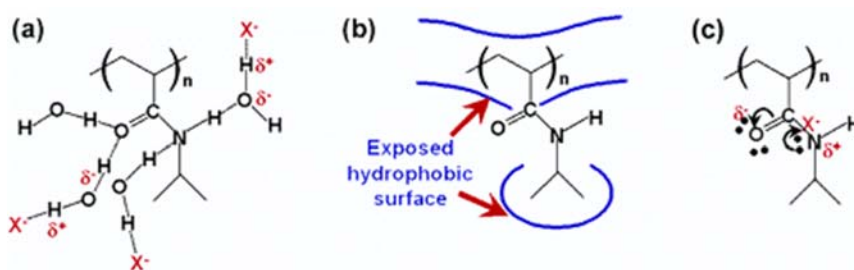


Figure 1. 35 Représentation des différents types d'interactions ayant lieu entre les anions, le PNIPAM et l'eau. Reproduit avec permission de la Réf.[184] .Copyright © 2005, American Chemical Society.

Les deux premiers mécanismes dans l'eau conduisent au démoillage («*salting-out*») du PNIPAM donc à l'abaissement de sa LCST et sont produits par les chaotropes tandis que le troisième conduit à un accroissement du mouillage du polymère («*salting-in*») par conséquent, à une augmentation de sa LCST dans l'eau. Ce dernier effet est produit par les cosmotropes. Hoogenboom et al. ont aussi étudié l'effet des sels d'Hofmeister sur la LCST de solutions aqueuses de poly(2-oxazolines) (PEOZ, PIPOZ, PnPOZ) et d'un polymère en brosse le poly[oligo(2-éthyl-2-oxazoline)méthacrylate] (POEtOxMA) [139]. Ils ont eu des résultats similaires à ceux de Cremer *et al.* L'effet des chaotropes sur la LCST des poly-2-oxazolines est cependant plus marqué que dans le cas du PNIPAM et est dû à la position de l'amide au sein du polymère. La LCST augmente d'environ 0.5°C pour le PNIPAM contre environ 20°C pour la PIPOZ en présence de NaSCN [139, 184]. Ils ont déterminé dans un deuxième temps que l'effet des sels d'Hofmeister pour cette série de poly-2-alkyl-oxazolines dépend de l'hydrophilie du polymère. Par exemple en présence de Na₂SO₄, la LCST de la PEOZ est abaissée de 70°C par rapport à la valeur de la LCST obtenue en absence de sels, alors que celles de la PnPOZ et de la PIPOZ sont, respectivement, abaissées

d'environ 15 et 30°C. Ils ont aussi conclu que la variation de la LCST en fonction des sels ne semble pas être dépendante de l'architecture du polymère car la LCST de la POEtOxMA varie de façon similaire à la LCST du PEOZ (cf. Figure 1.36).

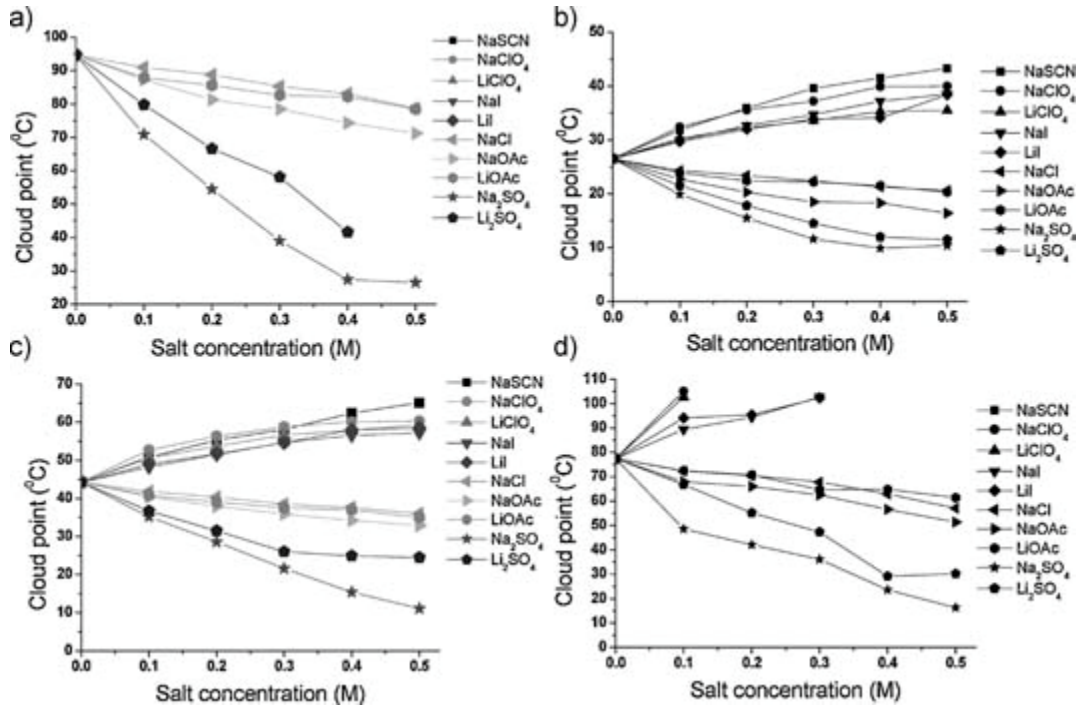


Figure 1. 36 Influence des sels d'Hofmeister sur la T_{CP} de la (a) PEOZ, (b) PnPOZ, (c) PiPOZ, and (d) POEtOxMA. Reproduit avec permission de la Réf. [139]. Copyright © 2010, John Wiley & Sons, Inc.

1.3.5 Cristallisation de la PIPOZ en solution aqueuse.

En masse, les poly(2-alkyl-oxazoline)s, exception faite pour la poly(2-propyl-2-oxazoline), sont des polymères semi-cristallins [188]. Litt et al. ont stipulé que la cristallinité des poly(2-alkyl-oxazoline)s est due à la coplanarité de l'amide couplée à l'absence de chiralité sur la chaîne principale. De plus l'unité de répétition est constituée de trois atomes incluant l'atome d'azote. Ces conditions font que la chaîne de polymère peut adopter une conformation trans (zigzag) avec les groupements latéraux de part et d'autre de la chaîne principale.

Une caractéristique de la PIPOZ est sa capacité à cristalliser en solution aqueuse après un chauffage prolongé à des températures excédant la LCST de sa solution dans l'eau (généralement 20°C au-dessus de sa LCST). La cristallisation des PIPOZs est un phénomène irréversible (le précipité ne se dissolvant pas dans l'eau après un retour à la température ambiante). Schlaad *et al.* furent les premiers à décrire ce phénomène [189, 190]. Des observations en microscopie à

balayage (SEM) ont révélé que ce précipité est composé de fibres s'agglomérant en sphères (cf. Figure 1.37a). Des mesures de WAXS et de DSC (en masse) ont montré que ces fibres sont cristallines (cf. Figure 1.37b). De plus, des analyses de microscopie de force atomique ont permis de déterminer le diamètre des fibres. La comparaison de cette observation et d'un modèle élaboré à partir des données de diffraction des Rayons-X (cf. Figure 1.37 c) a permis de déterminer que le diamètre de ces fibres correspond à la longueur de contour de la PIPOZ étudiée. Ce résultat suggère que les fibres sont composées de chaînes étendues en conformation trans (zig-zag) et superposées se propageant dans la direction de l'axe des amides [190].

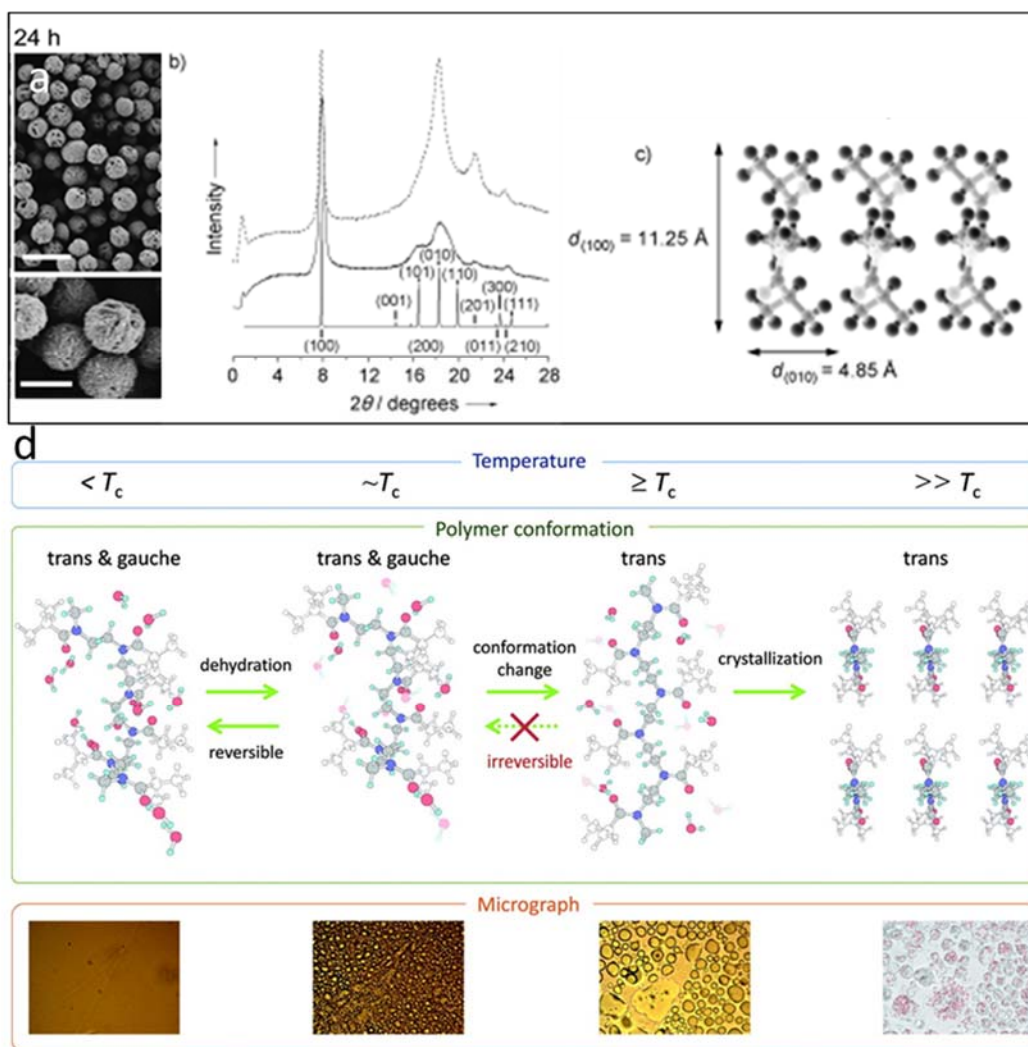


Figure 1. 37 Représentation de la structure cristalline des PIPOZs et des différentes étapes de la cristallisation. Reproduit avec permission de la Réf.[191]. Copyright © 2010, Royal Society of Chemistry. **b. et c.** Reproduit avec permission de la Réf. [190]. Copyright © 2007, John Wiley and Sons. **d.** Reproduit avec permission de la Réf.[192]. Copyright © 2012, American Chemical Society.

Le changement de conformation «cis-trans» fut aussi décrit par Katsumoto *et al* qui utilisèrent des analyses combinées de spectroscopie infrarouge de solution aqueuse de PIPOZ et de modélisation moléculaire de composés modèles [192]. De plus, ils ont déterminé que la cristallisation des PIPOZs avait lieu en deux étapes. Au-dessus de la LCST, il y a d'abord une séparation de phase liquide-liquide (cf. Figure 1.37 d micrographies : gouttelettes). Les phases sont constituées d'une phase liquide pauvre en polymère et d'une autre riche en polymère (supersaturation). La nucléation/ cristallisation qui constitue la deuxième étape à lieu dans la phase riche en polymère (Figure 1.37 d: dernière micrographie) [192].

Diehl *et al.* ont montré via des études cinétiques de la cristallisation que la nucléation/cristallisation commence après 3 heures de chauffage puis atteint un plateau au bout de 7-8h [191]. Ils ont étudié le mécanisme de cristallisation de la PIPOZ en solution aqueuse et ont déterminé que le processus de cristallisation ne dépend pas de la concentration en polymère. La concentration en PIPOZ n'affecte que la forme des microparticules formées. Les microparticules sont en effet plus compactes quand la concentration en polymère est élevée. Ils ont aussi établi que l'agglomération des fibres en sphère est vraisemblablement due à des cristallisations interfaciales secondaires inter-fibrillaires. Il est à noter que la cristallisation n'est pas affectée par la présence de sels, d'additifs ou de cosolvants [137, 190].

La cristallisation des PIPOZ en solution ne se limite pas uniquement aux phases aqueuses. Dworak *et al.* ont récemment prouvé que les PIPOZs pouvaient cristalliser non seulement dans les solutions aqueuses mais aussi dans les solvants organiques tels que le DMSO, l'acétonitrile et le propylène carbonate sous l'action d'un chauffage prolongé (50°C pendant 20 jours) [193].

Diehl *et al.* ont mis à profit la cristallisation des PIPOZs pour créer des microparticules faites de copolymères d'isopropyl-2-oxazoline et de 2-(3-butenyl)-2-oxazoline. Ces microparticules ont ensuite été fonctionnalisées avec des sucres par couplage thiol-ène leur permettant de reconnaître spécifiquement des lectines présentes à la surface de cellules [194].

La cristallisation des PIPOZs ne se limite pas aux homopolymères mais a lieu aussi dans le cas de copolymères de PIPOZs. Legros *et al.* ont synthétisé et étudié un copolymère à bloc PIPOZ₅₀ et PMeOZ₅₀ capable de cristalliser et former des micelles et/ou des fibres [195]. Morimoto *et al.* ont aussi observé la cristallisation du bloc PIPOZ au sein de leur système composé de Pullulan-g-PIPOZ [137]. Des architectures plus complexes ont aussi été étudiées tels que le système de Rudolph *et al.* [196]. Ils ont synthétisé un terpolymère tribloc à base de polyéthylène-block-

poly(2-(4-(tert-butoxycarbonyl)amino)butyl-2-oxazoline)-block-poly(2-isopropyl-2-oxazoline) capable de former des fibres cristallines en solution aqueuse via le bloc PIPOZ. Une observation notable est que les PIPOZs ont tendance, indépendamment du système, à cristalliser sous la forme de nanofibres (cf. figure 1.38 ci-après).

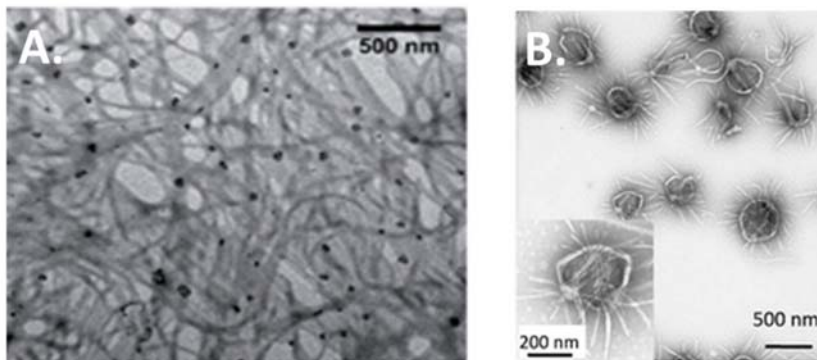


Figure 1. 38 Fibres de PIPOZs cristallisées observées en TEM par Diehl (image de gauche) et par Morimoto (à droite). **a.** Reproduit avec permission de la Réf.[195]. Copyright © 2015, Royal Society of Chemistry. **b.** Reproduit avec permission de la Réf.[137]. Copyright © 2009, Royal Society of Chemistry.

1.4 Conclusion

Cette revue de littérature a présenté les différents systèmes mis en jeu au sein de cette thèse. Différents aspects ont donc été présentés, à savoir la synthèse et/ou disponibilité des monomères, l'obtention des polymères (synthèses et réactions secondaires: réactions de transfert de chaînes, réduction de chaînes suite à des clivages intramoléculaires...) et leurs propriétés physico-chimiques (comportement en solution aqueuse, biocompatibilité, biodégradation, thermosensibilité, etc.). Ces polymères se présentent comme des candidats potentiels à l'élaboration de biomatériaux du fait de leurs propriétés précédemment citées et plus particulièrement grâce à leurs biodégradabilités et biocompatibilités couplées:

- dans le cas du PLA, à son **hydrophobie** qui fait de lui une excellente matrice pour véhiculer les molécules bioactives hydrophobes

- dans le cas de la PIPOZ, d'une part à sa **thermosensibilité** proche de la température corporelle humaine dans le cas de la PIPOZ ($\approx 37^\circ\text{C}$) et d'autre part à sa **polarité**.

Cependant dans cette optique, certaines contraintes sont à contrôler comme la solubilité en phase aqueuse qui est primordiale en cas d'utilisation en tant que nano-conteneurs ou encore l'absence de cristallinité au sein du système polymère étudié qui peut induire des réactions

inflammatoires. De plus la présence de fonctionnalités transversales est importante pour permettre l'accrochage de biomolécules telles que des ligands ou récepteurs cellulaires. Nous verrons donc dans cette thèse comment remédier aux problèmes exposés ci-dessus.

1.5 Objectifs

L'objectif principal de ce travail était de développer et d'étudier les propriétés de nouveaux systèmes pouvant être utilisés comme matrices polymères. Ces matrices pourront ensuite servir de (nano)véhicules pour la délivrance de médicaments hydrophobes en phase aqueuse.

Dans un premier temps, nous avons étudié une matrice à base d'acide polylactique. L'acide polylactique est un polymère hydrophobe. Cette caractéristique fait de lui un candidat idéal pour la vectorisation de médicaments hydrophobes. Néanmoins, comme cité précédemment, l'absence de fonctionnalité le long de la chaîne aliphatique associée à son hydrophobie limite le rayon d'action de ce polymère. En se basant sur les travaux du Prof. Hildgen, nous nous sommes posé la question suivante :

« Comment via la copolymérisation avec les époxydes, peut-on apporter une fonctionnalité tolérante tant aux conditions expérimentales, qu'à une fonctionnalisation post-polymérisation? » De plus les réactions post-polymérisations doivent être non destructrices, avoir de bons rendements réactionnels, faciles à mettre en œuvre et à purifier, et être tolérantes à une large gamme de groupements fonctionnels. Étant donné que cette matrice servira à des applications biomédicales, une deuxième question a vu le jour : *« Ce copolymère est-il toxique? »*

Le deuxième objectif de ce travail consiste à premièrement à synthétiser des étoiles à base de poly-2-isopropyl-2-oxazolines (PIPOZ) de structure définie. Par la suite, nous étudierons le comportement des étoiles de PIPOZs en solution aqueuse afin d'extraire l'effet de l'architecture et de la composition des bras sur leurs propriétés physico-chimiques. Cette partie de la thèse permettra de répondre aux trois questions suivantes :

- *« Quel est la voie synthétique la plus fiable pour obtenir ces PIPOZs en étoile? »*

Les propriétés des matrices polymères, donc de surcroît la reproductibilité de ces propriétés, sont intrinsèquement liées à la microstructure du polymère. Il est donc primordial d'avoir une étoile de polymère de microstructure bien définie, donc provenant d'une approche synthétique permettant l'obtention de polymère de précision.

- *« Comment évolue la transition de phase des étoiles à base de PIPOZ en fonction de la masse molaires des bras et de l'architecture du cœur? »*

Beaucoup de chercheurs ont prêté une attention particulière à la synthèse de poly-2-alkyl-2-oxazolines linéaires et en étoiles. Toutefois, contrairement aux PIPOZs linéaires, peu se sont intéressés aux comportements des PIPOZs en étoiles en solution aqueuse sous induction thermique et en tenant compte de différents paramètres tels que:

- **L'évolution de la masse molaire**
- **L'architecture du cœur.** Ce dernier peut être un facteur important pour l'application du polymère en étoile. Par exemple comment évolue la transition de phase si on passe d'un cœur standard à un cœur polyaromatique (fluorescents) pour l'imagerie cellulaire.

- *« Comment peut-on assurer la solubilité du système en milieu aqueux au-delà la température de transition de phase et éviter la cristallisation du polymère? »*

Les PIPOZs s'agglomèrent et deviennent insoluble, au-delà de la température de transition de phase. Il est donc primordial que les étoiles de PIPOZs soient solubles en phase aqueuse (donc par analogie dans la circulation sanguine) au de leur température de transition de phase afin de pouvoir délivrer son contenu (molécule active) à l'organe cible. Un autre caractère des PIPOZs qu'il faut éviter dans le cas des étoiles de polymère, est sa prédisposition à cristalliser après un chauffage prolongé au-delà de la température de transition de phase. Dans un organisme vivant, l'inflammation peut être causée par l'introduction de corps cristallin.

Tous ces paramètres doivent être par conséquent vérifiés et entrepris afin d'entrevoir une application potentielle en tant que nano-vecteur. Toutes les réponses à ces questions seront développées au sein de cette thèse.

1.6 Structuration de la thèse

Le chapitre 2 développera une synthèse de poly(ester-co-éther)s avec des groupements pendants alcynes utilisant l'éther de propargyle et glycidyle (PGE) au lieu de l'éther d'allyle et de glycidyle (AGE). Ces copolymères seront ensuite caractérisés et fonctionnalisés en utilisant la CuAAC. Leur toxicité sera aussi évaluée ainsi que les mécanismes régissant la copolymérisation.

Les chapitres 3 et 4 traiteront des PIPOZs en étoiles (S-PIPOZ). Afin de mieux comprendre la relation de la structure/propriété du polymère, il est primordial de sélectionner premièrement une approche synthétique fiable de polymères en étoile. Dans cette optique, **le chapitre 3** traitera de la synthèse et la purification de poly(2-isopropyl-2-oxazoline)s en étoile par deux voies de synthèse : l'approche divergente et l'approche convergente «*coupling-onto*».

Ces deux voies de synthèse seront ensuite comparées pour sélectionner celle qui permet d'avoir le moins de défaut dans la microstructure des polymères en étoile. La comparaison se fera via des études de DSC en solution aqueuse et de GPC. De surcroît, une nouvelle méthode de purification exploitant la thermosensibilité de la PIPOZ en solution aqueuse sera aussi exposée au sein de ce chapitre.

Le chapitre 4 se focalisera sur les propriétés physico-chimiques des S-PIPOZs. Il abordera l'effet de l'architecture et de la composition des S-PIPOZs sur la température de transition de phase et la cristallisation du polymère via l'étude de solutions aqueuses de deux S-PIPOZs à quatre bras possédants des cœurs différents, de S-PIPOZ-bloc-PEG et de polymères analogues linéaires.

Le chapitre 5 discutera ensuite des applications potentielles de chacun des systèmes abordés dans cette thèse, des perspectives et finira ensuite sur une conclusion générale.

1.7 Références

- [1] Erwin T.H. Vink, Steve Davies, J.J. Kolstad, The eco-profile for current Ingeo® polylactide production, *Industrial Biotechnology* 6(4) (2010) 212-224.
- [2] M.A. Abdel-Rahman, Y. Tashiro, K. Sonomoto, Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes, *Biotechnology Advances* 31(6) (2013) 877-902.
- [3] K. Madhavan Nampoothiri, N.R. Nair, R.P. John, An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research, *Bioresource Technology* 101(22) (2010) 8493-8501.

- [4] <http://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/lactic-acid-and-poly-lactic-acid-market>.
- [5] J.C. Middleton, A.J. Tipton, Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices, *Biomaterials* 21(23) (2000) 2335-2346.
- [6] A. Steinbuchel, J. Lunt, Biodegradable polymers and macromolecules large-scale production, properties and commercial applications of polylactic acid polymers, *Polymer Degradation and Stability* 59(1) (1998) 145-152.
- [7] T. Ghaffar, M. Irshad, Z. Anwar, T. Aqil, Z. Zulifqar, A. Tariq, M. Kamran, N. Ehsan, S. Mehmood, Recent trends in lactic acid biotechnology: A brief review on production to purification, *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 7(2) (2014) 222-229.
- [8] F.A. Castillo Martinez, E.M. Balciunas, J.M. Salgado, J.M. Domínguez González, A. Converti, R.P.d.S. Oliveira, Lactic acid properties, applications and production: A review, *Trends in Food Science & Technology* 30(1) (2013) 70-83.
- [9] B.H. Lunelli, R.R. Andrade, D.I.P. Atala, M.R. Wolf Maciel, F. Maugeri Filho, R. Maciel Filho, Production of lactic acid from sucrose: strain selection, fermentation, and kinetic modeling, *Applied Biochemistry and Biotechnology* 161(1) (2010) 227-237.
- [10] M.G. Adsul, A.J. Varma, D.V. Gokhale, Lactic acid production from waste sugarcane bagasse derived cellulose, *Green Chemistry* 9(1) (2007) 58-62.
- [11] R.H.W. Maas, R.R. Bakker, G. Eggink, R.A. Weusthuis, Lactic acid production from xylose by the fungus *Rhizopus oryzae*, *Applied Microbiology and Biotechnology* 72(5) (2006) 861-868.
- [12] D. Pleissner, A.-K. Neu, K. Mehlmann, R. Schneider, G.I. Puerta-Quintero, J. Venus, Fermentative lactic acid production from coffee pulp hydrolysate using *Bacillus coagulans* at laboratory and pilot scales, *Bioresource Technology* 218 (2016) 167-173.
- [13] K. Masutani, Y. Kimura, Chapter 1: PLA Synthesis. From the monomer to the Polymer, *poly(lactic acid) science and technology: processing, properties, additives and applications*, The Royal Society of Chemistry, 2015, 1-36.
- [14] A.K. Schneider, Polymers of high melting lactide, United States Patent Office, Google Patents, United State, 1955.
- [15] C.A. Thayer, H.E. Bellis, Process for the synthesis of lactide or glycolide from lactic acid or glycolide acid oligomers, Google Patents, 1994.
- [16] C.-H. Wang, K.-R. Fan, G.-H. Hsiue, Enzymatic degradation of PLLA-PEOz-PLLA triblock copolymers, *Biomaterials* 26(16) (2005) 2803-2811.

- [17] T. Kissel, Y. Li, F. Unger, ABA-triblock copolymers from biodegradable polyester A-blocks and hydrophilic poly(ethylene oxide) B-blocks as a candidate for in situ forming hydrogel delivery systems for proteins, *Advanced Drug Delivery Reviews* 54(1) (2002) 99-134.
- [18] J.E. Bergsma, W.C. de Bruijn, F.R. Rozema, R.R.M. Bos, G. Boering, Late degradation tissue response to poly(L-lactide) bone plates and screws, *Biomaterials* 16(1) (1995) 25-31.
- [19] K. Enomoto, M. Ajioka, A. Yamaguchi, Polyhydroxycarboxylic acid and preparation process thereof, Google Patents, 1994.
- [20] H.R. Kricheldorf, M. Berl, N. Scharnagl, Poly(lactones). 9. Polymerization mechanism of metal alkoxide initiated polymerizations of lactide and various lactones, *Macromolecules* 21(2) (1988) 286-293.
- [21] R. Dunsing, H.R. Kricheldorf, Polylactones, *Polymer Bulletin* 14(6) (1985) 491-495.
- [22] H.R. Kricheldorf, I. Kreiser, Polylactones, 11. Cationic copolymerization of glycolide with L,L-dilactide, *Die Makromolekulare Chemie* 188(8) (1987) 1861-1873.
- [23] H. Uyama, K. Takeya, S. Kobayashi, Synthesis of polyesters by enzymatic ring-opening copolymerization using lipase catalyst, *Proceedings of the Japan Academy, Series B* 69(8) (1993) 203-207.
- [24] D. Bourissou, S. Moëbs-Sánchez, B. Martín-Vaca, Recent advances in the controlled preparation of poly(α -hydroxy acids): metal-free catalysts and new monomers, *Comptes Rendus Chimie* 10(9) (2007) 775-794.
- [25] A. Kowalski, A. Duda, S. Penczek, Mechanism of cyclic ester polymerization initiated with tin(II) octoate. 2. Macromolecules fitted with tin(II) alkoxide species observed directly in MALDI-TOF Spectra, *Macromolecules* 33(3) (2000) 689-695.
- [26] A. Kowalski, A. Duda, S. Penczek, Kinetics and mechanism of cyclic esters polymerization initiated with tin(II) octoate. 3. Polymerization of L,L-dilactide, *Macromolecules* 33(20) (2000) 7359-7370.
- [27] A. Kowalski, Duda, A. and Penczek, S, Kinetics and mechanism of cyclic esters polymerization initiated with tin(II) octoate, 1. Polymerization of ϵ -caprolactone., *Macromol. Rapid Commun.* 19(11) (1998) 567-572.
- [28] M. Ryner, K. Stridsberg, A.-C. Albertsson, H. von Schenck, M. Svensson, Mechanism of ring-opening polymerization of 1,5-dioxepan-2-one and L-lactide with stannous 2-ethylhexanoate. A theoretical study, *Macromolecules* 34(12) (2001) 3877-3881.

- [29] A. Sauer, A. Kapelski, C. Fliedel, S. Dagonne, M. Kol, J. Okuda, Structurally well-defined group 4 metal complexes as initiators for the ring-opening polymerization of lactide monomers, *Dalton Transactions* 42(25) (2013) 9007-9023.
- [30] O. Dechy-Cabaret, B. Martin-Vaca, D. Bourissou, Controlled ring-opening polymerization of lactide and glycolide, *Chemical Reviews* 104(12) (2004) 6147-6176.
- [31] D.J. Darensbourg, W. Choi, O. Karroonnirun, N. Bhuvanesh, Ring-opening polymerization of cyclic monomers by complexes derived from biocompatible metals. Production of poly(lactide), poly(trimethylene carbonate), and their copolymers, *Macromolecules* 41(10) (2008) 3493-3502.
- [32] Z. Zhong, S. Schneiderbauer, P.J. Dijkstra, M. Westerhausen, J. Feijen, Single-site calcium initiators for the controlled ring-opening polymerization of lactides and lactones, *Polymer Bulletin* 51(3) (2003) 175-182.
- [33] M.H. Chisholm, N.W. Eilerts, J.C. Huffman, S.S. Iyer, M. Pacold, K. Phomphrai, Molecular design of single-site metal alkoxide catalyst precursors for ring-opening polymerization reactions leading to polyoxygenates. 1. Polylactide formation by achiral and chiral magnesium and zinc alkoxides, (η^3 -L)MOR, where L = trispyrazolyl- and trisindazolylborate ligands, *Journal of the American Chemical Society* 122(48) (2000) 11845-11854.
- [34] M.-L. Shueh, Y.-S. Wang, B.-H. Huang, C.-Y. Kuo, C.-C. Lin, Reactions of 2,2'-methylenebis(4-chloro-6-isopropyl-3-methylphenol) and 2,2'-ethylidenebis(4,6-di-*tert*-butylphenol) with $Mg(nBu)_2$: Efficient Catalysts for ring-opening polymerization of ϵ -caprolactone and L-lactide, *Macromolecules* 37(14) (2004) 5155-5162.
- [35] J.-C. Wu, B.-H. Huang, M.-L. Hsueh, S.-L. Lai, C.-C. Lin, Ring-opening polymerization of lactide initiated by magnesium and zinc alkoxides, *Polymer* 46(23) (2005) 9784-9792.
- [36] H.-Y. Chen, H.-Y. Tang, C.-C. Lin, Ring-opening polymerization of lactides initiated by zinc alkoxides derived from NNO-tridentate ligands, *Macromolecules* 39(11) (2006) 3745-3752.
- [37] M. Bero, J. Kasperczyk, G. Adamus, Coordination polymerization of lactides, 3. Copolymerization of L,L-lactide and ϵ -caprolactone in the presence of initiators containing Zn and Al, *Die Makromolekulare Chemie* 194(3) (1993) 907-912.
- [38] M.H. Chisholm, C.-C. Lin, J.C. Gallucci, B.-T. Ko, Binolate complexes of lithium, zinc, aluminium, and titanium; preparations, structures, and studies of lactide polymerization, *Dalton Transactions* (3) (2003) 406-412.
- [39] B.B. Idage, S.B. Idage, A.S. Kasegaonkar, R.V. Jadhav, Ring opening polymerization of dilactide using salen complex as catalyst, *Materials Science and Engineering: B* 168(1-3) (2010) 193-198.

- [40] B.J. O'Keefe, L.E. Breyfogle, M.A. Hillmyer, W.B. Tolman, Mechanistic comparison of cyclic ester polymerizations by novel iron(III)-alkoxide complexes: single vs multiple site catalysis, *Journal of the American Chemical Society* 124(16) (2002) 4384-4393.
- [41] M. Stolt, A. Södergård, Use of monocarboxylic iron derivatives in the ring-opening polymerization of l-lactide, *Macromolecules* 32(20) (1999) 6412-6417.
- [42] B.J. O'Keefe, S.M. Monnier, M.A. Hillmyer, W.B. Tolman, Rapid and controlled polymerization of lactide by structurally characterized ferric alkoxides, *Journal of the American Chemical Society* 123(2) (2001) 339-340.
- [43] N.E. Kamber, W. Jeong, R.M. Waymouth, R.C. Pratt, B.G.G. Lohmeijer, J.L. Hedrick, Organocatalytic ring-opening polymerization, *Chemical Reviews* 107(12) (2007) 5813-5840.
- [44] A.P. Dove, Controlled ring-opening polymerisation of cyclic esters: polymer blocks in self-assembled nanostructures, *Chemical Communications* (48) (2008) 6446-6470.
- [45] L. Zhang, F. Nederberg, R.C. Pratt, R.M. Waymouth, J.L. Hedrick, C.G. Wade, Phosphazene Bases: A new category of organocatalysts for the living ring-opening polymerization of cyclic esters, *Macromolecules* 40(12) (2007) 4154-4158.
- [46] R.C. Pratt, B.G.G. Lohmeijer, D.A. Long, P.N.P. Lundberg, A.P. Dove, H. Li, C.G. Wade, R.M. Waymouth, J.L. Hedrick, Exploration, optimization, and application of supramolecular thiourea-amine catalysts for the synthesis of lactide (co)polymers, *Macromolecules* 39(23) (2006) 7863-7871.
- [47] F. Nederberg, E.F. Connor, M. Möller, T. Glauser, J.L. and Hedrick, New paradigms for organic catalysts: the first organocatalytic living polymerization, *Angewandte Chemie International Edition* 40(14) (2001) 2712-2715.
- [48] B.G.G. Lohmeijer, R.C. Pratt, F. Leibfarth, J.W. Logan, D.A. Long, A.P. Dove, F. Nederberg, J. Choi, C. Wade, R.M. Waymouth, J.L. Hedrick, Guanidine and amidine organocatalysts for ring-opening polymerization of cyclic esters, *Macromolecules* 39(25) (2006) 8574-8583.
- [49] R. Riva, S. Schmeits, C. Jérôme, R. Jérôme, P. Lecomte, Combination of ring-opening polymerization and "click chemistry": toward functionalization and grafting of poly(ϵ -caprolactone), *Macromolecules* 40(4) (2007) 796-803.
- [50] M. Leemhuis, Jan H. van Steenis, Michelle J. van Uxem, Cornelus F. van Nostrum, Wim E. Hennink, A versatile route to functionalized dilactones as monomers for the synthesis of poly(α -hydroxy) acids, *European Journal of Organic Chemistry* 2003(17) (2003) 3344-3349.

- [51] S. Ponsart, J. Coudane, M. Vert, A novel route to poly(ϵ -caprolactone)-based copolymers via anionic derivatization, *Biomacromolecules* 1(2) (2000) 275-281.
- [52] B. Saulnier, S. Ponsart, J. Coudane, H. Garreau, M. Vert, Lactic acid-based functionalized polymers via copolymerization and chemical modification, *Macromolecular Bioscience* 4(3) (2004) 232-237.
- [53] M.-H. Huang, J. Coudane, S. Li, M. Vert, Methylated and pegylated PLA–PCL–PLA block copolymers via the chemical modification of di-hydroxy PCL combined with the ring opening polymerization of lactide, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* 43(18) (2005) 4196-4205.
- [54] R. Gref, Y. Minamitake, M.T. Peracchia, V. Trubetskoy, V. Torchilin, R. Langer, Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres, *Science* 263(5153) (1994) 1600-1603.
- [55] G. Ruan, S.-S. Feng, Preparation and characterization of poly(lactic acid)–poly(ethylene glycol)–poly(lactic acid) (PLA–PEG–PLA) microspheres for controlled release of paclitaxel, *Biomaterials* 24(27) (2003) 5037-5044.
- [56] A. Abuchowski, J.R. McCoy, N.C. Palczuk, T. van Es, F.F. Davis, Effect of covalent attachment of polyethylene glycol on immunogenicity and circulating life of bovine liver catalase, *Journal of Biological Chemistry* 252(11) (1977) 3582-3586.
- [57] C.C. Liu, K.Y. Chang, Y.J. Wang, A novel biodegradable amphiphilic diblock copolymers based on poly(lactic acid) and hyaluronic acid as biomaterials for drug delivery, *Journal of Polymer Research* 17(4) (2010) 459-469.
- [58] F.S. Palumbo, G. Pitarresi, D. Mandracchia, G. Tripodo, G. Giammona, New graft copolymers of hyaluronic acid and polylactic acid: synthesis and characterization, *Carbohydrate Polymers* 66(3) (2006) 379-385.
- [59] Q. Cai, Y. Wan, J. Bei, S. Wang, Synthesis and characterization of biodegradable polylactide-grafted dextran and its application as compatilizer, *Biomaterials* 24(20) (2003) 3555-3562.
- [60] Y. Li, J. Nothnagel, T. Kissel, Biodegradable brush-like graft polymers from poly(d,l-lactide) or poly(d,l-lactide-co-glycolide) and charge-modified, hydrophilic dextrans as backbone—Synthesis, characterization and in vitro degradation properties, *Polymer* 38(25) (1997) 6197-6206.
- [61] Y. Ohya, S. Maruhashi, T. Ouchi, Graft polymerization of l-lactide on pullulan through the trimethylsilyl protection method and degradation of the graft copolymers, *Macromolecules* 31(14) (1998) 4662-4665.

- [62] D. Chen, B. Sun, New tissue engineering material copolymers of derivatives of cellulose and lactide: their synthesis and characterization, *Materials Science and Engineering: C* 11(1) (2000) 57-60.
- [63] C.-H. Wang, G.-H. Hsiue, New amphiphilic poly(2-ethyl-2-oxazoline)/ poly(l-lactide) triblock copolymers, *Biomacromolecules* 4(6) (2003) 1487-1490.
- [64] R.W. Warner, S. Kangas, L. Atanasoska, J.T. Ippoliti, S.R. Schewe, Endoprosthesis, Google Patents, 2011.
- [65] J.A. Castillo, D.E. Borchmann, A.Y. Cheng, Y. Wang, C. Hu, A.J. García, M. Weck, Well-defined poly(lactic acid)s containing poly(ethylene glycol) side chains, *Macromolecules* 45(1) (2012) 62-69.
- [66] T. Fuoco, A. Finne-Wistrand, D. Pappalardo, A route to aliphatic poly(ester)s with thiol pendant groups: from monomer design to editable porous scaffolds, *Biomacromolecules* 17(4) (2016) 1383-1394.
- [67] M. Leemhuis, N. Akeroyd, J.A.W. Kruijtzter, C.F. van Nostrum, W.E. Hennink, Synthesis and characterization of allyl functionalized poly(α -hydroxy)acids and their further dihydroxylation and epoxidation, *European Polymer Journal* 44(2) (2008) 308-317.
- [68] H. Kim, J.V. Olsson, J.L. Hedrick, R.M. Waymouth, Facile synthesis of functionalized lactones and organocatalytic ring-opening polymerization, *ACS Macro Letters* 1(7) (2012) 845-847.
- [69] X. Jiang, M.R. Smith, G.L. Baker, Water-soluble thermoresponsive polylactides, *Macromolecules* 41(2) (2008) 318-324.
- [70] R.J. Pounder, A.P. Dove, Synthesis and organocatalytic ring-opening polymerization of cyclic esters derived from l-malic acid, *Biomacromolecules* 11(8) (2010) 1930-1939.
- [71] D. Tian, P. Dubois, C. Grandfils, R. Jérôme, Ring-opening polymerization of 1,4,8-trioxaspiro[4.6]-9-undecanone: a new route to aliphatic polyesters bearing functional pendant groups, *Macromolecules* 30(3) (1997) 406-409.
- [72] X. Yao, H. Du, N. Xu, S. Sun, W. Zhu, Z. Shen, Fully degradable antibacterial poly(ester-phosphoester)s by ring-opening polymerization, "click" chemistry, and quaternization, *Journal of Applied Polymer Science* 132(42) (2015) n/a-n/a.
- [73] J.F. Carpentier, S. Guillaume, M. Helou, A. Razavi, Process to prepare di- and multiblock copolymers, Google Patents, 2010.
- [74] V. Nadeau, G. Leclair, S. Sant, J.-M. Rabanel, R. Quesnel, P. Hildgen, Synthesis of new versatile functionalized polyesters for biomedical applications, *Polymer* 46(25) (2005) 11263-11272.

- [75] S. Sant, S. Poulin, P. Hildgen, Effect of polymer architecture on surface properties, plasma protein adsorption, and cellular interactions of pegylated nanoparticles, *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 87A(4) (2008) 885-895.
- [76] X. Banquy, G. Leclair, J.-M. Rabanel, A. Argaw, J.-F. Bouchard, P. Hildgen, S. Giasson, Selectins ligand decorated drug carriers for activated endothelial cell targeting, *Bioconjugate Chemistry* 19(10) (2008) 2030-2039.
- [77] A.K. Iyer, G. Khaled, J. Fang, H. Maeda, Exploiting the enhanced permeability and retention effect for tumor targeting, *Drug Discovery Today* 11(17–18) (2006) 812-818.
- [78] J.-M. Rabanel, J. Faivre, S.F. Tehrani, A. Lalloz, P. Hildgen, X. Banquy, Effect of the polymer architecture on the structural and biophysical properties of PEG–PLA nanoparticles, *ACS Applied Materials & Interfaces* 7(19) (2015) 10374-10385.
- [79] B. Liu, Y. Wang, F. Yang, X. Wang, H. Shen, H. Cui, D. Wu, Construction of a controlled-release delivery system for pesticides using biodegradable PLA-based microcapsules, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 144 (2016) 38-45.
- [80] R. Langer, J. Vacanti, Tissue engineering, *Science* 260(5110) (1993) 920-926.
- [81] D.A. Tomalia, A.M. Naylor, W.A. Goddard, Starburst dendrimers: molecular-level control of size, shape, surface chemistry, topology, and flexibility from atoms to macroscopic matter, *Angewandte Chemie International Edition in English* 29(2) (1990) 138-175.
- [82] F. Zeng, S.C. Zimmerman, Dendrimers in supramolecular chemistry: from molecular recognition to self-assembly, *Chemical Reviews* 97(5) (1997) 1681-1712.
- [83] G.M. Dykes, Dendrimers: a review of their appeal and applications, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 76(9) (2001) 903-918.
- [84] K. Khanna, S. Varshney, A. Kakkar, Miktoarm star polymers: advances in synthesis, self-assembly, and applications, *Polymer Chemistry* 1(8) (2010) 1171-1185.
- [85] J.R. Schaefgen, P.J. Flory, Synthesis of multichain polymers and investigation of their viscosities, *Journal of the American Chemical Society* 70(8) (1948) 2709-2718.
- [86] R.P. Quirk, Y. Tsai, Trifunctional organolithium initiator based on 1,3,5-T=tris(1-phenylethenyl)benzene. Synthesis of functionalized, three-armed, star-branched polystyrenes, *Macromolecules* 31(23) (1998) 8016-8025.
- [87] J. Xu, S. Liu, Synthesis of well-defined 7-arm and 21-arm poly(*N*-isopropylacrylamide) star polymers with β -cyclodextrin cores via click chemistry and their thermal phase transition behavior in aqueous solution, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* 47(2) (2009) 404-419.

- [88] Y.-Y. Liu, Y.-B. Zhong, J.-K. Nan, W. Tian, Star polymers with both temperature sensitivity and inclusion functionalities, *Macromolecules* 43(24) (2010) 10221-10230.
- [89] A. Kowalczyk, J. Kronek, K. Bosowska, B. Trzebicka, A. Dworak, Star poly(2-ethyl-2-oxazoline)s—synthesis and thermosensitivity, *Polymer International* 60(7) (2011) 1001-1009.
- [90] A. Pospisilova, S.K. Filippov, A. Bogomolova, S. Turner, O. Sedlacek, N. Matushkin, Z. Cernochova, P. Stepanek, M. Hruby, Glycogen-graft-poly(2-alkyl-2-oxazolines) - the new versatile biopolymer-based thermoresponsive macromolecular toolbox, *RSC Advances* 4(106) (2014) 61580-61588.
- [91] S. Luo, J. Xu, Z. Zhu, C. Wu, S. Liu, Phase transition behavior of unimolecular micelles with thermoresponsive poly(*N*-isopropylacrylamide) coronas, *The Journal of Physical Chemistry B* 110(18) (2006) 9132-9139.
- [92] R. Knischka, P.J. Lutz, A. Sunder, R. Mülhaupt, H. Frey, Functional poly(ethylene oxide) multiarm star polymers: core-First synthesis using hyperbranched polyglycerol initiators, *Macromolecules* 33(2) (2000) 315-320.
- [93] Q. Zheng, C.-y. Pan, Preparation and characterization of dendrimer-star PNIPAAm using dithiobenzoate-terminated PPI dendrimer via RAFT polymerization, *European Polymer Journal* 42(4) (2006) 807-814.
- [94] H. Gao, K. Matyjaszewski, Synthesis of star polymers by a new “Core-First” method: sequential polymerization of cross-linker and monomer, *Macromolecules* 41(4) (2008) 1118-1125.
- [95] J.-G. Zilliox, P. Rempp, J. Parrod, Préparation de macromolécules à structure en étoile, par copolymérisation anionique, *Journal of Polymer Science Part C: Polymer Symposia* 22(1) (1968) 145-156.
- [96] M. Hartlieb, D. Pretzel, M. Wagner, S. Hoepfener, P. Bellstedt, M. Gorch, C. Englert, K. Kempe, U.S. Schubert, Core cross-linked nanogels based on the self-assembly of double hydrophilic poly(2-oxazoline) block copolymers, *Journal of Materials Chemistry B* 3(9) (2015) 1748-1759.
- [97] A. Blencowe, J.F. Tan, T.K. Goh, G.G. Qiao, Core cross-linked star polymers via controlled radical polymerisation, *Polymer* 50(1) (2009) 5-32.
- [98] D.J. Worsfold, J.-G. Zilliox, P. Rempp, Préparation et caractérisation de polymères-modèle à structure en étoile, par copolymérisation séquentielle anionique, *Canadian journal of chemistry* 47 (1969) 3379-3385.

- [99] H. Gao, K. Matyjaszewski, Modular approaches to star and miktoarm star polymers by ATRP of cross-Linkers, *Macromolecular Symposia* 291-292(1) (2010) 12-16.
- [100] V.V. Rostovtsev, L.G. Green, V.V. Fokin, K.B. Sharpless, A stepwise Huisgen cycloaddition process: copper(I)-catalyzed regioselective "ligation" of azides and terminal alkynes, *Angewandte Chemie International Edition* 41(14) (2002) 2596-2599.
- [101] C.W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, Peptidotriazoles on solid phase: [1,2,3]-triazoles by regiospecific copper(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides, *The Journal of Organic Chemistry* 67(9) (2002) 3057-3064.
- [102] C. Hein, X.-M. Liu, D. Wang, Click Chemistry, A powerful tool for pharmaceutical sciences, *Pharmaceutical Research* 25(10) (2008) 2216-2230.
- [103] F. Himo, T. Lovell, R. Hilgraf, V.V. Rostovtsev, L. Noodleman, K.B. Sharpless, V.V. Fokin, Copper(I)-catalyzed synthesis of azoles. DFT study predicts unprecedented reactivity and intermediates, *Journal of the American Chemical Society* 127(1) (2005) 210-216.
- [104] H.C. Kolb, K.B. Sharpless, The growing impact of click chemistry on drug discovery, *Drug Discovery Today* 8(24) (2003) 1128-1137.
- [105] H.M.L. Lambermont-Thijs, M.W.M. Fijten, U.S. Schubert, R. Hoogenboom, Star-shaped poly(2-oxazoline)s by dendrimer endcapping, *Australian Journal of Chemistry* 64(8) (2011) 1026-1032.
- [106] O. Altintas, A.P. Vogt, C. Barner-Kowollik, U. Tunca, Constructing star polymers via modular ligation strategies, *Polymer Chemistry* 3(1) (2012) 34-45.
- [107] Y. Li, M. Beija, S. Laurent, L.v. Elst, R.N. Muller, H.T.T. Duong, A.B. Lowe, T.P. Davis, C. Boyer, Macromolecular ligands for gadolinium MRI contrast agents, *Macromolecules* 45(10) (2012) 4196-4204.
- [108] R. Luxenhofer, M. Bezen, R. Jordan, Kinetic investigations on the polymerization of 2-oxazolines using pluritriplate initiators, *Macromolecular Rapid Communications* 29(18) (2008) 1509-1513.
- [109] J.M. Ren, T.G. McKenzie, Q. Fu, E.H.H. Wong, J. Xu, Z. An, S. Shanmugam, T.P. Davis, C. Boyer, G.G. Qiao, Star polymers, *Chemical Reviews* 116(12) (2016) 6743-6836.
- [110] S. Gabriel, Zur Kenntniss des Bromäthylamins, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* 22(1) (1889) 1139-1154.
- [111] D.A. Tomalia, D.P. Sheetz, Homopolymerization of 2-alkyl- and 2-aryl-2-oxazolines, *Journal of Polymer Science Part A-1: Polymer Chemistry* 4(9) (1966) 2253-2265.

- [112] W. Seeliger, E. Aufderhaar, W. Diepers, R. Feinauer, R. Nehring, W. Thier, H. Hellmann, Recent syntheses and reactions of cyclic imidic esters, *Angewandte Chemie International Edition in English* 5(10) (1966) 875-888.
- [113] T. Kagiya, S. Narisawa, T. Maeda, K. Fukui, Ring-opening polymerization of 2-substituted 2-oxazolines, *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Letters* 4(7) (1966) 441-445.
- [114] T.G. Bassiri, A. Levy, M. Litt, Polymerization of cyclic imino ethers. I. Oxazolines, *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Letters* 5(9) (1967) 871-879.
- [115] A. Levy, M. Litt, Polymerization of cyclic iminoethers. III. Effect of ring substituents, *Journal of Polymer Science Part A-1: Polymer Chemistry* 6(1) (1968) 57-62.
- [116] R. Luxenhofer, G. Sahay, A. Schulz, D. Alakhova, T.K. Bronich, R. Jordan, A.V. Kabanov, Structure-property relationship in cytotoxicity and cell uptake of poly(2-oxazoline) amphiphiles, *Journal of Controlled Release* 153(1) (2011) 73-82.
- [117] E. Rossegger, V. Schenk, F. Wiesbrock, Design strategies for functionalized poly(2-oxazoline)s and derived materials, *Polymers* 5(3) (2013) 956-1011.
- [118] S. Kobayashi, Ethylenimine polymers, *Progress in Polymer Science* 15(5) (1990) 751-823.
- [119] K. Aoi, M. Okada, Polymerization of oxazolines, *Progress in Polymer Science* 21(1) (1996) 151-208.
- [120] M. Litt, A. Levy, J. Herz, Polymerization of Cyclic Imino Ethers. X. Kinetics, chain transfer, and repolymerization, *Journal of Macromolecular Science: Part A - Chemistry* 9(5) (1975) 703-727.
- [121] S. Huber, R. Jordan, Modulation of the lower critical solution temperature of 2-Alkyl-2-oxazoline copolymers, *Colloid and Polymer Science* 286(4) (2008) 395-402.
- [122] J.S.H. Krzysztof Matyjaszewski, Cationic ring opening polymerization of oxazolines initiated by trimethylsilyl derivatives, *Technical Report* 31 (1992).
- [123] T. Kagiya, T. Matsuda, Polymerization of 2-oxazolines. I. Cationic polymerization of 2-phenyl-2-oxazoline Initiated by various oxazolinium salts of monomer with Brønsted acids, *Journal of Macromolecular Science: Part A - Chemistry* 5(8) (1971) 1265-1285.
- [124] R. Hoogenboom, R.M. Paulus, M.W.M. Fijten, U.S. Schubert, Concentration effects in the cationic ring-opening polymerization of 2-ethyl-2-oxazoline in *N,N*-dimethylacetamide, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* 43(7) (2005) 1487-1497.
- [125] T. Saegusa, H. Ikeda, Isomerization polymerization of 2-o. VI. Kinetic study on the polymerization of 2-methyl-2-oxazoline initiated by methyl iodide, *Macromolecules* 6(6) (1973) 808-811.

- [126] A. Dworak, R.C. Schulz, Star polymers and block copolymers of 2-oxazolines using chloroformates as initiators, *Die Makromolekulare Chemie* 192(2) (1991) 437-445.
- [127] A. Levy, M. Litt, Polymerization of cyclic iminoethers. V. 1,3-oxazolines with hydroxy-, acetoxy-, and carboxymethyl-alkyl groups in the 2 position and their polymers, *Journal of Polymer Science Part A-1: Polymer Chemistry* 6(7) (1968) 1883-1894.
- [128] A. Levy, M. Litt, Polymerization of cyclic iminoethers. IV. Oxazoline polymerization in solvents containing different functional groups, *Journal of Polymer Science Part A-1: Polymer Chemistry* 6(1) (1968) 63-72.
- [129] J.-S. Park, K. Kataoka, Precise control of lower critical solution temperature of thermosensitive poly(2-isopropyl-2-oxazoline) via gradient copolymerization with 2-ethyl-2-oxazoline as a hydrophilic comonomer, *Macromolecules* 39(19) (2006) 6622-6630.
- [130] V.R. de la Rosa, S. Tempelaar, P. Dubois, R. Hoogenboom, L. Mespouille, Poly(2-ethyl-2-oxazoline)-block-polycarbonate block copolymers: from improved end-group control in poly(2-oxazoline)s to chain extension with aliphatic polycarbonate through a fully metal-free ring-opening polymerisation process, *Polymer Chemistry* 7(8) (2016) 1559-1568.
- [131] C. Weber, R.C. Becer, A. Baumgaertel, R. Hoogenboom, U.S. Schubert, Preparation of methacrylate end-functionalized poly(2-ethyl-2-oxazoline) macromonomers, *Designed Monomers and Polymers* 12(2) (2009) 149-165.
- [132] P.H.M. Van Steenberge, B. Verbraeken, M.-F. Reyniers, R. Hoogenboom, D.R. D'hooge, Model-based visualization and understanding of monomer sequence formation in gradient copoly(2-oxazoline)s on the basis of 2-methyl-2-oxazoline and 2-phenyl-2-oxazoline, *Macromolecules* 48(21) (2015) 7765-7773.
- [133] R. Obeid, E. Maltseva, A.F. Thünemann, F. Tanaka, F.M. Winnik, Temperature response of self-assembled micelles of telechelic hydrophobically modified poly(2-alkyl-2-oxazoline)s in water, *Macromolecules* 42(6) (2009) 2204-2214.
- [134] S. Huber, N. Hutter, R. Jordan, Effect of end group polarity upon the lower critical solution temperature of poly(2-isopropyl-2-oxazoline), *Colloid and Polymer Science* 286(14) (2008) 1653-1661.
- [135] Y. Jung, J.-H. Kim, W.-D. Jang, Linear and cyclic poly(2-isopropyl-2-oxazoline)s for fine control of thermoresponsiveness, *European Polymer Journal*.
- [136] M.A. Cortez, W.T. Godbey, Y. Fang, M.E. Payne, B.J. Cafferty, K.A. Kosakowska, S.M. Grayson, The Synthesis of cyclic poly(ethylene imine) and exact linear analogues: an evaluation of gene

delivery comparing polymer architectures, *Journal of the American Chemical Society* 137(20) (2015) 6541-6549.

[137] N. Morimoto, R. Obeid, S. Yamane, F.M. Winnik, K. Akiyoshi, Composite nanomaterials by self-assembly and controlled crystallization of poly(2-isopropyl-2-oxazoline)-grafted polysaccharides, *Soft Matter* 5(8) (2009) 1597-1600.

[138] M.M. Bloksma, C. Weber, I.Y. Perevyazko, A. Kuse, A. Baumgärtel, A. Vollrath, R. Hoogenboom, U.S. Schubert, Poly(2-cyclopropyl-2-oxazoline): from rate acceleration by cyclopropyl to thermoresponsive properties, *Macromolecules* 44(11) (2011) 4057-4064.

[139] M.M. Bloksma, D.J. Bakker, C. Weber, R. Hoogenboom, U.S. Schubert, The effect of Hofmeister salts on the LCST transition of poly(2-oxazoline)s with varying hydrophilicity, *Macromolecular Rapid Communications* 31(8) (2010) 724-728.

[140] N. Zhang, S. Huber, A. Schulz, R. Luxenhofer, R. Jordan, Cylindrical molecular brushes of poly(2-oxazoline)s from 2-isopropenyl-2-oxazoline, *Macromolecules* 42(6) (2009) 2215-2221.

[141] T.K. Bera, S. Sivaram, 2-Perbromomethyl-2-oxazoline: a novel trifunctional initiator for the ring-opening polymerization of 2-methyl-2-oxazoline, *Macromolecular Chemistry and Physics* 196(5) (1995) 1515-1522.

[142] J.Y. Chang, H.J. Ji, M.J. Han, S.B. Rhee, S. Cheong, M. Yoon, Preparation of star-branched polymers with cyclotriphosphazene cores, *Macromolecules* 27(6) (1994) 1376-1380.

[143] Y. Chujo, K. Sada, T. Kawasaki, T. Saegusa, Synthesis of non-ionic hydrogel from star-shaped polyoxazoline, *Polym J* 24(11) (1992) 1301-1306.

[144] J. Jeerupan, T. Ogoshi, S. Hiramitsu, K. Umeda, T. Nemoto, G.-I. Konishi, T.-A. Yamagishi, Y. Nakamoto, Star-shaped poly(2-methyl-2-oxazoline) using by reactive bromoethyl group modified calix[4]resorcinarene as a macrocyclic initiator, *Polymer Bulletin* 59(6) (2007) 731-737.

[145] T. Ogoshi, S. Hiramitsu, T.-a. Yamagishi, Y. Nakamoto, Columnar stacks of star- and tadpole-shaped polyoxazolines having triphenylene moiety and their applications for synthesis of wire-assembled gold nanoparticles, *Macromolecules* 42(8) (2009) 3042-3047.

[146] K.-M. Kim, Y. Ouchi, Y. Chujo, Synthesis of organic-inorganic star-shaped polyoxazolines using octafunctional silsesquioxane as an initiator, *Polymer Bulletin* 49(5) (2003) 341-348.

[147] G. Pereira, C. Huin, S. Morariu, V. Bennevault-Celton, P. Guégan, Synthesis of poly(2-methyl-2-oxazoline) star polymers with a β -cyclodextrin core, *Australian Journal of Chemistry* 65(8) (2012) 1145-1155.

- [148] J. Shen, S. Zheng, Comparative studies on miscibility and phase behavior of linear and star poly(2-methyl-2-oxazoline) blends with poly(vinylidene fluoride), *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* 44(6) (2006) 942-952.
- [149] C. Zhang, S. Liu, L. Tan, H. Zhu, Y. Wang, Star-shaped poly(2-methyl-2-oxazoline)-based films: rapid preparation and effects of polymer architecture on antifouling properties, *Journal of Materials Chemistry B* 3(27) (2015) 5615-5628.
- [150] N.t. Brummelhuis, H. Schlaad, Stimuli-responsive star polymers through thiol-yne core functionalization/crosslinking of block copolymer micelles, *Polymer Chemistry* 2(5) (2011) 1180-1184.
- [151] R. Hoogenboom, M.W.M. Fijten, G. Kickelbick, U.S. Schubert, Synthesis and crystal structures of multifunctional tosylates as basis for star-shaped poly(2-ethyl-2-oxazoline)s, *Beilstein Journal of Organic Chemistry* 6 (2010) 773-783.
- [152] M.W.M. Fijten, C. Haensch, B.M. van Lankvelt, R. Hoogenboom, U.S. Schubert, Clickable poly(2-oxazoline)s as versatile building blocks, *Macromolecular Chemistry and Physics* 209(18) (2008) 1887-1895.
- [153] T. Rudolph, S. Crotty, M. von der Lühe, D. Pretzel, U. Schubert, F. Schacher, Synthesis and solution properties of double hydrophilic poly(ethylene oxide)-block-poly(2-ethyl-2-oxazoline) (PEO-b-PEtOx) star block copolymers, *Polymers* 5(3) (2013) 1081.
- [154] S. Kobayashi, H. Uyama, Y. Narita, J. Ishiyama, Novel multifunctional initiators for polymerization of 2-oxazolines, *Macromolecules* 25(12) (1992) 3232-3236.
- [155] R.-H. Jin, Colloidal crystalline polymer generated in situ from growing star poly(oxazolines), *Journal of Materials Chemistry* 13(4) (2003) 672-675.
- [156] R.-H. Jin, Water soluble star block poly(oxazoline) with porphyrin label: a unique emulsion and its shape direction, *Journal of Materials Chemistry* 14(3) (2004) 320-327.
- [157] R.-H. Jin, K.-I. Motoyoshi, Porphyrin-centered water-soluble star-shaped polymers: poly(*N*-acetylenimine) and poly(ethylenimine) arms, *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines* 03(01) (1999) 60-64.
- [158] A.P. Filippov, A.I. Amirova, M.M. Dudkina, A.V. Tenkovtsev, Thermoresponsive star-shaped poly(2-isopropyl-2-oxazoline) in aqueous solution, *International Journal of Polymer Analysis and Characterization* 18(8) (2013) 567-577.

- [159] A.I. Amirova, M.M. Dudkina, A.V. Tenkovtsev, A.P. Filippov, Self-assembly of star-shaped poly(2-isopropyl-2-oxazoline) in aqueous solutions, *Colloid and Polymer Science* 293(1) (2014) 239-248.
- [160] A.P. Filippov, A.I. Amirova, M.N. Nikolaeva, M.M. Dudkina, A.V. Tenkovtsev, Deuterium isotope effect on solution behavior of thermoresponsive star-shaped poly(2-isopropyl-2-oxazoline), *International Journal of Polymer Analysis and Characterization* 19(8) (2014) 721-730.
- [161] A.I. Amirova, O.V. Golub, T.U. Kirila, A.B. Razina, A.V. Tenkovtsev, A.P. Filippov, Influence of arm length and number on star-shaped poly(2-isopropyl-2-oxazoline) aggregation in aqueous solutions near cloud point, *Soft Materials* 14(1) (2016) 15-26.
- [162] A.V. Tenkovtsev, A.E. Trofimov, L.I. Shcherbinskaya, Thermoresponsive star-shaped poly(2-isopropyl-2-oxazolines) based on octa-tert-butylcalix[8]arene, *Polymer Science Series B* 54(3) (2012) 142-148.
- [163] M.P. Kurlykin, A.E. Bursian, M.M. Dudkina, A.V. Tenkovtsev, Synthesis of star-shaped polymers based on 2-alkyl-2-oxazoline with a calix[8]arene central core and the study of their heat-sensitive properties, *Fibre Chemistry* 47(4) (2016) 291-297.
- [164] P. Ball, Water as an active constituent in cell biology, *Chemical Reviews* 108(1) (2008) 74-108.
- [165] Z.S. Nickolov, J.D. Miller, Water structure in aqueous solutions of alkali halide salts: FTIR spectroscopy of the OD stretching band, *Journal of Colloid and Interface Science* 287(2) (2005) 572-580.
- [166] B. Jean, Un polymère thermosensible à l'interface eau-air : interaction avec les tensioactifs et stabilisation de films minces, Université Paris VI, Paris 2000, pp. 9-18.
- [167] M.H. Takeshi Mori, Toru Kobayashi, Hirokazu Okamura, Keiji Minagawa, Seizo Masuda, Masami Tanaka,, Effect of alkyl substituents structures and added ions on the phase transition of polymers and gels prepared from methyl 2-alkylamidoacrylates, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* 43(20) (2005) 4942-4952.
- [168] S. Hocine, M.-H. Li, Thermoresponsive self-assembled polymer colloids in water, *Soft Matter* 9(25) (2013) 5839-5861.
- [169] R. Luxenhofer, A. Schulz, C. Roques, S. Li, T.K. Bronich, E.V. Batrakova, R. Jordan, A.V. Kabanov, Doubly amphiphilic poly(2-oxazoline)s as high-capacity delivery systems for hydrophobic drugs, *Biomaterials* 31(18) (2010) 4972-4979.

- [170] V. Chtryt, K. Ulbrich, Conjugate of doxorubicin with a thermosensitive polymer drug carrier, *Journal of Bioactive and Compatible Polymers* 16(6) (2001) 427-440.
- [171] V. Aseyev, H. Tenhu, F.M. Winnik, Non-ionic thermoresponsive polymers in water, in: H.E.A. Müller, O. Borisov (Eds.), *Self organized nanostructures of amphiphilic block copolymers II*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2011, pp. 29-89.
- [172] A. Halperin, M. Kröger, F.M. Winnik, Poly(*N*-isopropylacrylamide) phase diagrams: fifty years of research, *Angewandte Chemie International Edition* 54(51) (2015) 15342-15367.
- [173] P. Kujawa, F. Segui, S. Shaban, C. Diab, Y. Okada, F. Tanaka, F.M. Winnik, Impact of end-group association and main-chain hydration on the thermosensitive properties of hydrophobically modified telechelic poly(*N*-isopropylacrylamides) in water, *Macromolecules* 39(1) (2006) 341-348.
- [174] X. Qiu, T. Koga, F. Tanaka, F.M. Winnik, New insights into the effects of molecular weight and end group on the temperature-induced phase transition of poly(*N*-isopropylacrylamide) in water, *Science China Chemistry* 56(1) (2013) 56-64.
- [175] C. Diab, Y. Akiyama, K. Kataoka, F.M. Winnik, Microcalorimetric study of the temperature-induced phase separation in aqueous solutions of poly(2-isopropyl-2-oxazolines), *Macromolecules* 37(7) (2004) 2556-2562.
- [176] R. Takahashi, T. Sato, K. Terao, X.-P. Qiu, F.M. Winnik, Self-association of a thermosensitive poly(alkyl-2-oxazoline) block copolymer in aqueous solution, *Macromolecules* 45(15) (2012) 6111-6119.
- [177] Y. Xia, X. Yin, N.A.D. Burke, H.D.H. Stöver, Thermal response of narrow-disperse poly(*N*-isopropylacrylamide) prepared by atom transfer radical polymerization, *Macromolecules* 38(14) (2005) 5937-5943.
- [178] Y. Xia, N.A.D. Burke, H.D.H. Stöver, End group effect on the thermal response of narrow-disperse poly(*N*-isopropylacrylamide) prepared by atom transfer radical polymerization, *Macromolecules* 39(6) (2006) 2275-2283.
- [179] J.-S. Park, Y. Akiyama, F.M. Winnik, K. Kataoka, Versatile synthesis of end-functionalized thermosensitive poly(2-isopropyl-2-oxazolines), *Macromolecules* 37(18) (2004) 6786-6792.
- [180] R. Hoogenboom, H.M.L. Thijs, M.J.H.C. Jochems, B.M. van Lankvelt, M.W.M. Fijten, U.S. Schubert, Tuning the LCST of poly(2-oxazoline)s by varying composition and molecular weight: alternatives to poly(*N*-isopropylacrylamide)?, *Chemical Communications* (44) (2008) 5758-5760.

- [181] R. Obeid, F. Tanaka, F.M. Winnik, Heat-induced phase transition and crystallization of hydrophobically end-capped poly(2-isopropyl-2-oxazoline)s in water, *Macromolecules* 42(15) (2009) 5818-5828.
- [182] C. Weber, C.R. Becer, R. Hoogenboom, U.S. Schubert, Lower critical solution temperature behavior of comb and graft shaped poly[oligo(2-ethyl-2-oxazoline)methacrylate]s, *Macromolecules* 42(8) (2009) 2965-2971.
- [183] X.-P. Qiu, F. Tanaka, F.M. Winnik, Temperature-induced phase transition of well-defined cyclic poly(*N*-isopropylacrylamide)s in aqueous solution, *Macromolecules* 40(20) (2007) 7069-7071.
- [184] Y. Zhang, S. Furyk, D.E. Bergbreiter, P.S. Cremer, Specific ion effects on the water solubility of macromolecules: PNIPAM and the hofmeister series, *Journal of the American Chemical Society* 127(41) (2005) 14505-14510.
- [185] T. López-León, M.J. Santander-Ortega, J.L. Ortega-Vinuesa, D. Bastos-González, Hofmeister effects in colloidal systems: influence of the surface nature, *The Journal of Physical Chemistry C* 112(41) (2008) 16060-16069.
- [186] K.D. Collins, G.W. Neilson, J.E. Enderby, Ions in water: Characterizing the forces that control chemical processes and biological structure, *Biophysical Chemistry* 128(2-3) (2007) 95-104.
- [187] K. Suwa, K. Yamamoto, M. Akashi, K. Takano, N. Tanaka, S. Kunugi, Effects of salt on the temperature and pressure responsive properties of poly(*N*-vinylisobutyramide) aqueous solutions, *Colloid and Polymer Science* 276(6) (1998) 529-533.
- [188] M. Litt, F. Rahl, L.G. Roldan, Polymerization of cyclic imino ethers. VI. X-ray study of some polyaziridines, *Journal of Polymer Science Part A-2: Polymer Physics* 7(3) (1969) 463-473.
- [189] M. Meyer, M. Antonietti, H. Schlaad, Unexpected thermal characteristics of aqueous solutions of poly(2-isopropyl-2-oxazoline), *Soft Matter* 3(4) (2007) 430-431.
- [190] A.L. Demirel, M. Meyer, H. Schlaad, Formation of polyamide nanofibers by directional crystallization in aqueous Solution, *Angewandte Chemie International Edition* 46(45) (2007) 8622-8624.
- [191] C. Diehl, P. Cernoch, I. Zenke, H. Runge, R. Pitschke, J. Hartmann, B. Tiersch, H. Schlaad, Mechanistic study of the phase separation/crystallization process of poly(2-isopropyl-2-oxazoline) in hot water, *Soft Matter* 6(16) (2010) 3784-3788.
- [192] Y. Katsumoto, A. Tsuchiizu, X. Qiu, F.M. Winnik, Dissecting the mechanism of the heat-induced phase separation and crystallization of poly(2-isopropyl-2-oxazoline) in water through

vibrational spectroscopy and molecular orbital calculations, *Macromolecules* 45(8) (2012) 3531-3541.

[193] N. Oleszko, A. Utrata-Wesołek, W. Wałach, M. Libera, A. Hercog, U. Szeluga, M. Domański, B. Trzebicka, A. Dworak, Crystallization of poly(2-isopropyl-2-oxazoline) in organic solutions, *Macromolecules* 48(6) (2015) 1852-1859.

[194] C. Diehl, H. Schlaad, Polyoxazoline-based crystalline microspheres for carbohydrate-protein recognition, *Chemistry – A European Journal* 15(43) (2009) 11469-11472.

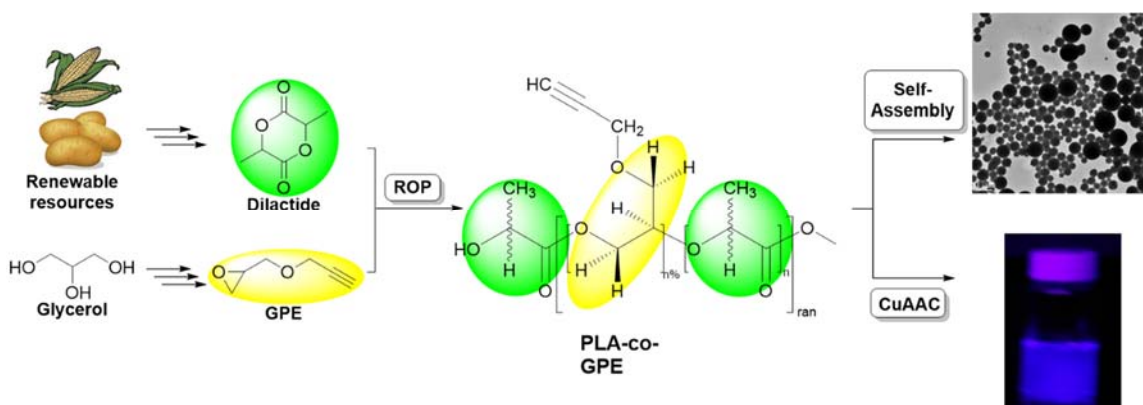
[195] C. Legros, M.-C. De Pauw-Gillet, K.C. Tam, D. Taton, S. Lecommandoux, Crystallisation-driven self-assembly of poly(2-isopropyl-2-oxazoline)-block-poly(2-methyl-2-oxazoline) above the LCST, *Soft Matter* 11(17) (2015) 3354-3359.

[196] T. Rudolph, M.v.d. Lühe, M. Hartlieb, S. Norsic, U.S. Schubert, C. Boisson, F. D'Agosto, F.H. Schacher, Toward anisotropic hybrid materials: directional crystallization of amphiphilic polyoxazoline-based triblock terpolymers, *ACS Nano* 9(10) (2015) 10085-10098.

**CHAPITRE 2: Synthesis and characterization of poly(ester-co-ether)s by
ring opening polymerization of lactones and glycidyl propargyl ether
catalyzed by tin octanoate**

2.1 Abstract

Copolymerization of lactone with glycidyl ether could be a powerful and straightforward technique to synthesize a large array of functionalized polymers for biomedical applications. Copolymerization of lactide (LA) or caprolactone (CL) with different ratios of glycidyl propargyl ether (GPE) was performed in the bulk at 120°C in the presence of Sn(Oct)₂ using methanol as an initiator. Effective copolymerization was evidenced by FTIR, ¹H and COSY NMR analyses. GPC analyses displayed a decrease of molecular weights and a broadening of the dispersity with increasing of the epoxide molar ratio in the feed. ¹H NMR analyses showed that the propargyl content arising from the epoxide did not exceed 50%. Anthracene azide was linked to the copolymers by copper catalyzed alkyne-azide cycloaddition (CuAAC) to assess the feasibility of the post-polymerization modifications. A mechanistic approach was proposed for the copolymerization to account for the influence of the epoxide moiety on the molecular weight of the resulting polymers. Examination of the polymerization data leads to the conclusion that the ring-opening polymerization (ROP) of the two monomers occurred by two different mechanisms. Preliminary toxicity studies showed that the polyester-co-GPE is non-toxic to cells. Nanoparticles were prepared from these copolymers for use as drug delivery systems.



Keywords: Lactones, glycidyl propargyl ether, polyester-co-ether, CuAAC, nanoparticles

2.2 Introduction

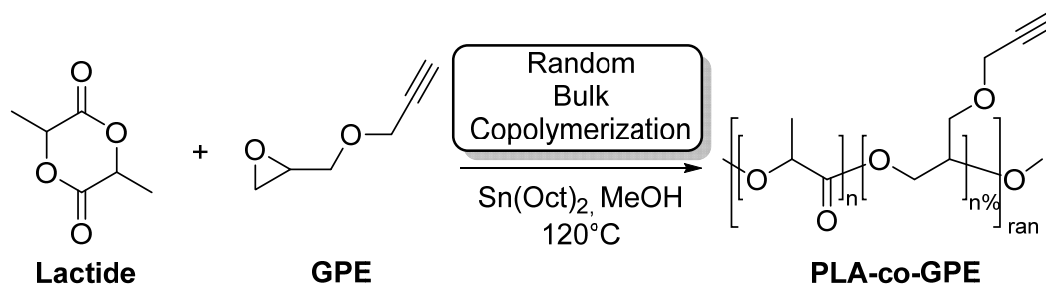
Polyesters such as polycaprolactone (PCL), polylactide (PLA), polyglycolide (PGL), and polylactide-co-glycolide (PLGA), have a broad range of applications due to their biodegradable and biocompatible properties. In the case of PLA, the degradation product, lactic acid, is a metabolite present in all living systems. Polyesters have attracted attention in many fields, such as medical devices, where they are used as stents, suture wires, prostheses, drug containers, or in green chemistry and agriculture, where they are used as biodegradable plastic containers, pesticides controlled released systems and mulch [1-3]. However even though they are very present in the polymer market, their applications are limited due to the lack of functionalities on the polymer backbone. To extend their applications and develop new properties as biomaterial, pendent moieties must be present on the main chain to allow functionalization with active molecules for example for the cancer therapy.

There are two main strategies to functionalize aliphatic polyesters [4]. The first one is based on the formation of enolate by deprotonation of the α acid protons by a non-nucleophilic strong base such as lithium diisopropylamide, followed by the quenching of the resulting carbanion by an electrophile [5-7]. The major side reaction of this approach is the addition of the ester enolate to the polyester backbones which leads to a high dispersity and molecular weights decrease. The second strategy involves the ring opening polymerization of functionalized lactone. Many syntheses of functionalized lactones have been reported with a wide range a functionality such as allyl [8], propargyl [9], ketal [10], acrylate, polyethylene oxide (PEO) [11], hydroxyl [12], halide [4], and amino acid derivatives [13]. However, the chemistry involved in the synthesis of the functional monomers is complex and tedious, and they may not be compatible with the polymerization conditions, hinder the ROP or lead to a decrease of polymer chain length.

Our approach to functionalize aliphatic polyesters is to copolymerize lactone monomers with glycidyl ethers. In the literature, there are only few articles devoted to the copolymerization of lactone and epoxide with various catalysts, such as tin 2-ethylhexanoate $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ [14-20], N-heterocyclic carbenes [21], aluminium based catalyst [22] and $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ [23].

Copolymerizations of lactones and epoxides have been carried out previously within our group with glycolide, caprolactone (CL) and lactide as lactone monomers with allyl glycidyl ether and benzyl glycidyl ether as epoxide monomers [16, 17]. The glycidyl pendant group, for copolymers containing the allyl moieties, has been modified to an alcohol function then to a

carboxylic acid first by hydroboration followed by a Jones oxidation. Unfortunately, these post-polymerization modifications reduce the chains size [16]. In order to avoid these side -reactions, we decided to carry out the copolymerization of lactones with glycidyl propargyl ether (scheme 2.1).



Scheme 2. 1. Random copolymerization between rac-lactide and GPE catalyzed by $\text{Sn}(\text{Oct})_2$

The propargyl group can be further modified by copper-catalyzed alkyne azide cycloaddition (CuAAC), a method that is compatible with a wide variety of functional groups [24]. The CuAAC strategy will allow us to graft a broad range of moieties on the pendant groups such as ligands and/or probe for active targeting drug delivery on the polymer backbone... We report here, the synthesis and characterization of a copolymer, its modifications by coupling with anthracene moiety as a probe, and a model molecule. A mechanistic study of the copolymerization was also performed to gain insight into reactions governing in the copolymerization. Nanoparticle preparation and toxicity studies were performed to assess the possible use of this copolymer for biomedical applications, e.g. as drug vehicles.

2.3 Experimental section

2.3.1 Materials and methods

Rac-Lactide (3,6-dimethyl-1,4-dioxane-2,5-dione) 99%, glycidyl propargyl ether 90%, ϵ -caprolactone 99%, tin (II) octanoate, anthracene methanol 97%, anhydrous methanol, copper (I) bromide 99,999%, N,N,N',N'',N''' -pentamethyldiethylenetriamine (PMDETA) 99%, anthracene methanol 98%, and sodium azide 99% were purchased from Sigma-Aldrich Canada. Solvents were purchased from Lab Chem. Toluene was dried over alumina columns. All compounds except rac-Lactide were used as received. Rac-Lactide was recrystallized twice from anhydrous toluene. All glassware was flame-dried prior to polymerization. All polymerizations were performed using standard Schlenk techniques. Dialysis regenerated cellulose membrane (50 kDa MWCO) was purchased from Spectrum Laboratories (USA).

2.3.2 Polymer characterizations

^1H , ^{13}C NMR, and COSY spectra were recorded on a Bruker Avance 400 spectrometer with solution in appropriate deuterated solvents. Chemical shifts were determined using the tetramethylsilane ((Me)₄Si) signal as internal standard for ^1H NMR experiments and the residual solvent resonances for ^{13}C NMR experiments. Assignments of the signals were carried out based on COSY experiments. FTIR-ATR spectra of the samples were obtained by using a Thermo Scientific-Nicolet iS10 FT-IR spectrometer equipped with a smart iTR attachment. Gel permeation chromatography (GPC) was performed on a Waters GPC System equipped with a set of 3 Phenomenex phenogel columns (Phenogel 5u 10⁵A, Phenogel 5u 500A, phenogel 5u 10⁴A) and a Waters 2414 refractive index detector. THF was used as the eluent with a flow rate of 1.0 mL/min at 35°C. The columns were calibrated with a set of 9 polystyrene standards with molecular weights ranging from 2200 to 392000 g/mol.

2.3.3 Preparation of the catalytic complex for synthesis of the polyester-co-ether

In general, the catalytic complex was prepared with a ratio [monomer] / [catalyst] equal to 2 000 and a fixed amount of initiator. Typically, it was prepared by mixing in 15 μL of toluene, under inert atmosphere, tin octanoate (3.55 mg; 8.76 μmol) with 5 μL of anhydrous methanol. The monomer can be either ϵ -caprolactone (CL) or rac-Lactide. The catalytic solution was kept at room temperature for 1 hr prior to either the polymerization or the kinetic measurements.

2.3.4 Kinetic measurements

To a dried round bottom flask, were added rac-Lactide (2.5 g, 17.34 mmol), glycidyl propargyl ether (GPE; 10 mol%, 423 μL ; 3.93 mmol) and the catalytic complex. The reaction flask was purged with argon for 2 min then the mixture was heated at 120°C. Aliquots were withdrawn under argon at hour interval and cooled in a dry ice bath. The conversion degree was calculated via ^1H NMR by integrating (I) of the methyl (CH₃) signal arising from the rac-Lactide and the PLA in the crude material using the following equation:

$$\% \text{ Conversion} = \frac{I_{\text{CH}_3 \text{ PLA}}}{I_{\text{CH}_3 \text{ PLA}} + I_{\text{CH}_3 \text{ Lactide}}} \cdot 100$$

Kinetic measurements were also performed without GPE using the same conditions.

2.3.5 Typical procedure for the synthesis of PLA-co-GPE by copolymerization of dilactide with 5% mol of GPE

In a typical copolymerization, a flame dried flask was charged with rac-Lactide (2 g, 13.8 mmol), azeotropically dried with toluene (10 ml x 3), GPE and the catalytic solution. The amount of GPE was 166 μ L (1.54 mmol), 332 μ L (3.08 mmol), and 665 μ L (6.16 mmol) respectively for 5, 10 and 20 mol% of epoxide relative to the rac-Lactide (LA). The medium was purged three min with argon and it was subsequently warmed to 120°C for 4 hr. The mixture was cooled to room temperature. A golden glassy polymer was obtained. This solid was dissolved in chloroform (20 mL), then precipitated in hexane (100 mL). The precipitation was performed twice. After drying, depending of the sample, either a fluffy off-white powder or a golden gum was obtained. (Mass recovered: 1.4-1.7 g)

2.3.6 Typical procedure for the synthesis of PCL-co-GPE by copolymerization of ϵ -CL with 5 mol% of GPE

In a flame dried flask was added CL (1.94 mL; 17.2 mmol), GPE and the catalytic complex. The medium was incubated at 120 °C for 4 hr. It was cooled to room temperature. The amount of GPE was 104 μ L (0.973 mmol), 210 μ L (1.95 mmol), 420 μ L (3.89 mmol), and 840 μ L (7.79 mmol) respectively for 5, 10, 20 and 40 mol% of epoxide relative to CL. A white opaque solid was obtained. This solid was dissolved by addition of 20 mL of chloroform then precipitated in 100 ml of hexane. This operation was done three times. After drying, a solid residue was obtained. The color of the residue ranged from off white to slightly golden as the GPE concentration in the polymer increased. (Mass recovered: 1.5-1.8 g)

2.3.7 Typical procedure for the anthracene post-polymerization functionalization

All post-polymerization modifications were performed by copper catalyzed alkyne azide cycloaddition (CuAAC) using the following procedure. To a solution of polymer (0.2 g) in degassed THF (4 mL), was added anthracene azide (1.2 eq / estimated propargyl ether content), PMDETA (0.1 eq), and CuBr (0.1 eq). The medium was bubbled with N₂ for 5 min. It was allowed to react at 40 °C for 24 hr. The resulting polymers were purified by double precipitation in hexane. (Mass recovered: 0.15-0.18 g)

2.3.8 Nanoparticles preparation.

Nanoparticles were prepared by nanoprecipitation. Polymers were dissolved in acetone at a 2% (w/w) concentration and the organic phase was filtered on a 0.45 μ m PTFE syringe filter

(Fisher Scientific, ON Canada). The organic phase was injected at a 1 ml/min rate into an aqueous phase (1:5 organic/aqueous phase ratio) under stirring (600 rpm). The resulting nanosuspensions were subjected to extensive dialysis for 72 hours against distilled water (water was changed every 12 hours) with a 12-14 kDa MWCO regenerated cellulose dialysis tubes (Spectrum Laboratories, USA). The nanosuspensions were kept at 4°C until further use.

2.3.9 NP characterizations

The NPs sizes (hydrodynamic diameter) were determined in MilliQ water by photon correlation spectroscopy (PCS) on a Malvern Zetasizer (Malvern, Worchester, UK) in triplicate and averaged. NPs (0.3 mg) were suspended in 1 mL of PBS 0.1X pH 7.4 (about 15 mM NaCl) to measure the ζ potential on a Malvern Zetasizer (Malvern, Worchester, UK) in triplicate. TEM procedures were performed according to a reported procedure by Rabanel et al.[17] NPs suspension was deposited on a carbon film 400 square mesh copper grids (Electron Microscopy Sciences, Hatfield, PA USA). TEM image acquisitions were conducted with a JEM-2100F, Field Emission electron microscope (Jeol Ltd, Tokyo, Japan) equipped with a sample holder cooled by liquid nitrogen (Gatan inc. Warrendale, Pittsburg, PA, USA). The grids were maintained at -170°C throughout the acquisition. The acceleration voltage was set at 200 kV.

2.3.10 In vitro toxicity studies

RAW 262.7 murine macrophage cell lines (American Type Culture Collection, Rockville, USA) were cultured in Dupleco Minimum Medium supplemented with 10% Fetal Bovine Serum and Penicillin/Streptomycin (Life Technologie, USA). The cells were grown in tissue culture flasks and incubated at 37°C in a 5% carbon dioxide atmosphere. Cells were harvested by scrapping and seeded in 96 wells flat bottomed microplate (Corning, NY, USA) at a density of 5×10^4 cells/well. The polymers were dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO) and serially diluted in sterile PBS pH 7.4. The amounts tested were: 250 μ g; 100 μ g; 10 μ g; 1 μ g; 0,1 μ g and 0,01 μ g. Polymers were deposited after cells were allowed to attach for 3 hours. The plates were incubated for 24 hours after which cell proliferation was assessed with MTT assay. Medium was removed and cell monolayer was washed with sterile PBS (100 μ L) and 100 μ L fresh complete medium was added having Thiazolyl blue tetrazolium bromide (Sigma, St-Louis, MO, USA) dissolved at a concentration of 5 mg/mL. After 4 hours of incubation at 37 °C in a 5% carbon dioxide atmosphere, 50 μ L of a solution (Isopropanol, 10% Triton 100X, 0,1 N HCl) was added to each well to dissolve the dark blue formazan crystals, overnight at room temperature. Microplates were read at a 570 nm

wavelength on a microplate reader (SAFIRE, Tecan, Austria). Results were plotted in reference to a blank experiment with only vehicle (DMSO/PBS) in contact with the cells. Lactate Dehydrogenase (LDH) presence in the supernatant obtained from proliferation assays was used as an indicator of cell lysis and death and determined using a commercial dosing kit (Sigma, St-Louis, MO, USA) used as directed by the manufacturer. Microplates were read on a microplate reader (SAFIRE, Tecan, Austria) reader, at the wavelength of 450 nm (reference wavelength at 690 nm). Results are plotted in reference to a positive control wells with 100% lysed cells.

2.4 Results and discussion

2.4.1 Synthesis of the PLA-co-GPE

A key parameter in copolymerization is the reaction time. In order to set the optimal reaction time for all polymerizations, kinetic studies were performed with lactide in the absence and in the presence of 10 mol % of GPE (Fig. 2.1). The monomer conversion versus time was monitored following the Lactide/ PLA transformation. The aim was to determine the monomer conversion/ time linear interval. Establishing this is crucial in order to avoid backbiting and the transesterification reactions. These side-reactions occur at high degree of conversion and tend to broaden the molecular weight distribution [25]. Both kinetic plots display the same profile (Fig. 2.1). These results indicate that the epoxide does not hinder ROP of the lactide. A period of 4 hrs was set as the optimal copolymerization reaction time.

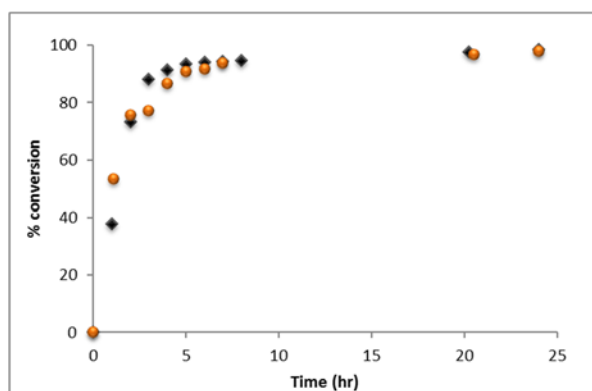


Figure 2. 1 Plot of the time/conversion of ROP of rac-Lactide in the presence (black diamonds) and absence (orange spheres) of GPE.

Following those conditions, a set of copolymers was synthesized by bulk polymerization of lactide with 5, 10 and 20 mol % of GPE at 120 °C. The physical aspect of the recovered polymer differed as the GPE feed ratio increased: from a white fluffy solid (GPE=5%) to a golden viscous

gum (GPE=20%). The polymer structure was confirmed by FT-IR and ^1H NMR analyses. FT-IR analyses confirmed the presence of the propargyl alkyne $\equiv\text{C-H}$ vibration band at 3280 cm^{-1} . The typical spectral pattern of PLA was observed for all copolymers, especially the strong C=O vibrational stretching band at 1750 cm^{-1} (Fig. 2.2).

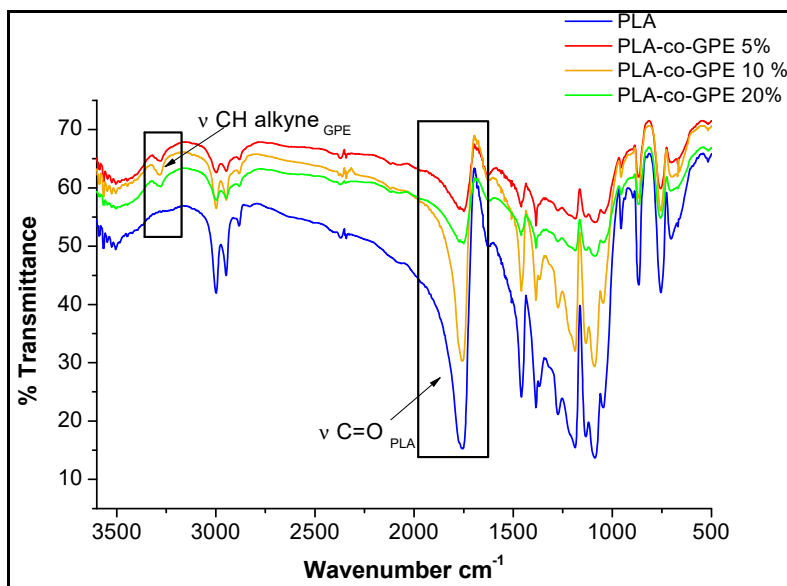


Figure 2. 2 FT-IR spectra of the PLA-co-GPE. The rectangle indicates the position of the $-\text{C}\equiv\text{H}$ and the $-\text{C}=\text{O}$ vibrational stretching bands.

The structure was further elucidated by COSY analysis. Cross correlation peaks were observed between the methyl (CH_3) and the methine (CH) protons of PLA from the polymer backbone (Fig. 2.3 green circle) and the chain ends (Fig. 2.3 blue circle). The broad signal between 3.62-3.82 ppm did not correlate with the methyl and the methine of the PLA. However, a cross correlation peak can be also observed between this signal and the signal at 5.25 ppm, overlapping with the PLA methine proton (Fig. 2.3 black circle). Examination of the overlap ^1H NMR spectra of the PLA, PLA-co-GPE and the GPE (Fig. SI-2.1) shows that the broad signal corresponds to the resonance of methylene protons arising from ROP of the GPE epoxide moiety. As for the proton with a resonance at 5.25 ppm, it corresponded to the glycidyl methine (CH) proton close to an ether bond. A correlation can be also observed between the signal at 4.2 ppm and 2 ppm corresponding to the 4J coupling arising from the methylene (CH_2) and the propargylic ($\equiv\text{CH}$) proton of the GPE (red circle).

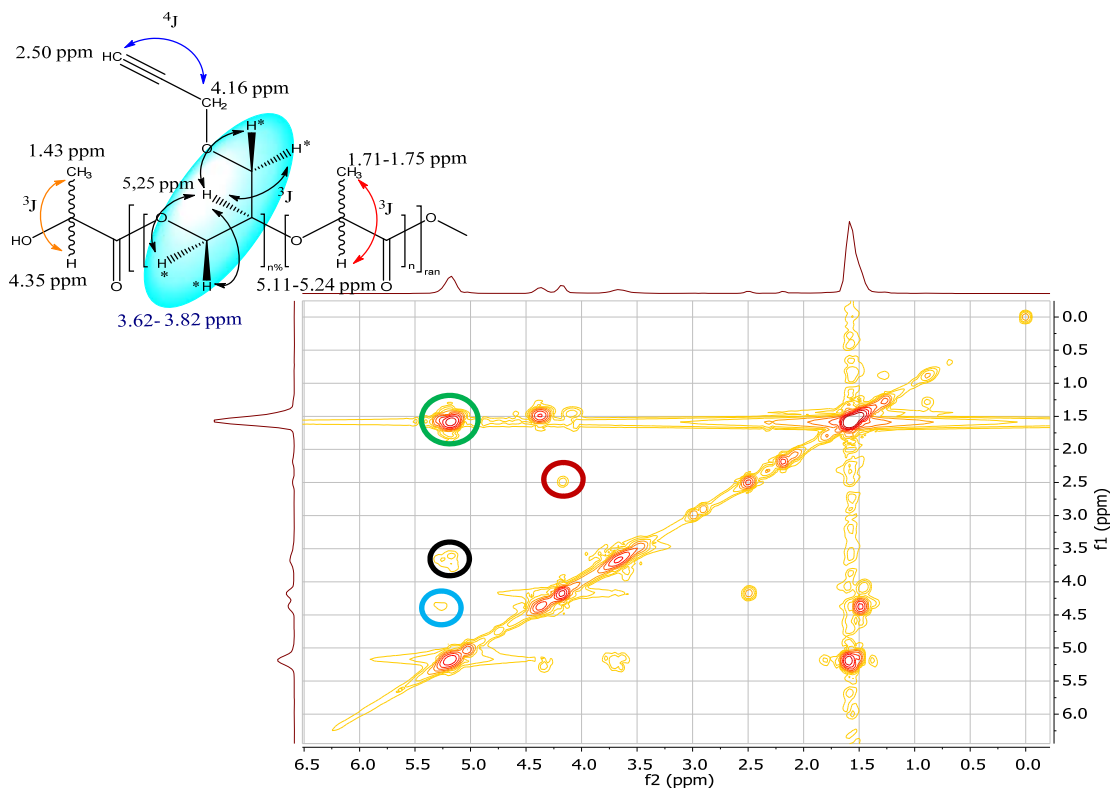


Figure 2. 3 COSY spectrum of PLA-*co*-GPE synthesized with dilactide and 20 mol% of GPE. Signal assignments are indicated on the scheme on the top.

Table 2. 1 Molecular characteristics of polyester-*co*-ether

Entry	Polymers	Mn ^a g/mol	Đ	% mol of GPE from the feed	mol % of GPE detected ^b
1	PLA- <i>co</i> -GPE	6 400	1.8	5%	1%
2	PLA- <i>co</i> -GPE	4 000	1.8	10%	4%
3	PLA- <i>co</i> -GPE	1 700	1.8	20%	9%
4	PCL- <i>co</i> -GPE	13 400	1.7	5%	-
5	PCL- <i>co</i> -GPE	12 100	1.7	10%	4%
6	PCL- <i>co</i> -GPE	8 000	1.6	20%	11%
7	PCL- <i>co</i> -GPE	3 500	2.0	40%	8%

^a Determined by GPC relative to polystyrene

^b Determined by ¹H NMR by integrating the propargylic proton at 2.54 ppm. Percentages are calculated relative to the lactide.

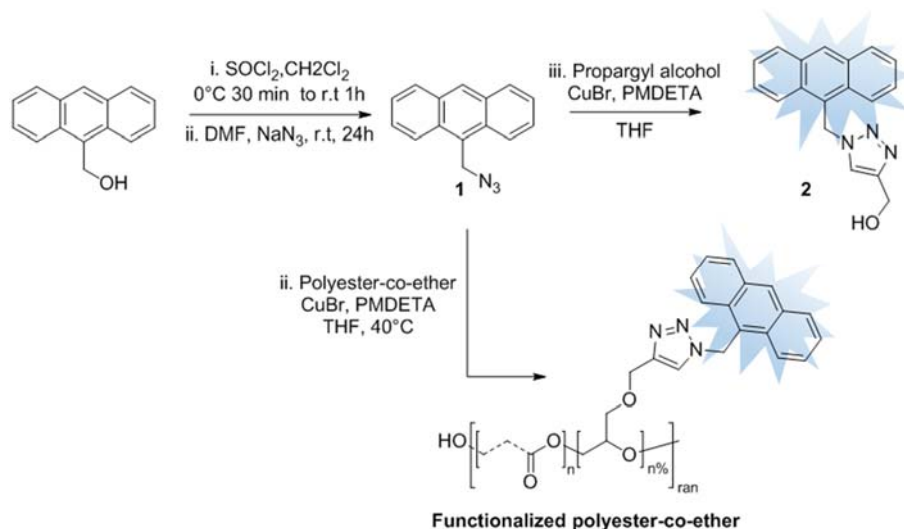
Table 2.1 summarized the molecular weights of the copolymers determined by GPC. The copolymers have a low molecular weight ($1700 \text{ g/mol} < M_n < 6400 \text{ g/mol}$) with a broad molecular weight distribution. Also, the molecular weight of the copolymers decreased with increasing the epoxide feed ratio. Furthermore, the amount of glycidyl ether inserted in the copolymer is about half of the amount from the feed. This molecular weight (MW) low values may indicate that backbiting took place, which can occur for polymerization of PLA in the presence of $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ [25]. Another reason for this low MW values may be caused by the propagating alcohol, which may be sterically hindered after the ROP, by the methyl of the PLA.

To check this point, copolymerizations were performed under the same conditions between CL and different molar ratios of GPE namely 5, 10, 20 and 40%. The resulting copolymers were subjected to the same analysis. As in the case of PLA-co-GPE, the $\text{-C}\equiv\text{H}$ vibrational band at 3280 cm^{-1} and the characteristic vibrational bands of PCL were observed in the spectra FT-IR of all the copolymers synthesized with CL (Fig. SI-2.2). The presence of the GPE within the copolymer chain was also confirmed by ^1H NMR. The signal between 3.62-3.82 ppm cross-correlates with the signal at 5.25 ppm in the COSY spectrum (Fig. SI-2.3). The absence of signals due to CL in this region thus confirms that this signal belongs to the glycidyl methine proton (-CH). The glycidyl molar ratio and the molecular weights values for the set of PCL-co-GPE showed the same trends as in the case of PLA-co-GPE. The MWs decreased as the molar percentage of GPE in the feed increase. Moreover, the percentage of GPE inserted is half of that in the feed. These two last observations were also reported for copolymerization of LA and epoxide [14, 15, 18, 19]. It indicates that the low GPE insertion is not due to some sterical hindrance since the propagating alcohol in the case of the PCL is not crowded. Moreover, it might seem that the percentage of inserted GPE level-off with time even after the polymerization is extended up to 24 hrs. More than 50% of unreacted GPE was detected by ^1H NMR analyses of the supernatant recovered after polymer precipitation (data not shown).

2.4.2 Functionalization of the copolymers

The copolymers were functionalized by the CuAAC method. Anthracene azide was used as a model compound. Xie et al. have shown that this compound is highly fluorescent upon conversion of the azide to the triazole ring [26]. Thanks to this property, anthracene azide is an excellent probe for alkyne screening. Anthracene azide was prepared in two-steps process starting from anthracene methanol (Scheme 2.2) that involves first a chlorination using SOCl_2 . The

chlorine is then substituted to an azide by S_N2 reaction with sodium azide in DMF. The anthracene moiety was coupled to the copolymer by CuAAC in THF at 40°C (Scheme 2.2).



Scheme 2. 2 Functionalization of the polyester-co-ether with anthracene azide. The blue stars denote that the molecules are highly fluorescent after CuAAC.

After purification of the resulting polymers, no free anthracene was detected by ^1H NMR (Fig. SI-2.4). High efficiency of CuAAC between the polymer and the probe was confirmed by ^1H NMR from the absence of the signal of the propargylic proton at 2.5 ppm and the presence of the triazolic proton at 7.10 ppm (Fig. SI-2.4). The MWs determined by GPC (Table 2.2) of all the polymers slightly increased after CuAAC. The exception was for entry 2, which indicated that chain degradation did not occur. The amount of GPE grafted was found to match the GPE content before functionalization with only one exception (Table 2.2 entry 3). This may be due to the fractionation of the short polymer chains during the polymer precipitation. This may contain more glycidyl moieties and explain the decreased MW distribution. Since the coupling of the anthracene azide to an alkyne leads to a fluorogenic product, its presence on the polyester-co-ether was visually assessed under UV irradiation (Fig. 2.4). All the polymers were fluorescent even the polymer in entry 1 where no anthracene could not be detected by ^1H NMR. From these functionalization results and the previous observations, it seems that there are mainly between 15 to 45% of insertion of the GPE within the polyester-co-ether (Fig. SI-2.5). Except the fact that the percentage of GPE inserted differs from the feed, these results emphasized that CuAAC is a promising route for post-polymerization functionalization. Contrary to our previous study with PLA-co-Allyl glycidyl ether [16], this functionalization pathway does not lead to chain reduction.

Table 2. 2 Molecular characteristics of the polymers after CuAAC with anthracene azide

Entry	Polymers	Mn ^a g/mol	Mn ^b g/mol	Đ ^b	Anthracene mol % ^c
1	PCL-co-GPE	13 400	17 700	1,5	-
2	PCL-co-GPE	12 100	10 600	1,4	3%
3	PCL-co-GPE	8 000	10 800	1,3	3%
4	PCL-co-GPE	3 500	4 200	1,9	9%
5	PLA-co-GPE	6 400	7 600	1,6	2%
6	PLA-co-GPE	4 000	6 000	1,6	3%
7	PLA-co-GPE	1 700	2 000	1,5	9%

^a Molecular weight determined by GPC before CuAAC.

^b Molecular weight and dispersity Đ determined by GPC after CuAAC.

^c Determined by ¹H NMR.

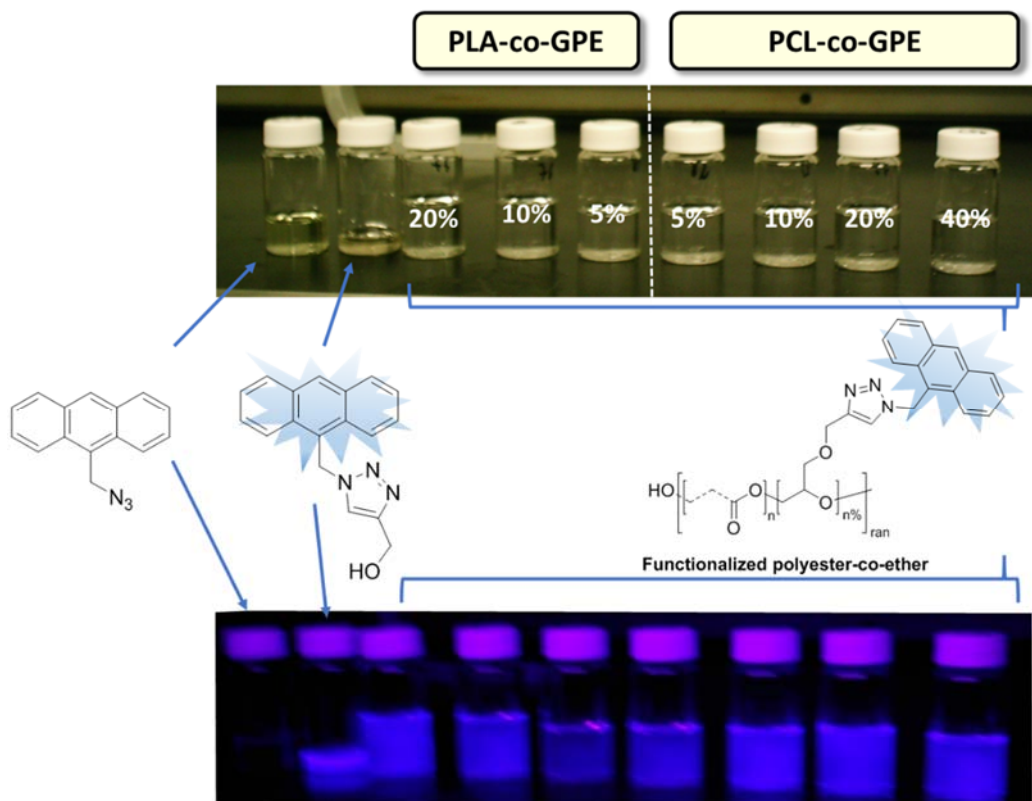


Figure 2. 4. Photograph scheming the propargyl moiety within the copolymer by fluorogenic click chemistry when irradiate in a UV lamp.

2.4.3 Nanoparticles preparation, characterizations and toxicity assay

The potential use of the new copolymers for medical applications, particularly for drug encapsulation and targeting was explored. Next, solid matrix nanoparticles (NP) ranging in diameter from 100 to 150 nm were prepared by nanoprecipitation using solvent displacement method (Table 2.3).

Table 2. 3 Size and the zeta potential of the nanoparticles

Polymers	Diameter** (Z avg nm)	PDI**	Zeta Potential (+/- mV)	SD
PLA-co-GPE 1%	157.9	0.161	-30.5	8.96
PLA-co-GPE 2%	164.9	0.046	-23.6	8.61
PLGA	175.6	0.171	-41.0	11.5

** Determined by DLS measurements

Representative images of these NP acquired by TEM are shown in Fig.5. TEM images show that smooth spherical solid particles suitable for drug delivery and targeting were produced. Preliminary in vitro toxicity studies showed no effects of copolymers (PLA-GPE 1 and 2%) on murine macrophage metabolism (MTT assays) and viability (LDH assay) over a large range of concentrations up to 1 g/L (Fig. 2.6). The copolymer toxicity level is comparable to that of well accepted and FDA approved PLGA polymer. Moreover, microscopic inspection of cells showed no change on cell morphology upon exposure to copolymers (data not shown).

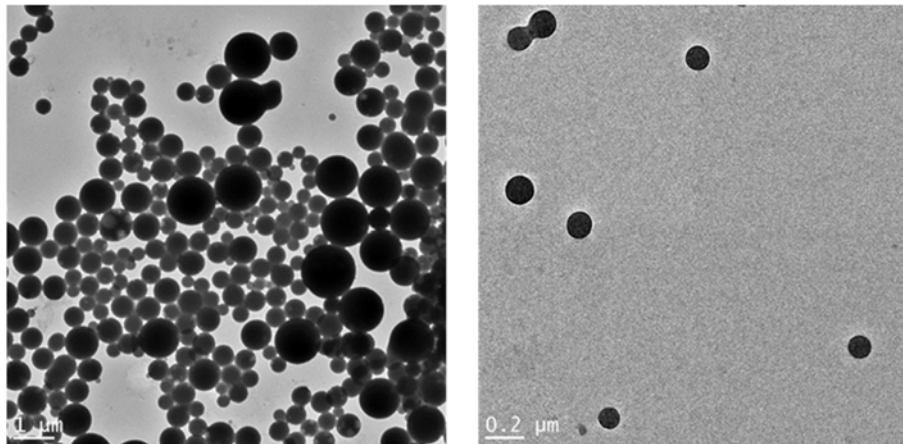


Figure 2. 5. TEM images of the NPs prepared from the PLA-co-GPE by nanoprecipitation.

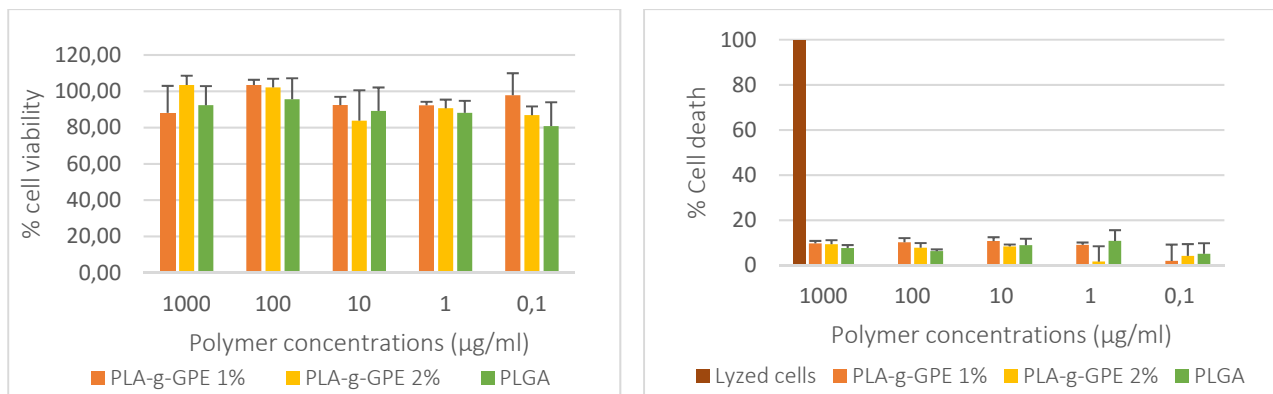
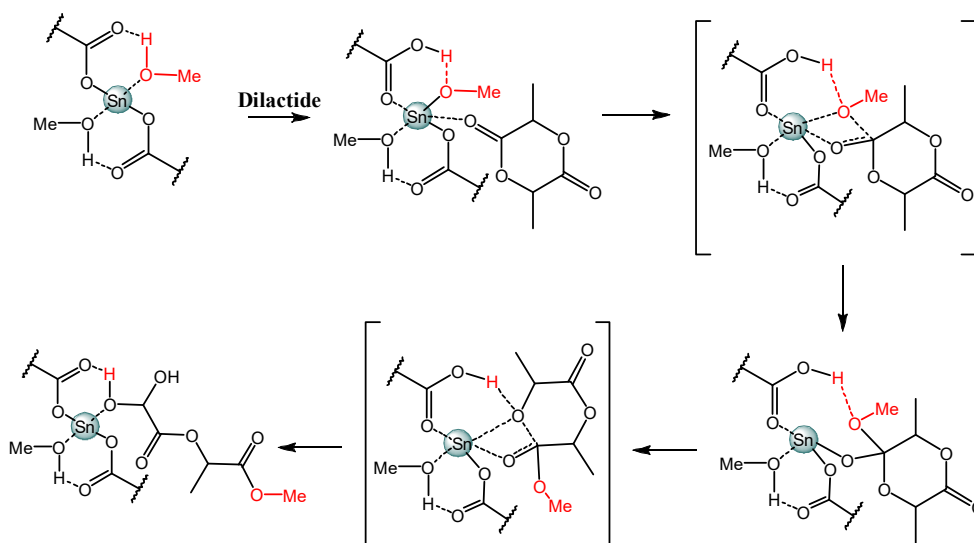


Figure 2. 6 Evaluation of the PLA-co-GPE toxicity on RAW 262.7 murine macrophage cell lines by MTT (on the left) and by LDH (on the right) assays. Experiments have been compared with PLGA

2.4.5 Polymerization mechanistic approach and proposal explanation for the molecular weight decreasing

The data for copolymerization between LA and GPE reported above leave two unsolved issues: “What is the reason of the chain reduction upon increasing of the epoxide ratio in the feed?”; “Why does the percentage of insertion of the epoxide level-off with time?” To answer these questions, it is of prime importance to understand the polymerization mechanism of the lactide and the epoxide in the presence of Lewis acid.

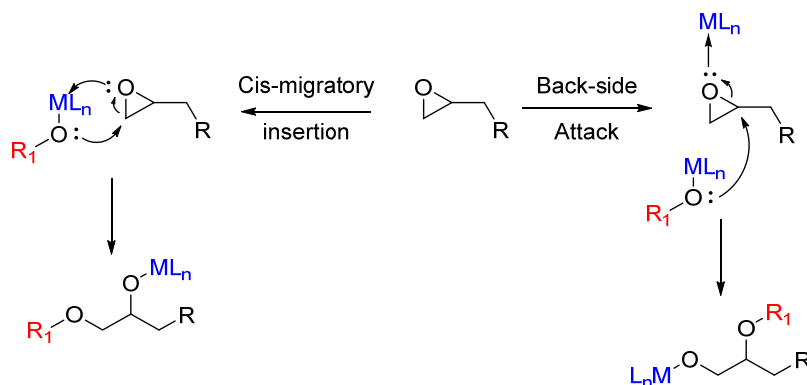
The polymerization of lactide in the presence of tin octanoate has been intensively reviewed [27-30]. It is generally accepted that PLA polymerization occurs via an insertion-coordination mechanism, as depicted in Scheme 2.3.



Scheme 2. 3 ROP of Lactide in the presence $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ according to Ryner et al [28].

In this process, the first step is the complexation of the alcohol to the tin, yielding the alkoxide initiator. Then, the carbonyl oxygen of the lactide coordinates to the Lewis acid metal center. This coordination enhances the electrophilicity of the carbonyl towards a nucleophilic attack by the alkoxide initiator. The alkoxide insertion to the monomer leads to the ring opening of the lactide monomer and formation of a new alkoxide propagating species [28, 30].

Two possible approaches for the ROP of epoxide have been suggested, namely the *cis*-migratory insertion and the back-side attack (Scheme 2.4) [31]. In the *cis*-migratory insertion, only one metal center catalyst is involved in the ROP of the epoxide. The Lewis acid coordinates to the oxygen, which weakens the C-O bond toward a *cis*-nucleophilic attack by the alkoxide inducing ring opening. If the copolymerization occurred by ROP of the lactide and *cis*-migratory insertion of the epoxide, a linear increase of the copolymer MWs would be expected. This is not the case. This non-linearity is not due to the fact that Sn(Oct)₂ is inactive for the ROP of epoxide since it inserts to a certain extent, into the copolymer. Polymerization of GPE was obtained with Sn(Oct)₂ using the same polymerization conditions (data not shown). It is easy to think that there should be incompatibility between the ROP of both monomers due to some sterical hindrances. This statement can be easily discarded by the fact that even for copolymerization between ε-CL and the epoxide, the same result was obtained. Thus, the copolymerization non-linearity is due to different monomer ring-opening mechanisms.

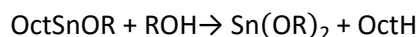
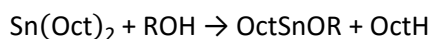


Scheme 2. 4 Two possible approaches for the ring opening of epoxide catalyzed by Lewis acid [31].

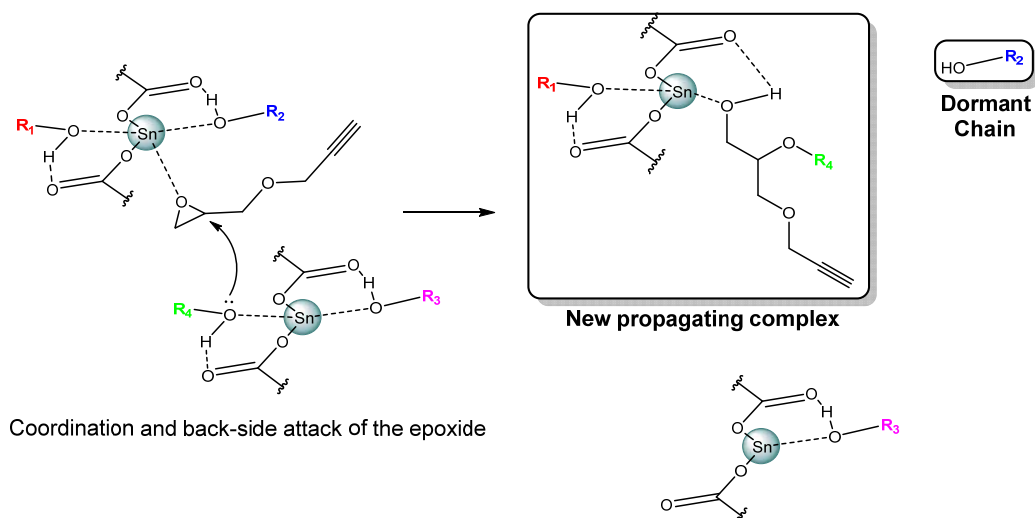
Contrary to this *cis*-migratory insertion, the back-side attack approach requires two metal centers. First, one metal center activates the epoxide oxygen by coordination, promoting the back-side nucleophilic attack on the epoxide by a metal-bound alkoxide initiator or the propagating chain which leads to the ring opening. The back-side attack was observed by Inoue et al. who reported the living-polymerization of propylene oxide with a system composed of two

metal catalysts; the aluminium porphyrin and the methylaluminium bis(2,4,6-tri-*tert*-butylphenolate) [32]. The latter is a bulky Lewis acid. This is important in the reaction since it prevents side reactions. This catalyst activated the epoxide, but it did not induce any chain propagations. Furthermore, the living character of the polymerization is enhanced by 460 folds in the presence of the bulky catalyst. Jacobsen and coll. as well as Coates et al. have also stated that the ROP of epoxide in the presence of Lewis acid occurred by back-side attack [33, 34]. This statement was, in the case of Coates, supported by careful analysis of solid state crystal of (salph^{tBu})CoAc catalyst [34].

This back-side attack approach is seemingly the main route for the ROP of epoxide. Therefore, it is possible to conceive some analogies for the ROP of the GPE in our copolymerization system. Application of this approach to the studied co-polymerization leads to two cases. The first case which can be called “the ideal case” where a growing polymer chain/or an initiator coordinate on the tin metal attacks a Lewis acid activated GPE resulting in its RO (Scheme SI-2.1). The newly propagating chain can then perform ROP of either LA or GPE. This “ideal” case is not representative of the obtained results for this study. If it was the case, the MW of the copolymers will increase in a living fashion as for Inoue study. Contrary to Inoue studies, Sn(Oct)₂ is not a bulky catalyst thus should not be a spectator during the polymerization. Sn(Oct)₂ itself does not induce polymerization, but since it was incubated in methanol prior the polymerization [30], all its coordination sites should be occupied.

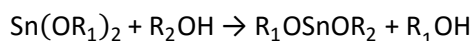


Side reactions must be taken into consideration, which lead to the second case. This case is in fact a chain transfer mechanism. A growing polymer chain/or an initiator coordinates to the tin metal attacks a GPE activated by another tin metal bearing a growing chain/or an initiator (Scheme 2.5) inducing the RO of GPE to the second metal, which simultaneously will lead to departure of either one of its propagating or initiating chains.



Scheme 2. 5 Proposal explaining the molecular weight decrease in the copolymerization using a chain transfer mechanism between two metallic centers.

This leaving chain may become either a dormant chain or induce another chain transfer.



This cooperative mechanism explains why the molecular weight distribution is broad and why the MW decreases with increasing the GPE amount in the feed. It is obvious that the back-side attack requires the constant proximity of the two metallic centers in the reaction medium. Coates and coll. proved that undissolved catalyst is responsible for high activity of the (Salph^{tBu})Cobalt by changing the polymerization solvent from polar to apolar [34]. Following this observation, they developed an efficient biaryl-linked bimetallic cobalt catalyst. The distance between the two metallic centers was 7.13 Å. This enhances the enantioselectivity of the polymerization of propylene oxide by mimicking the back-side attack [35-37]. This observation may also explain why there is insertion during the polymerization and why it levels off in time. At the beginning of the polymerization, the catalyst may be present as a cluster where the metallic centers are in an appropriate distance to enable the polymerization of both GPE and LA. Then it may erode with time as the copolymer grows. This cluster erosion may disfavor the copolymerization of GPE and LA towards a preferential ROP of LA. Besides, this statement was further can be supported by the detection in mass spectroscopy analysis of single PLA chains bearing some tin(II) at its extremity [30]. This bimetallic catalysis and the cluster erosion can explain the observed results.

2.5 Conclusion

The synthesis of poly(ester-co-ether)s has been performed by ROP of lactide and propargyl glycidyl ether. The propargyl glycidyl ether in combination with click chemistry proved to be a valuable route for the post-polymerization functionalization of the resulting polymers. However, some chain reductions were observed in the presence of the epoxide moiety. This was believed to act as a chain transfer reagent, probably due to different polymerization mechanisms. According to the literature, ROP of both monomers occurs by coordination/insertion mechanism. However, unlike the dilactide where the ROP occurs by a monometallic center process, the ROP of the epoxide occurs by a bimetallic catalytic process. The knowledge of the two mechanisms should lead to the design of a new generation of catalytic clusters composed of two or more metal centers. The non-toxicity of the co-polymer prepared, paired with the ease of post-polymerization functionalization, make the poly(ester-co-ether)s promising candidates for active and passive targeting drug delivery applications.

2.6 Acknowledgments

We thank Dr. Vanessa C. Furtado Mosqueira (Federal University of Oro Preto, Brazil) and Dr. Gregoire Leclair (Faculty of Pharmacy of University of Montreal) for their advice. Financial support from the FQRNT is gratefully acknowledged.

2.7 References

- [1] J.C. Middleton, A.J. Tipton, Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices, *Biomaterials* 21(23) (2000) 2335-2346.
- [2] R. Auras, B. Harte, S. Selke, An overview of polylactides as packaging materials, *Macromolecular Bioscience* 4(9) (2004) 835-864.
- [3] B. Liu, Y. Wang, F. Yang, X. Wang, H. Shen, H. Cui, D. Wu, Construction of a controlled-release delivery system for pesticides using biodegradable PLA-based microcapsules, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 144 (2016) 38-45.
- [4] R. Riva, S. Schmeits, C. Jerome, R. Jerome, P. Lecomte, Combination of ring-opening polymerization and "Click Chemistry": Toward functionalization and grafting of poly(ϵ -caprolactone), *Macromolecules* 40(4) (2007) 796-803.

- [5] S. Ponsart, J. Coudane, M. Vert, A novel route to poly(ϵ -caprolactone)-based copolymers via anionic derivatization, *Biomacromolecules* 1(2) (2000) 275-281.
- [6] M.-H. Huang, J. Coudane, S. Li, M. Vert, Methylated and pegylated PLA–PCL–PLA block copolymers via the chemical modification of di-hydroxy PCL combined with the ring opening polymerization of lactide, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* 43(18) (2005) 4196-4205.
- [7] B. Saulnier, S. Ponsart, J. Coudane, H. Garreau, M. Vert, Lactic acid-based functionalized polymers via copolymerization and chemical modification, *Macromolecular Bioscience* 4(3) (2004) 232-237.
- [8] M. Leemhuis, N. Akeroyd, J.A.W. Kruijtzter, C.F. van Nostrum, W.E. Hennink, Synthesis and characterization of allyl functionalized poly(α -hydroxy)acids and their further dihydroxylation and epoxidation, *European Polymer Journal* 44(2) (2008) 308-317.
- [9] X. Jiang, E.B. Vogel, M.R. Smith, G.L. Baker, "Clickable" polyglycolides: Tunable synthons for thermoresponsive, *Degradable Polymers*, *Macromolecules* 41(6) (2008) 1937-1944.
- [10] J. Zou, Y. Yang, Y. Liu, F. Chen, X. Li, Release kinetics and cellular profiles for bFGF-loaded electrospun fibers: Effect of the conjugation density and molecular weight of heparin, *Polymer* 52(15) (2011) 3357-3367.
- [11] X. Jiang, M.R. Smith, G.L. Baker, Water-soluble thermoresponsive polylactides, *Macromolecules* 41(2) (2007) 318-324.
- [12] M. Leemhuis, C.F. van Nostrum, J.A.W. Kruijtzter, Z.Y. Zhong, M.R. ten Breteler, P.J. Dijkstra, J. Feijen, W.E. Hennink, Functionalized poly(α -hydroxy acid)s via ring-opening polymerization: Toward hydrophilic polyesters with pendant hydroxyl groups, *Macromolecules* 39(10) (2006) 3500-3508.
- [13] W.W. Gerhardt, D.E. Noga, K.I. Hardcastle, A.J. Garcia, D.M. Collard, M. Weck, Functional lactide monomers: Methodology and polymerization, *Biomacromolecules* 7(6) (2006) 1735-1742.
- [14] A. Petchsuk, A. Nakayama, S. Aiba, Synthesis and biodegradability of l-lactide/glycidol copolymers, *Polymer Degradation and Stability* 94(10) (2009) 1700-1706.

- [15] A. Petchsuk, W. Submark, P. Opaprakasit, Development of crosslinkable poly(lactic acid-co-glycidyl methacrylate) copolymers and their curing behaviors, *Polymer Journal* 45(4) (2013) 406-412.
- [16] V. Nadeau, G. Leclair, S. Sant, J.-M. Rabanel, R. Quesnel, P. Hildgen, Synthesis of new versatile functionalized polyesters for biomedical applications, *Polymer* 46(25) (2005) 11263-11272.
- [17] J.-M. Rabanel, J. Faivre, S.F. Tehrani, A. Lalloz, P. Hildgen, X. Banquy, Effect of the polymer architecture on the structural and biophysical properties of PEG–PLA nanoparticles, *ACS Applied Materials & Interfaces* 7(19) (2015) 10374-10385.
- [18] N.S. Teske, J. Voigt, V.P. Shastri, Clickable degradable aliphatic polyesters via copolymerization with alkyne epoxy esters: Synthesis and postfunctionalization with organic dyes, *Journal of the American Chemical Society* 136(29) (2014) 10527-10533.
- [19] J.J. Wurth, V.P. Shastri, Synthesis and characterization of functionalized poly(ϵ -caprolactone), *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* 51(16) (2013) 3375-3382.
- [20] L.M. Pitet, S.B. Hait, T.J. Lanyk, D.M. Knauss, Linear and branched architectures from the polymerization of lactide with glycidol, *Macromolecules* 40(7) (2007) 2327-2334.
- [21] R. Lindner, M.L. Lejkowski, S. Lavy, P. Deglmann, K.T. Wiss, S. Zorbakhsh, L. Meyer, M. Limbach, Ring-opening polymerization and copolymerization of propylene oxide catalyzed by *N*-heterocyclic carbenes, *ChemCatChem* 6(2) (2014) 618-625.
- [22] M.H. Chisholm, D. Navarro-Llobet, W.J. Simonsick, A comparative study in the ring-opening polymerization of lactides and propylene oxide, *Macromolecules* 34(26) (2001) 8851-8857.
- [23] M. Basko, M. Bednarek, P. Kubisa, Cationic copolymerization of L,L-lactide with hydroxyl substituted cyclic ethers, *Polymers for Advanced Technologies* 26(7) (2015) 804-813.
- [24] L.G.G. Vsevolod V. Rostovtsev, Valery V. Fokin, K. Barry Sharpless,, A stepwise Huisgen cycloaddition process: Copper(I)-catalyzed regioselective "ligation" of azides and terminal alkynes, *Angewandte Chemie International Edition* 41(14) (2002) 2596-2599.
- [25] K. Masutani, Y. Kimura, Chapter 1 PLA synthesis. From the monomer to the polymer, poly(lactic acid) science and technology: Processing, properties, additives and applications, *The Royal Society of Chemistry* (2015) 1-36.

- [26] F. Xie, K. Sivakumar, Q. Zeng, M.A. Bruckman, B. Hodges, Q. Wang, A fluorogenic 'click' reaction of azidoanthracene derivatives, *Tetrahedron* 64(13) (2008) 2906-2914.
- [27] H.R. Kricheldorf, I. Kreiser-Saunders, C. Boettcher, Poly lactones: 31. Sn(II)octoate-initiated polymerization of L-lactide: a mechanistic study, *Polymer* 36(6) (1995) 1253-1259.
- [28] M. Ryner, K. Stridsberg, A.-C. Albertsson, H. von Schenck, M. Svensson, Mechanism of ring-opening polymerization of 1,5-dioxepan-2-one and L-lactide with stannous 2-ethylhexanoate. A theoretical study, *Macromolecules* 34(12) (2001) 3877-3881.
- [29] M. Ajioka, K. Enomoto, K. Suzuki, A. Yamaguchi, The basic properties of poly(lactic acid) produced by the direct condensation polymerization of lactic acid, *Journal of environmental polymer degradation* 3(4) (1995) 225-234.
- [30] A. Kowalski, A. Duda, S. Penczek, Kinetics and mechanism of cyclic esters polymerization initiated with tin(II) octoate. 3. Polymerization of l,l-dilactide, *Macromolecules* 33(20) (2000) 7359-7370.
- [31] B. Antelmann, M.H. Chisholm, S.S. Iyer, J.C. Huffman, D. Navarro-Llobet, M. Pagel, W.J. Simonsick, W. Zhong, Molecular design of single site catalyst precursors for the ring-opening polymerization of cyclic ethers and esters. 2. Can ring-opening polymerization of propylene oxide occur by a *cis*-migratory mechanism?, *Macromolecules* 34(10) (2001) 3159-3175.
- [32] H. Sugimoto, C. Kawamura, M. Kuroki, T. Aida, S. Inoue, Lewis acid-assisted anionic ring-opening polymerization of epoxide by the aluminum complexes of porphyrin, phthalocyanine, tetraazaannulene, and schiff base as initiators, *Macromolecules* 27(8) (1994) 2013-2018.
- [33] R.G. Konsler, J. Karl, E.N. Jacobsen, Cooperative asymmetric catalysis with dimeric salen complexes, *Journal of the American Chemical Society* 120(41) (1998) 10780-10781.
- [34] H. Ajiro, K.L. Peretti, E.B. Lobkovsky, G.W. Coates, On the mechanism of isospecific epoxide polymerization by salen cobalt(III) complexes: Evidence for solid-state catalysis, *Dalton Transactions* (41) (2009) 8828-8830.
- [35] R.M. Thomas, P.C.B. Widger, S.M. Ahmed, R.C. Jeske, W. Hirahata, E.B. Lobkovsky, G.W. Coates, Enantioselective epoxide polymerization using a bimetallic cobalt catalyst, *Journal of the American Chemical Society* 132(46) (2010) 16520-16525.

[36] P.C.B. Widger, S.M. Ahmed, G.W. Coates, Exploration of cocatalyst effects on a bimetallic cobalt catalyst system: Enhanced activity and enantioselectivity in epoxide polymerization, *Macromolecules* 44(14) (2011) 5666-5670.

[37] S.M. Ahmed, A. Poater, M.I. Childers, P.C.B. Widger, A.M. LaPointe, E.B. Lobkovsky, G.W. Coates, L. Cavallo, Enantioselective polymerization of epoxides using biaryl-linked bimetallic cobalt catalysts: A mechanistic Study, *Journal of the American Chemical Society* 135(50) (2013) 18901-18911.

Supporting Information for: Synthesis and characterization of poly(ester-co-ether)s by ring opening polymerization of lactones and glycidyl propargyl ether catalyzed by tin octanoate

S-2.1. Experimental procedure

S-2.1.1 Synthesis of 9-(azidomethyl)anthracene (1)

To a cold (0°C) suspension of 9-(alkoxymethyl)anthracene (2 g; 9.6 mmol) in dichloromethane (30 mL) was added dropwise thionyl chloride (0.76 mL, 10.39 mmol). The reaction was allowed to react an additional hour at 0 °C then 1 hr at room temperature. The solvent and the reaction by-products were removed under reduced pressure. A greenish powder was obtained which was dissolved into 20 mL of anhydrous DMF. Sodium azide (0.674 g; 10.4 mmol) was added in one portion into the solution. The solution was stirred under nitrogen condition at r.t for 24 hrs. Water (100 mL) was added to the mixture. Compound was extracted with EtOAc (3 x 100 mL). The organic layer was subsequently washed with water (3 x 100 mL) and brine (100 mL), then dried over MgSO₄ and filtrated. The solvent was removed under reduced pressure leading to a dark yellow solid. Yield: 95%. (2.12 g; 9.12 mmol). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ ppm 8.70 (s, 1H), 8.46 (d, *J* = 8.27 Hz, 2H), 8.16 (d, *J* = 8.37 Hz, 2H), 7.61 (m, 4H), 5.52 (s, 2H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ ppm 131.80, 131.13, 129.91, 129.46, 127.68, 127.26, 126.27, 124.91, 46.38

S-2.1.2 Synthesis of (1-(anthracen-9-ylmethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methanol (2)

To a degassed solution of 1 (100 mg; 0.43 mmol) and propargyl alcohol (25.2 mg; 0.45 mmol) and PMDETA (9 μL; 0.043 mmol) in DMF (5 mL) was added CuBr (6.16 mg; 0.043 mmol) under nitrogen condition. The reaction mixture was stirred overnight. Water (50 mL) was added into the mixture. The compound was extracted with AcOEt (2 x 20 mL). The organic layer was washed with water (3 x 50 mL), brine, dried over anhydrous MgSO₄ and filtered. Evaporation of the solvent leads to the compound 2 as a yellow powder. Yield: 94 % (116.9 mg; 0.40 mmol). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ ppm 8.75 (s, 1H), 8.62 (d, *J* = 8.76 Hz, 2H), 8.17 (d, *J* = 8.09 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.63 (td, *J* = 14.79, 7.04, 7.04 Hz, 4H), 6.63 (s, 2H), 5.03 (t, *J* = 5.59, 5.59 Hz, 1H), 4.40 (d, *J* = 5.55 Hz, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ ppm 148.88, 131.91, 131.14, 129.98, 129.90, 127.98, 126.81, 126.26, 124.91, 123.04, 55.80, 46.17

S-2.2 Additional Spectra

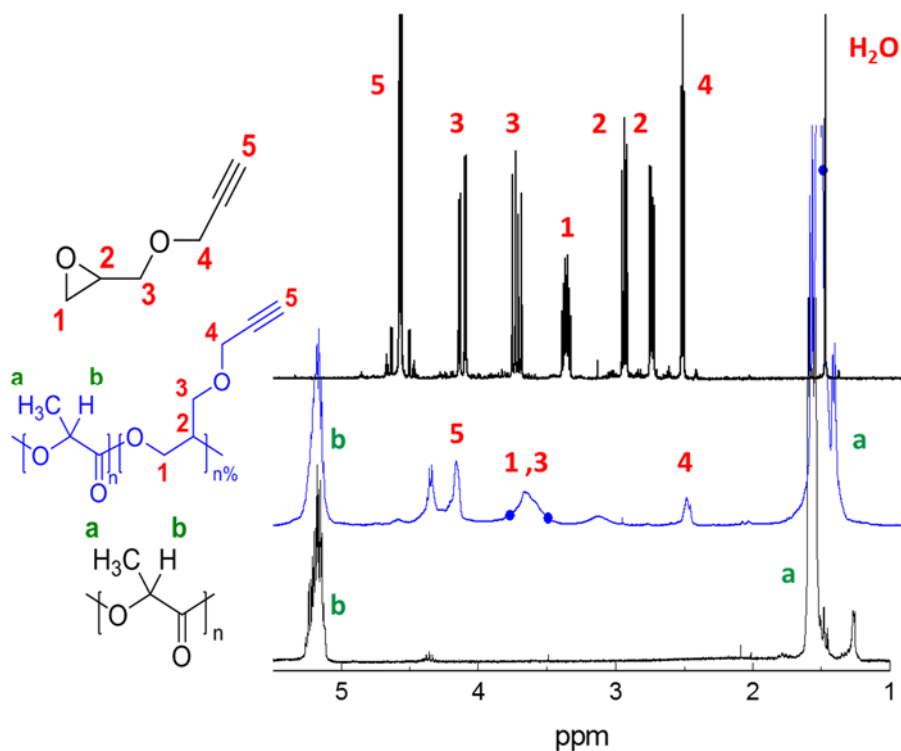


Figure SI-2. 1 ^1H NMR spectrum of neat PLA on the bottom, of the PLA-co-GPE in the center and the neat GPE on the top.

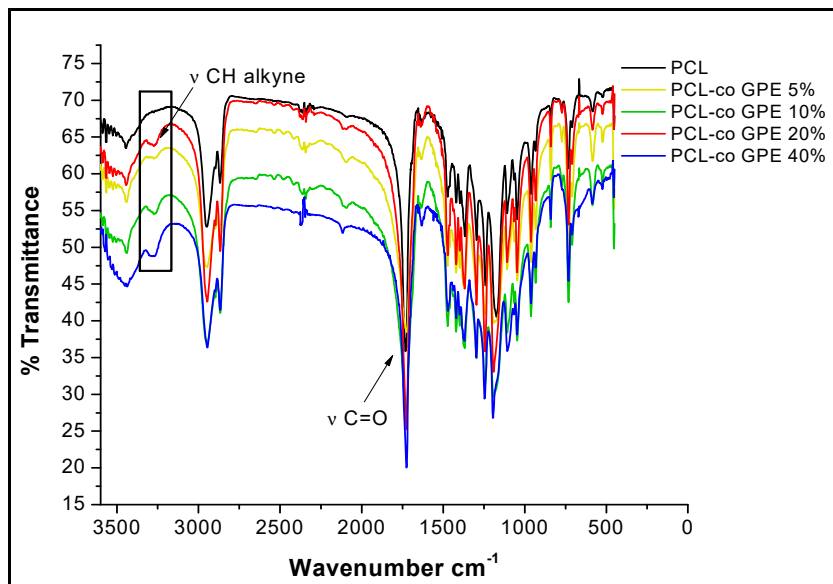


Figure SI-2. 2 FT-IR spectra of the PCL-co-GPE 40% (from the feed). The rectangle indicates the position of the $\text{-C}\equiv\text{H}$ vibrational stretching band.

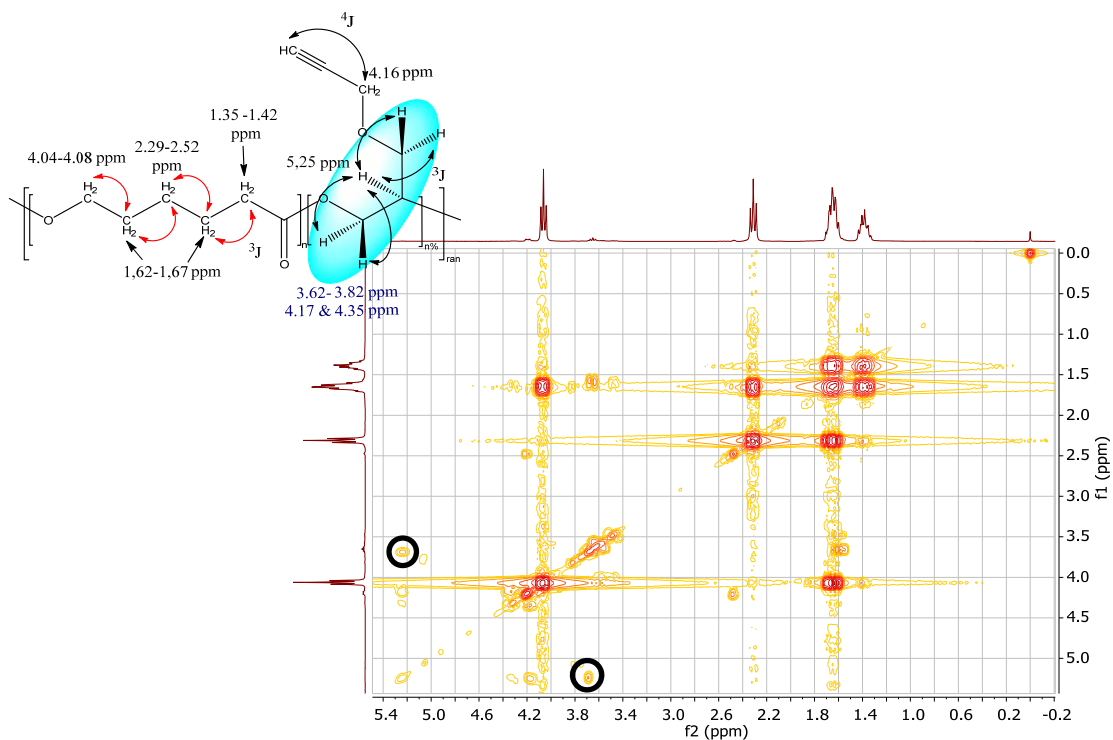


Figure SI-2. 3 COSY spectrum of PCL-co-GPE 40% (from the feed). The crosspeaks between the glycidyl methylenes -CH₂ and the methine -CH are highlighted by the black circles.

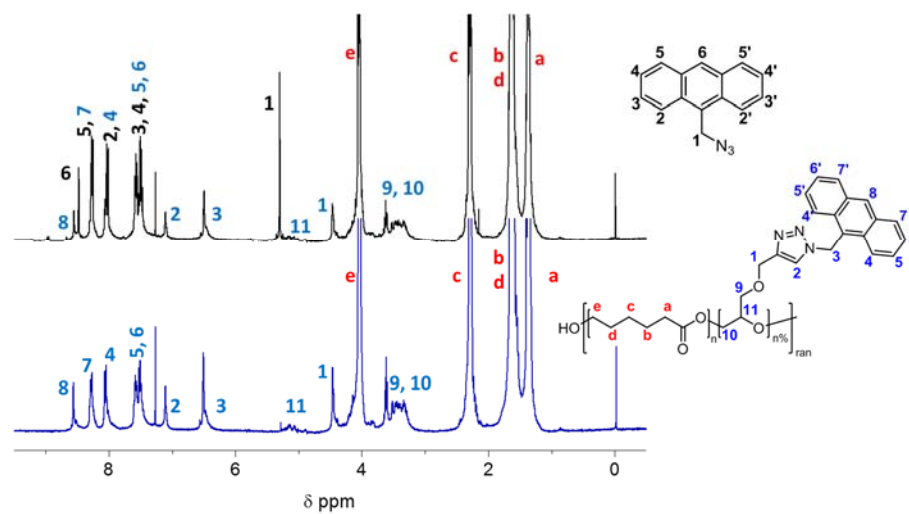


Figure SI-2. 4 Stacked ¹H NMR spectra of the crude (black spectrum) and the purified (blue spectrum) PCL-co-GPE 40% (from the feed).

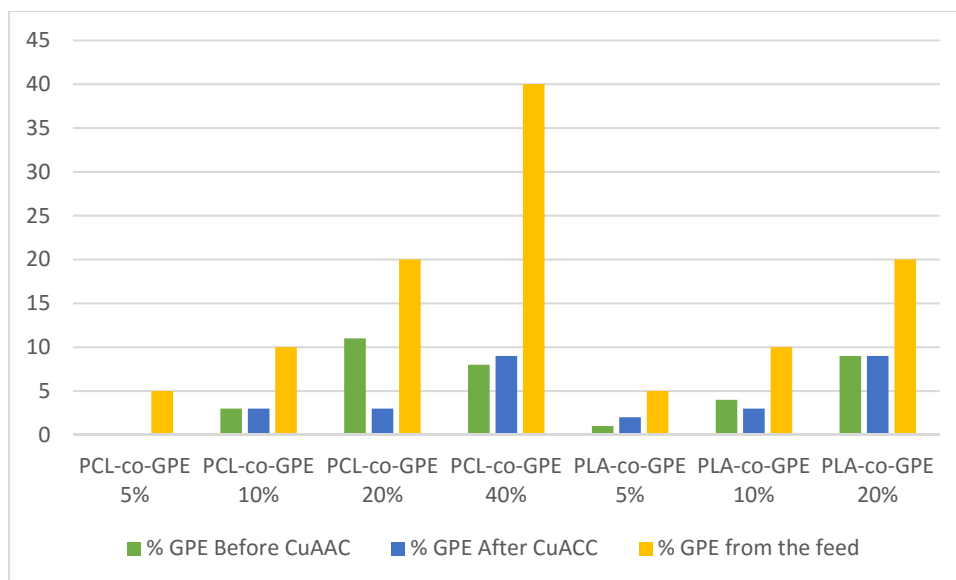
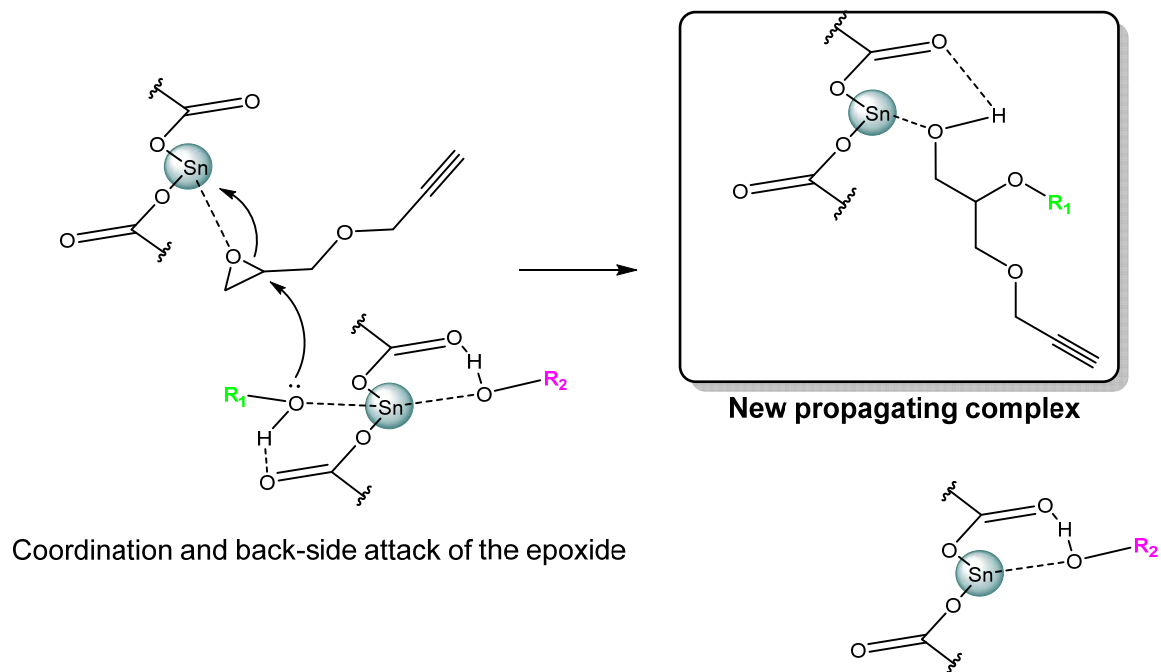


Figure SI-2. 5 Comparison of determination of GPE within the copolymer before and after CuAAC with the GPE content from the feed.



Scheme SI-2. 1 First approach of the copolymerization of GPE and LA using a bimetallic pathway.

CHAPITRE 3: Synthesis of Star Shaped Poly-(2-Isopropyl-Oxazoline): The Dilemma between the “Coupling-onto” and the “Core First” Approach?

«Sous les apparences...

Faut-il s'y fier ? S'y méfier ? Et qui se cache derrière leur masque ?»

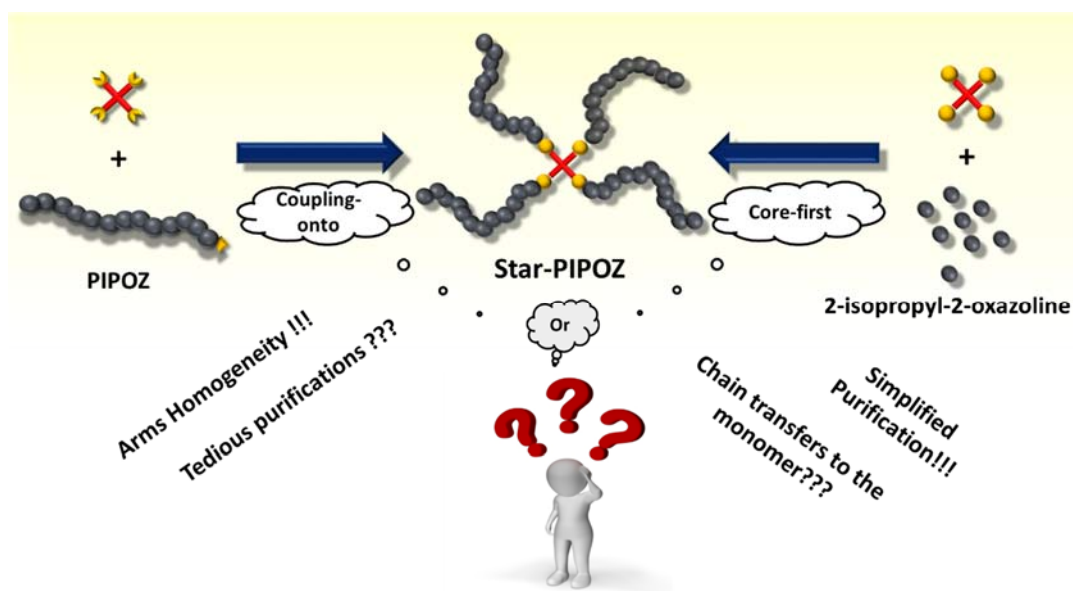
Lefigaro.fr

Une courbe peut toujours en cacher une autre et mener à une interprétation douteuse

Jean-Richard Bullet¹, Evgeniya V. Korchagina¹, and Françoise M. Winnik^{1,2}

3.1 Abstract

A series of star-poly(2-isopropyl-2-oxazoline)s (S-PIPOZ) was prepared by two different approaches: “coupling-onto” and “core-first”. On the one hand, for “the core-first approach”, S_{CF} -PIPOZs were prepared by direct cationic ring opening polymerization (CROP) from a tetra tosylate-functionalized pentaerythrityl core. On the other hand, for the “coupling-onto” approach, S_{CO} -PIPOZs were synthesized by coupling via the Copper Alkyne-Azide Cycloaddition (CuAAC) between L-PIPOZ- N_3 and a core with alkyne group for the “coupling-onto” approach. Taking advantage of the thermosensitive properties of PIPOZ, DSC analyses, in addition to commonly used 1H NMR, GPC and UV analyses, proved to be powerful tools to allow both characterization and analyses of the resulted polymers microstructure. S_{CO} -PIPOZs demonstrated good correlation between the 1H NMR, GPC, UV results and showed sharp unimodale DSC endotherms. Contrary to the S_{CO} -PIPOZs data, S_{CF} -PIPOZs results revealed a discrepancy between the molecular weights measured by 1H NMR and GPC. This issue was resolved with the help of DSC technique, which allowed to detect two populations of polymers, and to analyze them after isolation by isothermal centrifugal fractionation. Cleavage of the arms of the isolated S_{CF} -PIPOZ showed incomplete/not uniform synthesis of star-PIPOZs by the “core-first” approach. The inconsistencies between experimental data were explained by chain transfer to the monomer leading to free PIPOZ chains and star-star coupling.



3.1 Introduction

Recent advances in precision polymer synthesis greatly facilitate the manipulations of the length, connectivity, and functionality of macromolecular chains that are necessary to create complex polymer topologies in research laboratories and industrial production lines [1]. Star polymers, which consist of a central core fitted with several linear polymeric arms, emerged in the last decades [2]. Today, they are prepared industrially and used as gelling agents in cosmetics, viscosity modifiers in motor oils, and as defoamers or emulsifiers in various industrial fluids [1, 3, 4]. The enhanced performance of star polymers, compared to their linear counterparts, is attributed to their more compact globular conformation in solution. There is also growing evidence that star polymers outperform the current polymers used in medical applications for drug delivery, gene therapy, and imaging [1]. Here, the precisely known structure and size of star polymers, their narrow size distribution, and the ease of their functionalization with targeting groups, are particularly attractive. Another advantage of star polymers is that they conserve their topology at all concentrations, unlike self-assembled polymeric micelles that disintegrate below a critical micelle concentration (cmc), a phenomenon responsible for the “burst release” of drug following injection of drug-loaded polymer micelles. Design rules of star polymers for drug delivery usually call for a hydrophobic core able to entrap the load and hydrophilic arms forming a “stealth” shell against detection by the immune system in the blood [5]. This strategy ensures that the drug-loaded star polymer circulation time in the blood is sufficiently long for it to reach its target. Poly(ethylene glycol) (PEG) chains, known for their outstanding stealth properties, are commonly used as drug vehicles for parenteral administration. Signs of undesirable side effects have motivated the search for shell polymers as effective as PEG in preventing recognition of the star polymer by the immune system, but devoid of side effects [6,7].

Several reports point to the low toxicity and outstanding stealth properties of poly(2-alkyl-2-oxazolines) [8, 9]. Poly(2-ethyl-2-oxazoline) is an FDA-approved indirect food contact agent [10]. It exhibits stealth characteristics, similar or possibly superior, to those of poly(ethylene glycols) (PEG), as judged by the reduced adsorption of blood proteins on PEtOZ-coated surfaces [11]. Poly(2-alkyl-2-oxazolines) are prepared by cationic ring opening polymerization of 2-alkyl-2-oxazolines. This controlled polymerization method is amenable to the synthesis of star polymers by either the “arm-first” method, which consists in linking preformed living chains to a core, the “core-first” method, whereby the polymerization is initiated by either a multifunctional initiator,

or the “coupling-onto” method, which involves coupling of preformed arms to the core by a high-yield reaction, such as the copper-catalyzed alkyne-azide cycloaddition (CuAAC). The core-first approach was used by S. Kobayashi et al who were the first to report the preparation of tetra-armed poly(2-methyl-2-oxazolines) and poly(2-ethyl-2-oxazolines). Since then, this method has been applied to prepare star poly(2-R-2-oxazolines) (R= methyl, ethyl, isopropyl) with cores varying in shape and structural complexity, such as polycyclic derivatives,[12-14] calixarenes,[15-21] silsesquioxanes,[22, 23] pentaerythrytyl and other polyalkyl derivatives,[24-26] cyclotriphosphazenes,[27] porphyrins [25, 28, 29], cyclodextrins [30], hyperbranched structures[31] and perbromomethyl-2-oxazoline.[32] The coupling-onto approach has been used less frequently in the synthesis of star-poly(2-alkyl-2-oxazolines). This method is lengthier than the core-first approach, since it involves an additional purification step to remove excess arms from the star-polymers. It is also less amenable to the synthesis of star-polymers with long arms, since the core-to-arm coupling efficiency decreases with increasing arm length. A comparative study of the outcome of the core-first and coupling -onto methods was reported in the case of octa-arm stars with PEG-*b*-PEtOZ diblock copolymers as arms [33]. The macroscopic properties of the materials obtained were affected by the preparation method. For example, star-polymers obtained via the core-first process were readily soluble in water, whereas star-polymers produced by the coupling-onto method showed a tendency to aggregate.

We recently investigated the heat-induced phase transition of star polymers fitted with thermosensitive poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAM) arms [34]. PNIPAM is the archetypical thermo-responsive polymer: its solubility in water is reduced abruptly as the solution temperature exceeds the lower critical solution temperature (LCST). This macroscopic effect is accompanied by a sharp coil-to-globule conformational transition that results in a reduction in size. The effect is reversible: PNIPAM chains expand as the solution is cooled below the LCST and solubility in water is recovered. Star-PNIPAM (s-PNIPAM) are also thermosensitive. The temperature of their phase transition in water is lower than the LCST of the individual arms. The dynamics of the s-PNIPAM heat-induced phase transition depends on the local chain density of PNIPAM around the core. S-PNIPAM samples bearing a few arms (3 to ~ 6) undergo a one-step transition, whereas the phase transition of multiarm s-PNIPAM (~ 10 arms or more) occurs in two steps: the inner layer of the star collapses quickly; the outer layer of lower local density collapses slower at a higher temperature. This behavior reflects the confinement experienced by the arms, as observed also in the case of dense PNIPAM brushes on a substrate/water interface. The solution properties of a

series of s-PIPOZ with a calixarene core have been assessed in two studies on the basis of light scattering measurements. The effects of the arm length and of the number of arms were evaluated and interpreted in terms of chain density in the vicinity of the core. It is now well established that, unlike PNIPAM, linear PIPOZ aqueous solutions demix into two co-existing liquid phases upon heating past the transition temperature. Demixing also takes place in solutions of cyclic PIPOZ and of diblock copolymers having a PIPOZ block. The possibility of liquid/liquid demixing was not addressed, so far, in the case of s-PIPOZ.

The ultimate objective of the work described here is to evaluate the heat-induced phase transition of s-PIPOZ samples in water. Our first goal was to prepare a set of well-characterized defect-free s-PIPOZ with four arms linked to a pentaerythryl core. We set out to explore both “coupling-onto” and “core-first” syntheses using procedures reported for the synthesis of s-PMeOz and s-PEtOz. Aware that the phase transition temperature of PIPOZ changes significantly with polymer topology, we used differential scanning calorimetry (DSC) traces of the reaction products as “finger prints” of the purity of the s-PIPOZ obtained by each synthetic method. Then, we devised a fractionation of the crude mixtures by temperature-controlled centrifugation that led to the isolation of well-defined s-PIPOZ of high purity. A key outcome of this work is a demonstration of the power of the combination of DSC and gel permeation chromatography (GPC) profiles as facile, yet robust, purity tests of thermoresponsive stars.

3.2 Experimental section

3.2.1 Materials

All chemicals were purchased from Aldrich (Canada) and used as received, unless otherwise specified. Sodium sulfate anhydrous was purchased from Anachemia. Ethylene glycol was purchased from J.T BAKER. Dimethylformamide (DMF), dichloromethane (CH_2Cl_2), tetrahydrofuran (THF), triethylamine (Et_3N), ethyl acetate, hexane, methanol and toluene were purchased from Fisher (ACS grade solvents) and dried over alumina columns prior to use. Anhydrous reactions were performed under dry nitrogen with predried flasks, using solvents dried over alumina columns.

3.2.2 Methods.

NMR Spectra were recorded on a Bruker Avance (400 MHz) spectrometer. Chemical shifts are referenced to the tetramethylsilane ($(\text{Me})_4\text{Si}$) signal as internal standard (^1H NMR spectra) or

the residual solvent resonance (^{13}C NMR spectra). Accurate mass measurements were performed on a LC-TOF mass spectrometer from Agilent Technologies in positive electrospray mode. Protonated molecular ions $(\text{M}+\text{H})^+$ and/or sodium adducts $(\text{M}+\text{Na})^+$ were used for empirical formula confirmation. FTIR-ATR spectra of the samples were obtained using a Thermo Scientific-Nicolet iS10 FT-IR spectrometer equipped with a smart iTR attachment. Regenerated Cellulose membranes (Spectrum Spectra/Pore) were used for dialysis Ultrafiltration was performed at 60 psi with a Millipore Stirred Ultrafiltration Cell Model 8400 equipped with a Millipore 10 KDa Regenerated Cellulose Ultrafiltration Disc. An Eppendorf Centrifuge 5804 R was used for centrifugal separations. UV spectra were recorded on an Agilent 8453 diode array spectrometer equipped with a 89090 temperature controller.

3.2.3 α -Methyl ω -azido poly(2-isopropyl-2-oxazoline) (L-PIPOZ).

A Schlenk tube charged with a solution of methyl *p*-tosylate in acetonitrile (16 mL) was immersed in a preheated oil bath set at 80°C under a positive pressure of nitrogen. 2-Isopropyl-2-oxazoline (35 mmol, 4 mL) was added to the solution with a syringe. Aliquots were taken from the mixture to monitor the monomer consumption by ^1H NMR spectroscopy. When the conversion degree reached ca. 75 %, the polymerization was quenched by addition of sodium azide (5 eq. relative to initiator concentration). The resulting suspension was kept at 80 °C for 24 hr and cooled to room temperature It was dialysed against methanol for 1 day and against de-ionised water for 3 days with a membrane of MWCO 2 or 3.5 kDa. The polymer was recovered by freeze-drying. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 1.13 (br s, $-\text{CO}-\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$), 2.70 and 2.92 (br m, $-\text{CO}-\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$), 3.09 (s $\text{CH}_3-\text{N}(\text{CH}_2)_2^-$), 3.48 (br m, $-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2^-$ and $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}_3$), FT-IR: 2100 cm^{-1} (azide). The polymerization conditions and molar masses of the L-PIPOZ prepared are listed in Table 3.1.

Table 3. 1 CROP conditions for the synthesis and characterizations of L-PIPOZ- N_3

Polymer	$[\text{IPOZ}]_0/[\text{I}]_0$	Polymerization Time (hr)	Conversion Degree ^a	M_n (kg/mol ^b)	\bar{D}^b
L-PIPOZ _{3k} - N_3	40	10.5	78 %	3.1	1.04
L-PIPOZ _{4k} - N_3	50	12.0	75 %	4.3	1.07
L-PIPOZ _{5k} - N_3	59	19.0	72 %	5.3	1.02

$[\text{IPOZ}]_0 = 3.0 \text{ mol.L}^{-1}$

^a Determined by ^1H NMR from the integration of the doublet of the methyl protons signal arising from the 2-isopropyl-2-oxazoline at δ 1.19 ppm and the broad singlet the methyl protons signal arising from the PIPOZ at δ 1.10 ppm using the following formula:

$$\% \text{ conv} = \frac{I_{\text{CH}_3 \text{ PIPOZ}}}{I_{\text{CH}_3 \text{ PIPOZ}} + I_{\text{CH}_3 \text{ IPOX}}} \times 100$$

^b Determined by GPC

3.2.4 Preparation of star PIPOZ samples by the “coupling-onto” approach (S_{CO} -PIPOZ).

The following procedure was applied to prepare three stars PIPOZ of different arm lengths. A solution of L-PIPOZ (2 eq. per arms) and pentadimethylethylenetriamine PMDETA (5 eq.) in DMF (30 mL) was added to a degassed solution of core-4-yne 6 (1 eq.) The mixture was heated to 60°C. Cuprous bromide (CuBr) (5eq.) was added in one portion. The blue-green solution was stirred for 2 days at 60°C. The solution was cooled to room temperature and diluted with methanol (5 times). Excess of L-PIPOZ was removed by dialysis against MeOH for 2 days and against water for 5 days with a membrane with 12-14 kDa MWCO. Then, the polymer solution was concentrated by ultrafiltration using a membrane of MWCO 10 kDa. The recovered solution was passed through a 0.22 μm PVDF filter and the polymer was recovered by freeze-drying as a mixture of S_{CO} -PIPOZ and L-PIPOZ, as judged by GPC analysis

The mixture was fractionated by temperature-controlled centrifugation at 11,000 rpm for 60 min of an aqueous solution (8 g/L) heated to 40 °C. The supernatant containing L-PIPOZ- N_3 was separated from the warm mixture. The pellet was cooled to room temperature, diluted with water and subjected to a second fractionation under the same conditions. S_{CO} -PIPOZ was recovered by freeze-drying. Yield: 83-90%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 1.13 (br s, $\text{CO-CH-(CH}_3)_2$), 2.01 (quint, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 2.15 (br t, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 2.26 (br t, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 2.70 and 2.92 (br m, $-\text{CO-CH-(CH}_3)_2$), 3.10 (s $\text{CH}_3-\text{N(CH}_2)_2-$), 3.48 (br m, $-\text{N-CH}_2-\text{CH}_2-$ and $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}_3$), 4.39-4.62 ($-\text{NH-CH}_2-$ and $-\text{O-CH}_2-$), 6.85 (m, $-\text{CH}$ benzyl) and 7.18 (m, $-\text{CH}$ benzyl), 7.36 (br s, $-\text{CH=}$ triazole).

3.2.5 Determination of M_n by UV.

The molecular weight M_n^{UV} of s -PIPOZ was obtained by UV spectroscopy of the core was calculated using the formula $M_n = \frac{w}{n_{\text{core}}}$; where w is the polymer weight (g), n_{core} is the amount of core in the polymer chain (in mol). The amount of core (n_{core}) was calculated from the core

concentration determined by measuring the absorbance at 275 nm ($\epsilon_{275\text{ nm}}=6\ 100\ \text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ in acetonitrile) of the polymer solution (2-5 mg of carefully dried polymer dissolved into 3 ml of acetonitrile). All experimental data are shown in supporting information (Figure SI-3.1 and SI-3.2).

3.2.6 Preparation of star PIPOZ samples by the “core-first” approach (S_{CF} -PIPOZ).

A Schlenk tube charged with a solution core-4-yne in acetonitrile (16 mL) was immersed in a preheated oil bath set at 80°C under a positive pressure of nitrogen. 2-Isopropyl-2-oxazoline (35 mmol, 4 mL) was added to the solution with a syringe. Aliquots were taken from the mixture to monitor the monomer consumption by ^1H NMR spectroscopy. When the conversion degree reached ca. 20- 30%, the polymerization was quenched by addition of sodium azide (5 eq. per initiating site). The resulting suspension was kept at 80 °C for 24 hr and cooled to room temperature. It was dialysed against methanol for 1 day and against de-ionised water for 3 days with a membrane of MWCO 2 or 3.5 kDa. The polymer was recovered by freeze-drying. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 1.13 (br s, -CO-CH-(CH_3)₂), 2.70 and 2.92 (br m, -CO-CH-(CH_3)₂), 3.48 (br m, -N- CH_2 - CH_2), 4.41 (br m, C-(CH_2 -O-), 4.45 (br m, -O- CH_2 - CH_2), 4.51 (s, - CH_2 -O- CH_2), 7.79 and 7.32 (d, CH benzyl) FT-IR: 2100 cm^{-1} (azide). The polymerization conditions S_{CF} -PIPOZ prepared are listed in Table 2.

Table 3. 2 Conditions for the synthesis of S_{CF} -PIPOZs.

Polymers	[IPOZ] ₀ /[I] ₀	Polymerization time (hr)	% Conversion ^a
S_{CF} -PIPOZ 1	330	8.0	20
S_{CF} -PIPOZ 2	640	13.5	20
S_{CF} -PIPOZ 3	640	18.0	30

[IPOZ]₀ = 3.0 mol.L⁻¹

^a Determined by ^1H NMR from the integration of the doublet of the methyl protons signal arising from the 2-isopropyl-2-oxazoline at δ 1.19 ppm and the broad singlet of the methyl protons signal arising from the PIPOZ at δ 1.10 ppm using the following formula:

$$\% \text{ conv} = \frac{I_{\text{CH}_3 \text{ PIPOZ}}}{I_{\text{CH}_3 \text{ PIPOZ}} + I_{\text{CH}_3 \text{ IPOX}}} \times 100$$

3.2.7 GPC-MALLS Measurements

Gel permeation chromatography (GPC) analyses were performed with an Agilent 1100 series system consisting of an isocratic pump, a heated column chamber set at 40°C equipped

with a set of Phenomenex columns (Phenogel 5u 10⁴ A and 5u 10³ A), a DAWN-EOS multiangle laser light scattering detector (laser beam: $\lambda = 690$ nm (Wyatt Technology.) and a T-Rex refractometer detector $\lambda = 690$ nm (Wyatt Technology); The experiments were carried under the following conditions: injection volume, 100 μ L; flow rate: 3 mL/min; eluent: DMF with 0.01 M LiBr; temperature: 40°C. The dn/dc of linear PIPOZ, determined with the T-Rex refractometer, was 0.084 cm³/g at 690 nm in DMF with 0.01M LiBr.

3.2.8 High-Sensitivity Differential Scanning Calorimetry (HS-DSC)

HS-DSC measurements were performed with a VP-DSC microcalorimeter (MicroCal Inc.) at an external pressure of ca. 25 psi. Degassed polymer solutions (1.0 g/L) were introduced into the 0.52 mL cell pre-equilibrated at 10 °C for 1 hr. Heating/cooling scans were performed with a heating rate of 1 °C/min within the 10 - 90°C temperature range. Experimental data were analyzed with the help of the Origin based software supplied by the manufacturer. A water vs water scan was used as a reference. The endotherm maximum, T_{max} , was used as the temperature of phase transition and the area below the endotherm was taken as the enthalpy (ΔH) of the phase transition.

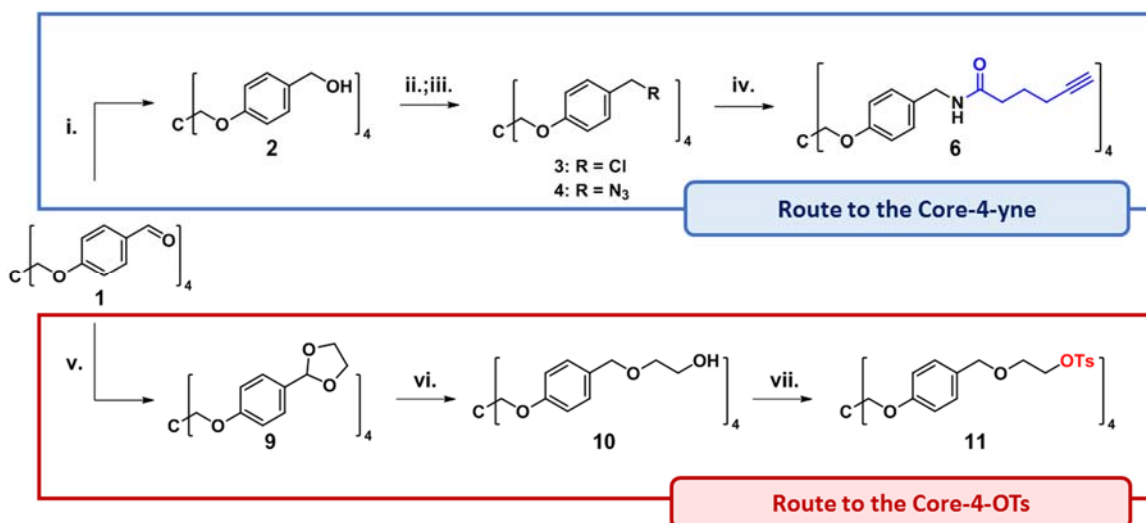
3.3 Results and discussion

3.3.1 Design and synthesis of the cores.

Pentaerythritol and its derivatives are commonly used for the preparation of 4-arm star polymers, since the tetrahedral configuration of the central carbon atom keeps the 4 arms as far apart as possible. Alkyl tosylates are good initiators for the CROP of 2-alkyl-2 oxazolines, but pentaerythrityl tosylate failed to initiate the polymerization of s-PEtOZ, possibly due to excessive crowding of the core [25]. Aware of these difficulties, we prepared the tetrabenzaldehyde-functionalized pentaerythrityl ether **1** (Scheme 3.1) where the phenyls act as rigid spacers, keeping the central tetrasubstituted core far apart from the initiator functions. This compound was converted to tetra-tosylated Core-4-OTs as well as the alkyne-functionalized Core-4-yne for use in the coupling onto approach (Scheme 3.1 top)

To obtain Core-4-yne, compound **1** was reduced to the tetra-alcohol **2** and converted to the tetra-azide **4** by nucleophilic substitution of the intermediate tetra-chloride **3** with N₃⁻ in DMF. Catalytic hydrogenation of the azide groups to primary amines and subsequent amidation with an activated succinimidyl ester led to Core-4-yne (**6**, Scheme 3.1 top) in 57 % overall yield. We chose to link the azide groups to the core via an amide group to avoid possible degradation of the core

or the targeted Sco-PIPOZ by hydrolysis. The success of the synthesis was ascertained by ^1H NMR and FTIR analysis. The ^1H NMR spectrum of **6** (Figure SI-3.3) presents signals characteristic of the aromatic protons (two doublets at δ 7.06 and δ 6.77 ppm) as well as signals due to protons of the alkyne-terminated chain (doublet at δ 4.33 ppm and triplet δ 1.88 ppm) due to the methylene and alkyne protons. The FTIR spectrum of Core-4-yne displays bands at 3290 cm^{-1} , 2116 cm^{-1} , 3068 cm^{-1} , 1639 cm^{-1} due, to the stretching vibrations of the $-\text{N}-\text{H}$, $\text{C}\equiv\text{C}$, $\equiv\text{C}-\text{H}$, and $\text{C}=\text{O}$ groups, respectively (Figure SI-3.4).



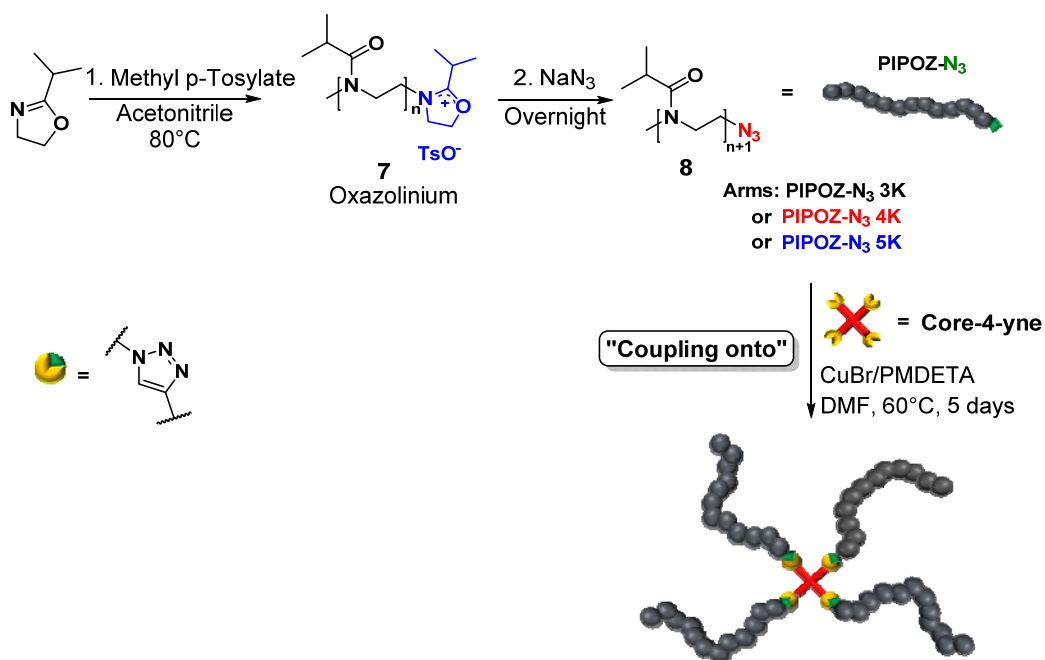
Scheme 3. 1 Synthetic pathways to the Core-4-yne (**6**) and the Core-4-OTs (**11**). **Conditions:** i. NaBH_4 , THF/MeOH, overnight; ii. SOCl_2 , CH_2Cl_2 , 0°C to r.t, 2 hr; iii. NaN_3 , DMF, 60°C , 6h; iv. H_2 80 psi, Pd/C, MeOH; then 2,5-dioxopyrrolidin-1-yl hex-5-ynoate (**5**), r.t, O/N; v. Ethylene glycol, PTOSH, toluene, reflux Dean-Stark conditions, overnight; vi. DIBAL, CH_2Cl_2 , -78°C , 2 hr then 2M HCl, 0°C ; vii. Tosyl chloride, Et_3N , CH_2Cl_2 , 0°C , 1 hr then room temperature, 16h

Core-4-OTs was constructed by a different approach. We introduced cleavable linkages between the pentaerythrityl moiety and the tosylate to be able to detach the polymer arms from the core after polymerization and determine their molar mass. A hydroxyethyl ether group was linked to the aromatic rings by mild reduction (DIBAL) of acetal-protected **1** (compound **9**, Scheme 3.1 bottom), yielding compound **10**, which was tosylated to generate the desired initiator (Core-4-OTs, **11**). The para-substituted alkoxybenzylethers moieties can be cleaved with 2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone (DDQ), ceric ammonium nitrate (CAN) and boron tribromide (BBr_3) (Figure SI-3.5) [35, 36]. The ^1H NMR spectrum of core-4-OTs presents signals in the aromatic region due to the tosyl protons (doublets at δ 7.71 and δ 7.23 ppm) and the core phenyl rings

(doublets at δ 7.09 and δ 7.80 ppm). Signals due to the methylene protons of the oxyethylether groups at (δ 4.09 and δ 3.53 ppm) and of the central methylene protons at (δ 4.32 ppm) further corroborate the successful synthesis of Core-4-OTs (Figure SI-3.6)

3.3.2 Coupling-onto preparation of star poly(2-isopropyl-2-oxazolines): S_{CO}-PIPOZ.

Linear azide-functionalized poly(2-isopropyl-2-oxazolines) (L-PIPOZ-N₃) of different molar masses and polydispersity indices were obtained by CROP of 2-isopropyl-2-oxazoline, carried out at 80°C in acetonitrile with methyl *p*-tosylate as initiator. Sodium azide was used to quench the polymerization, whereby the desired end-group was introduced in-situ (Scheme 3.2). The polymerization conditions and the characteristics of the three L-PIPOZ-N₃ prepared are listed in Table 1. The molar masses of the samples ranged from 3 100 to 5 300 g.mol⁻¹, with polydispersity indices < 1.07 (Table 1 and Figure SI-3.7). ¹H NMR spectra (Figure SI-3.8) of the polymers displayed characteristic signals of PIPOZ, namely a broad singlet at δ 1.13 ppm, due to the methyl protons of the isopropyl groups, a broad doublet at δ 2.70 and δ 2.92 ppm, assigned to the isopropyl methine protons, and a broad signal at δ 3.48 ppm, attributed to the main chain methylene protons. FTIR spectra of the polymers displayed a band at 2 100 cm⁻¹, characteristic of the azide moiety (Figure SI-3.9). The molar masses (M_n) obtained by GPC and by ¹H NMR via end-group analysis are nearly identical, implying that most polymer chains bear the desired azide end group.



Scheme 3. 2 Synthesis of star-shaped PIPOZ by the "coupling onto" approach

Star-shaped S_{CO} -PIPOZ were obtained by ligation of L-PIPOZ- N_3 to Core-4-yne 6 by CuAAC (Scheme 3.2). A series of trial experiments, performed to determine the optimal reactions conditions, led us to select DMF as the solvent (60°C), a twofold excess of L-PIPOZ- N_3 with respect to the alkyne groups of the core, with PMDETA (as a ligand for the copper), and cuprous bromide (as the catalyst). The recovered S_{CO} -PIPOZ samples were purified by extensive dialysis against methanol and against water. The GPC traces of the dialyzed samples were bimodal, with an elution band characteristic of the L-PIPOZ- N_3 and a band eluting at shorter times attributed to the corresponding S_{CO} -PIPOZ (black trace, Figure 3.1). Further purification by ultrafiltration through a membrane of MWCO 10 kDa led to a significant decrease of the amount of L-PIPOZ- N_3 contaminating S_{CO} -PIPOZ (red trace, Figure 3.1). To remove the remaining linear polymer, we took advantage that solutions in water of both L-PIPOZ- N_3 and S_{CO} -PIPOZ exhibit different phase transitions upon heating. The phase transition temperature of L-PIPOZ- N_3 is significantly higher than that of the corresponding S_{CO} -PIPOZ, for instance 46.4°C versus 36.1 °C (Table SI-3.1) in the case of L-PIPOZ- N_3 of Mn 5 300 g. mol⁻¹ as seen in Figure 3.1 where we present thermograms of the samples recovered after dialysis (black trace) and after ultracentrifugation (red trace). The sample isolated after ultrafiltration was dissolved in water, heated to a temperature between the two phase transition temperatures (e.g. 40°C for L-PIPOZ- N_3 of Mn 5 300 g mol⁻¹). The turbid solution was subjected to centrifugation (11 000 rpm) at this temperature, whereby the insoluble S_{CO} -PIPOZ sedimented on the bottom of the centrifugation tube while L-PIPOZ- N_3 remained dissolved in the supernatant. At the end of the centrifugation, the supernatant was quickly removed. The pellet was dissolved in cold water and subjected to a second centrifugation at 40°C to remove the last traces of linear polymer.

Both the GPC elution profile and the DSC thermogram of the recovered sample (pellet) were unimodal, with elution time and transition temperature commensurate with those expected for S_{CO} -PIPOZ. This procedure was performed on each S_{CO} -PIPOZ prepared. All the S_{CO} -PIPOZs exhibit sharper endotherms than those observed for the L-PIPOZ- N_3 (Figure 3.2.B and D). T_{max} for S_{CO} -PIPOZs were downshifted by more than 10°C comparing to the L-PIPOZ- N_3 . They are respectively 37.2, 36.9 and 36.2°C for S_{CO} -PIPOZs 13k, 19k and 22k. This effect can be first attributed to the star's 4 times higher molecular weight, second, to the hydrophobic contribution of the core on which the arms are linked [37, 38] and third, to the confinement of the arms within the S_{CO} -PIPOZs. This latter statement can be explained by the short distance between the PIPOZ arms which may favor polymer-polymer interactions upon heating.

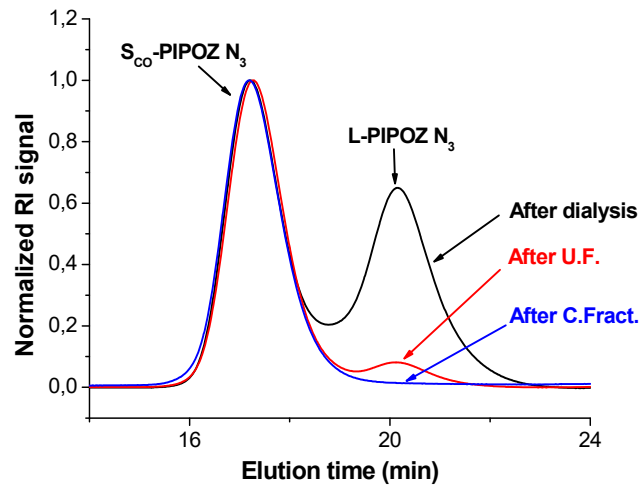


Figure 3. 1 Overlapped spectra of S_{co}-PIPOZ 22K after dialysis over 12-14 kDa MWCO membrane (black), after ultrafiltration over a 10 kDa MWCO membrane (red), after centrifugal fractionation (blue).

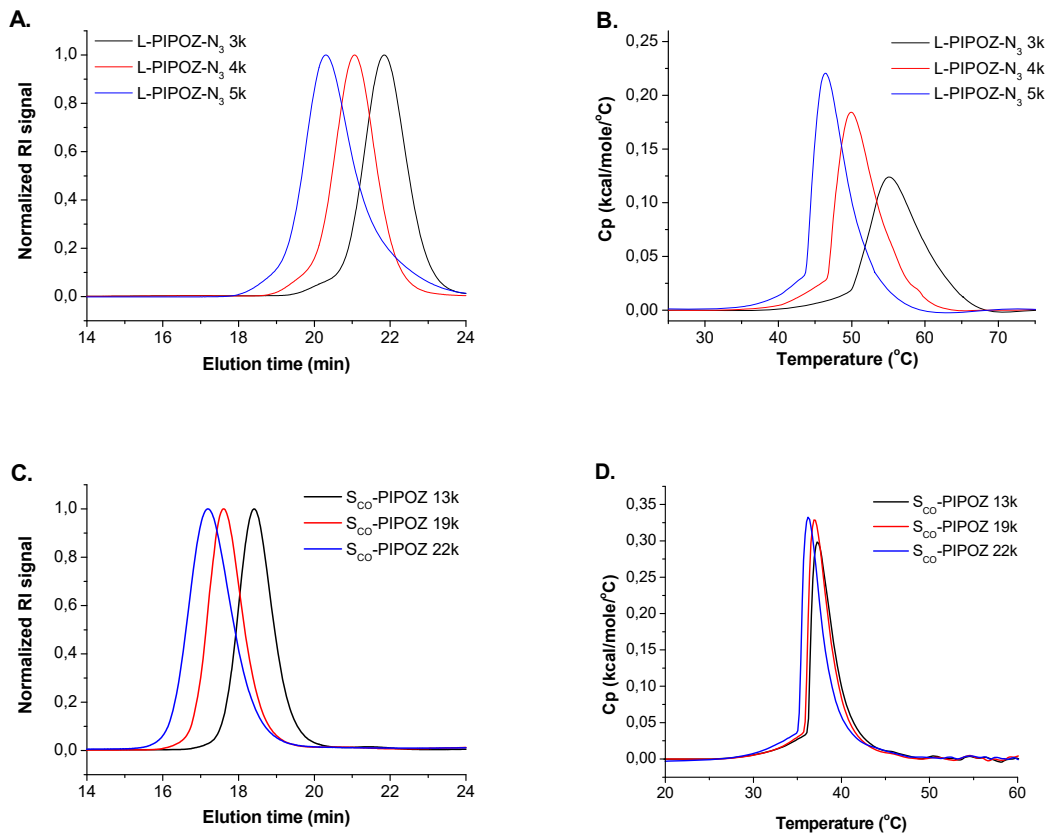


Figure 3. 2 GPC traces (left: A and C) and DSC thermograms (right: B and D) of L-PIPOZ-N₃ (top) and S_{co}-PIPOZ (bottom).

¹H NMR and FTIR (Figure SI-11 and SI-12) spectra confirmed the successful CuAAC ligation of the arms to Core-4-yne. The ¹H NMR spectrum of S_{CO}-PIPOZ (19K) displayed signals two doublets between δ 7.10-7.25 ppm and δ 6.80-6.91 ppm characteristic of the aromatic protons 2 and 3 as well as signals between δ 4.21 and δ 4.32 ppm attributed to the methylene protons 4 and 1 of the core. The small singlet at 7.35 ppm was assigned to the resonance of proton 9 of the newly formed triazole ring. In addition, the ¹H NMR spectrum had the signals characteristic of the PIPOZ arms. The molar masses of the S_{CO}-PIPOZ were determined by GPC, ¹H NMR spectroscopy using the integration of the aromatic signals and the proton coming from the methyl chain end or any protons from the arms after the triazole), and by UV absorbance of the core (ε_{275 nm}=6100 cm.M⁻¹). For each polymer, the molar masses determined by the three methods were nearly identical (Table 3.3), vouching for the successful ligation of 4 arms to each core-4-yne. In addition, the polydispersity indices of the polymers, determined by GPC were 1.10 or less. Overall, the spectral data and the molar mass characteristics indicated that the coupling onto method, coupled with centrifugal fractionation of the reaction product, yields star-shaped PIPOZ of high purity and molar masses (M_n) as high as 22,000 g.mol⁻¹.

Table 3. 3 Characteristics of S_{CO}-PIPOZs obtained by GPC analysis, NMR and UV spectroscopy.

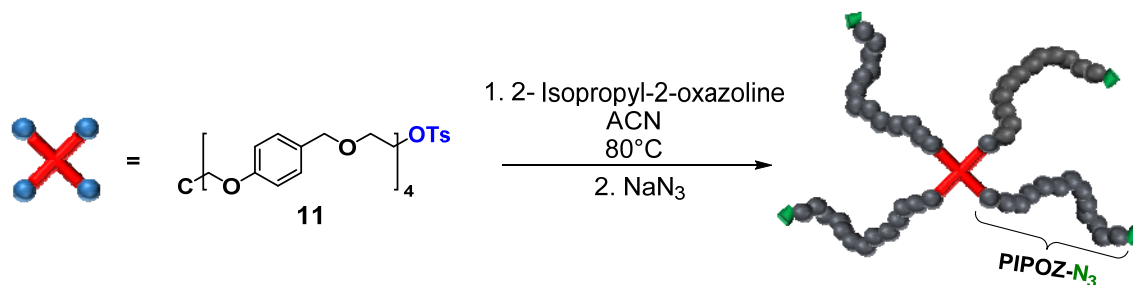
Polymer	NMR	UV	GPC		DP
	M _n (kg/mol) ^a	M _n (kg/mol)	M _n (kg/mol)	Đ	
S _{CO} -PIPOZ 1	12.5	13.0	13.1	1.02	108
S _{CO} -PIPOZ 2	21.5	17.0	18.6	1.10	156
S _{CO} -PIPOZ 3	23.0	20.0	21.6	1.08	183

^a Determined by ¹H NMR by the integrating the aryl proton of the core at δ 7.18 ppm and the methyl proton at δ 1.10 ppm of the PIPOZ using the following formula: $M_n = \frac{I_{CH_3 PIPOZ} \times 2}{I_{CH aryl} \times 6} \times M_{IPOX}$

3.3.3 Core-first preparation of star poly(2-isopropyl-2-oxazolines): S_{CF}-PIPOZ

Three S_{CF}-PIPOZs were synthesized by CROP of 2-isopropyl-2-oxazoline under the conditions adopted for the preparation of L-PIPOZ-N₃ using core-4-OTs as initiator (Scheme 3.3). The polymerizations were quenched with sodium azide when the monomer conversion reached 20-30 %, as determined by ¹H NMR analysis of aliquots taken from the polymerization mixtures after regular time intervals. The reaction parameters for the three polymerizations are listed in

Table 3.2. The cooled reaction mixture was dialyzed first against methanol then against water. The crude polymer samples were isolated by freeze drying. ^1H NMR analyses evidenced for this polymer set, the characteristic pattern of both PIPOZ and the initiating core suggesting the successful synthesis of S_{CF} -PIPOZs (Figure SI-3.10 and SI-3.11). Molecular weights determined by ^1H NMR analyses, from the integration of the PIPOZ methyl and the aryl protons, gave M_n ranging from 8.5 to 23 kDa whereas GPC analyses gave M_n ranging from 4.7 to 12.7 kDa (Table 3.4). There is a clear discrepancy between the two methods even though all the S_{CF} -PIPOZs exhibit a narrow dispersity \mathcal{D} (between 1.02 and 1.15). However, a close look to the chromatograms revealed the presence of a small shoulder, which is displayed in the higher molecular weight region. This shoulder becomes more pronounced as the S_{CF} -PIPOZ molecular weight increases. (Figure 3.3 A).



Scheme 3. 3 Synthesis of Star-PIPOZ by “core-first” (S_{CF} -PIPOZ) approach.

Table 3. 4 Characterization of S_{CF} -PIPOZ mixture by NMR and GPC.

Polymers	GPC		DP	NMR
	M_n (kg/mol)	\mathcal{D}		M_n (kg/mol)
S_{CF} -PIPOZ 1	4.7	1.03	35	8.5
S_{CF} -PIPOZ 2	10.1	1.04	83	17.0
S_{CF} -PIPOZ 3	12.7	1.15	106	23.0

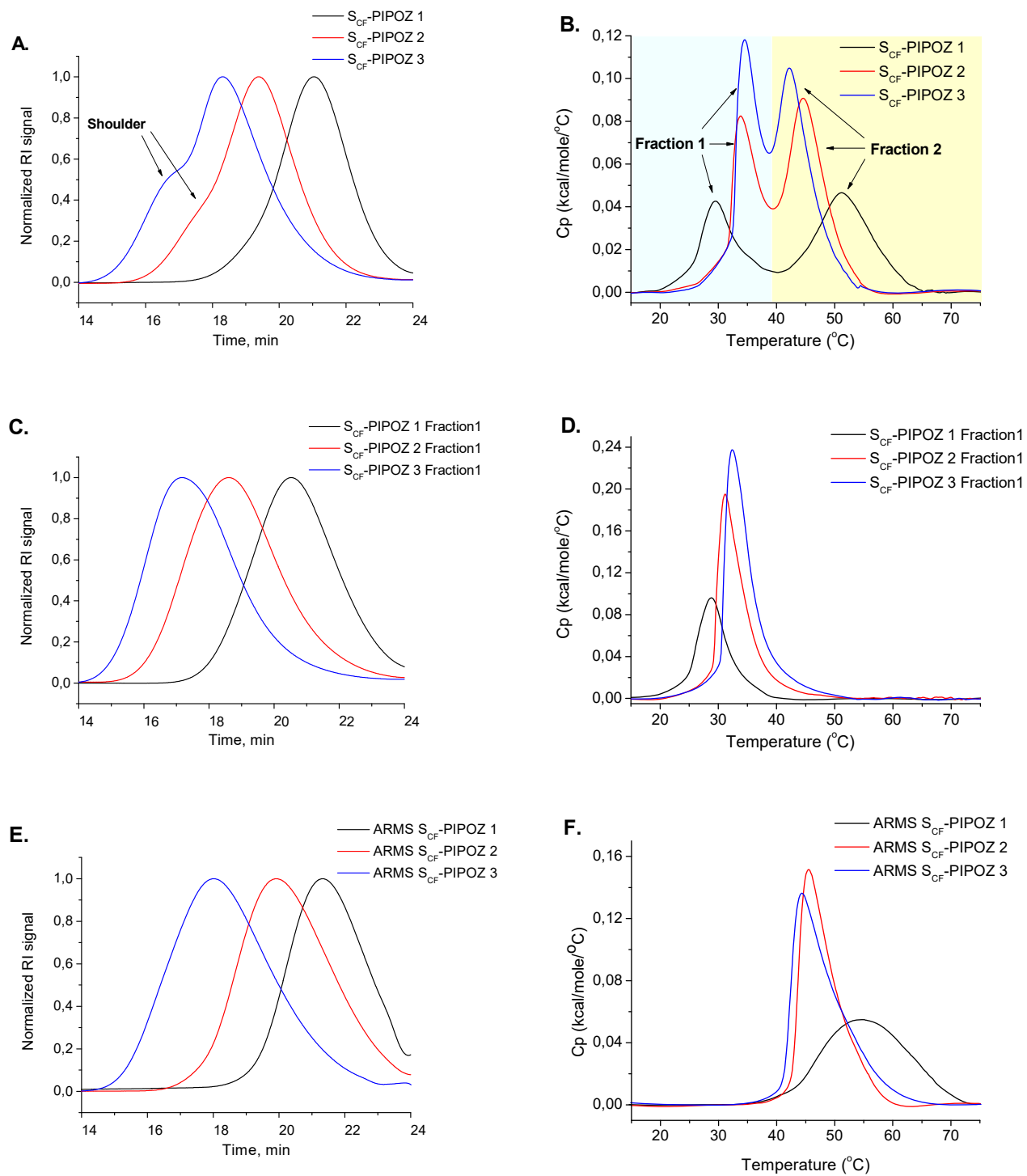
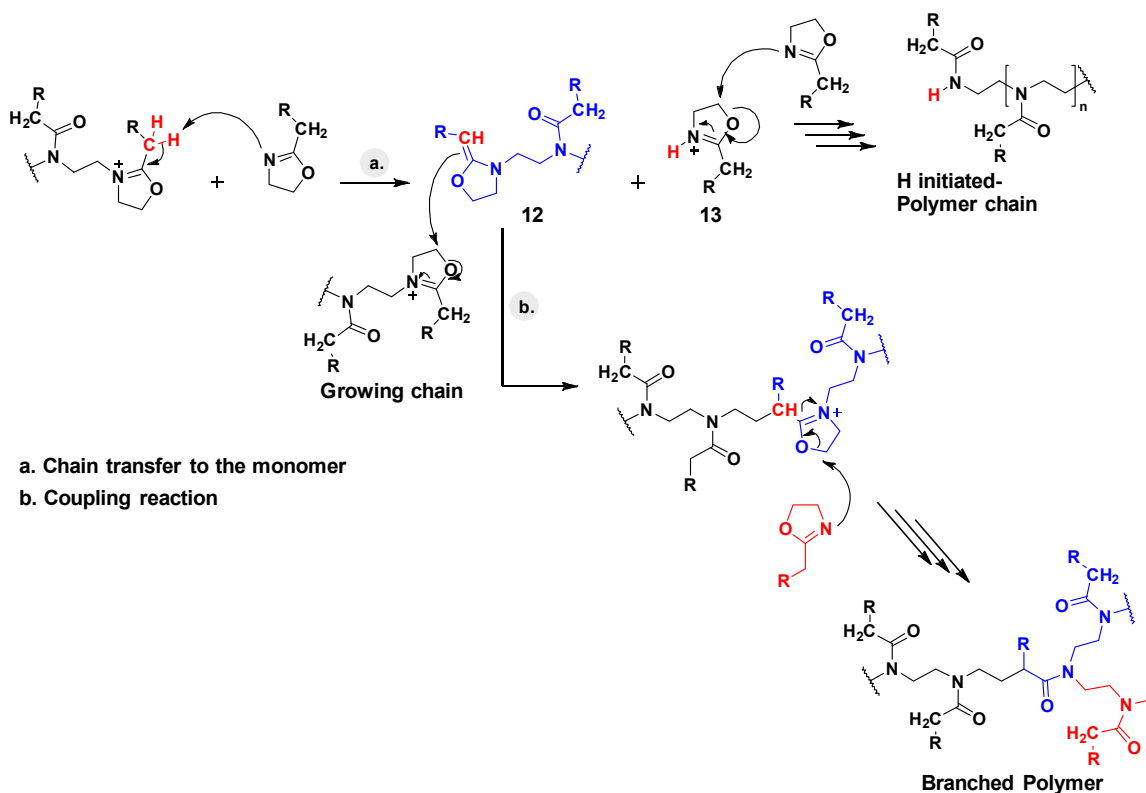


Figure 3. 3 GPC traces (left) and DSC thermograms (right) of CF-S-PIPOZ before (top) and after (middle) centrifuging and cleaved arms (bottom).

3.3.3.1 Towards an understanding of the discrepancy

The plausible explanations for such a discrepancy between the abovementioned results may be either an incomplete initiation step or the presence of polymers resulting from chain transfer to the monomer. In the chain transfer reaction, the Lewis basic nitrogen of the oxazoline instead of attacking the oxazolinium electrophilic initiator on the carbon in position 5 to form the growing chain, deprotonates the carbon in α -position of the oxazolinium cation (Scheme 3.4) [39]. This deprotonation leads to a polymer chain bearing a double bond **12** and an oxazolinium ion with a proton **13**. The double bond on the polymer chain **12** can act as a nucleophile in the CROP of oxazolines. The resulting polymer from chain transfer can couple with an oxazolinium ion present on a growing chain via the π bond leading to a branched polymer [39, 40]. Similar to radical polymerization, star/star coupling may arise if there are chain transfer reactions; the coupling reaction involves two polymer arms which belong to two different S-PIPOZs (see coupling in Scheme 3.4 b) [39, 341].



Scheme 3. 4 Representation of the chain transfer to the monomer and the coupling reaction mechanism proposed by Litt et al.[39]

In addition to the chain transfer reaction, stepwise initiation of star-poly(2-alkyl-oxazoline)s have been observed [14, 22, 29, 32]. For example, it has been shown in the case of a three functionals initiator that one of the three electrophiles initiated the polymerization of 2-methyloxazoline faster than the two other electrophiles. After this step, the initiation of the second electrophile takes place followed by initiation of the third one. However, the third initiating site has a very low reactivity compared to the two other ones [14]. This low reactivity is due to the limited access of the monomer to the initiating site imposed by the sterical hindrance of the two first propagating chains. This stepwise initiation leads to heterogeneous star-polymers. Moreover, plurifunctional anionic initiators have the tendency to aggregate and form gels [42]. However, this aggregation tendency diminishes progressively as the polymer arms grow. The growth of the polymer arms protects the plurifunctional core. This behaviour can have drastic consequences on the dispersity of the resulting polymer sample. This statement may be also taken into consideration to explain the observed data.

DSC analyses have been performed to dispel any doubt about the two analytical methods and to get more details about the S_{CF} -PIPOZs (Figure 3.3 B). Contrary to the transmittance analyses (Figure SI-3.12), DSC thermograms displayed two clear and distinct endotherms for all samples despite the unimodal character of the GPC traces. Similarly to s_{CO} -PIPOZ DSC analyses, the endotherm with the lower T_{max} should correspond for all samples to the S_{CF} -PIPOZ. Isolation of the component with lower T_{max} (Fraction 1) was carried out by double centrifugal fractionation of the polymer mixture at 40°C at 11000 rcf and recovery of the precipitate (Figure 3.4). Upon consecutive sedimentation cycles, the second endotherm in the mixture was removed (Figure 3.3 D). This observation was also supported by disappearance of the low molecular weight fraction (Figure 3.3 C) on the GPC profiles which display unimodal traces without any shoulders. T_{max} of the polymers increase as the molecular weight increase and range from 28.8 °C to 32.5°C from S_{CF} -PIPOZ 1 to S_{CF} -PIPOZ 3, respectively. This tendency can be explained by a greater hydrophobic contribution of the core on the phase transition temperature as the molecular weight decreases. This latter argument is in good agreement with reported results on the effect of hydrophobic end groups on the LCST of linear PIPOZ and PNIPAM [38, 43]. However, M_n determined by 1H NMR are still lower than those measured by GPC analyses (Table 3.5). GPC analyses revealed that M_n ranged from 5.6 to 20.1 kDa contrary to 1H NMR analyses which showed that they ranged from 4.4 to 13.5 kDa. This inconsistency may be explained in this case by the presence of S_{CF} -PIPOZ with heterogeneous arms or by the presence of entities resulting from star/star coupling.

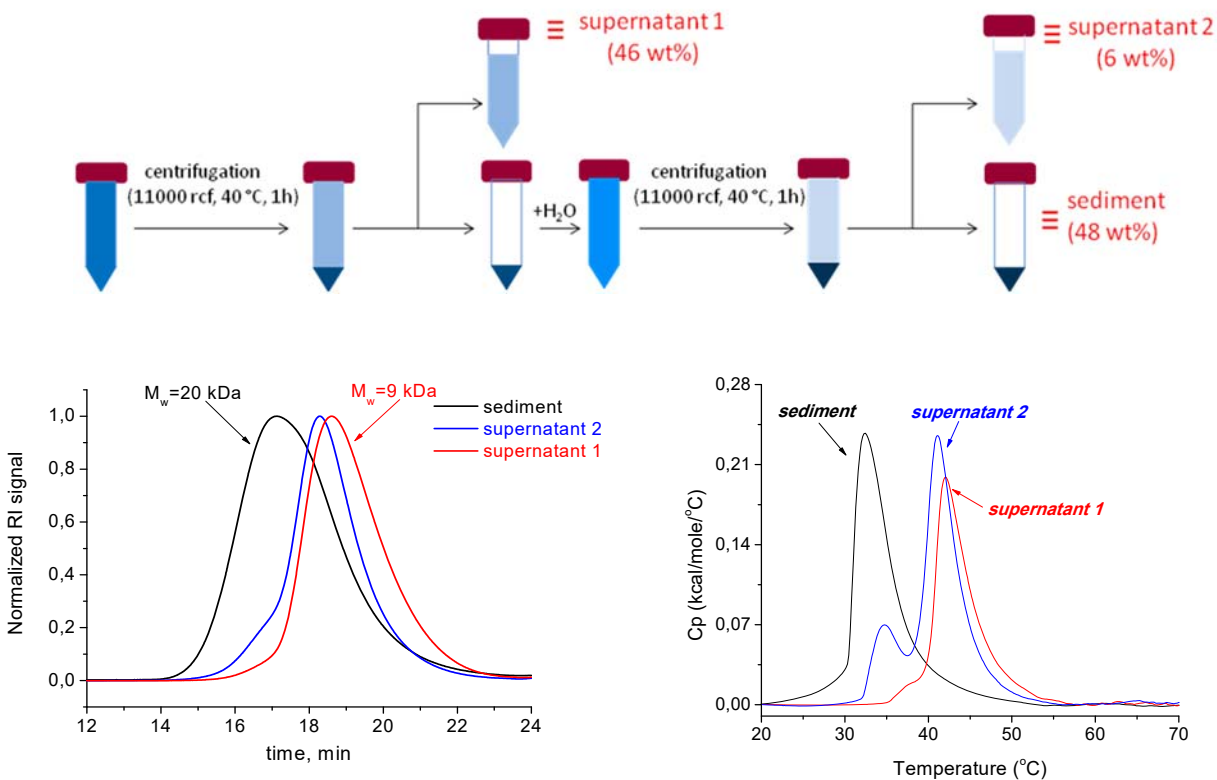


Figure 3. 4 GPC traces (left) and DSC thermograms (right) of different fractions (sediment and supernatants) of S_{CF} -PIPOZ. On the top - illustration of centrifugation procedure.

Table 3. 5 Characterization of $CF-S-PIPOZ_{AC}$ (AC: after centrifugal fractionation) and the cleaved arms.

Polymers	GPC _{STAR}		DP	NMR _{STAR}		GPC _{ARM}	
	M _n (kg/mol)	Đ		M _n (kg/mol)	M _n (kg/mol)	Đ	DP
S_{CF} -PIPOZ 1 _{AC}	5.5	1.01	42	4.4	3.5	1.03	30
S_{CF} -PIPOZ 2 _{AC}	14.0	1.05	117	8.9	6.5	1.03	57
S_{CF} -PIPOZ 3 _{AC}	19.4	1.03	165	13.5	10.3	1.03	91

3.3.3.2 Determination of the composition of the CF-S-PIPOZs first and second fractions

To get insight into branching degree, cleavage of the arms has been performed by using either CAN, BBr₃ or DDQ. Fig. SI-3.10 shows that cleavage site performed by all mentioned reagents gives the same results. GPC analyses of the arms showed monomodal distribution signal and narrow dispersity $\bar{D} = 1.03$ (Table 3.5). M_n values ranged from 3.5 to 10.3 kDa for the cleaved arms of S_{CF}-PIPOZ 1 and 3 respectively. DSC thermograms of cleaved arms demonstrate one endotherm with T_{max} changing from 44 to 55 °C and enthalpy ranging from 1.3 to 1.0 kcal/mol upon decreasing molecular weight from 10.3 to 3.5 kDa. Comparison between the DSC results for the shortest cleaved arm (3.5 kDa) and the linear analogue Me-PIPOZ-N₃ (3.1 kDa) used in the “coupling-onto” approach shows good correlation of both T_{max} and enthalpy (Table S1). This fact strongly supports the success of the arms cleavage and absence of the core. Obviously, simple comparison of the S_{CF}-PIPOZ and the cleaved arms reveals that star-polymers are composed by approximately two relatively long arms and the others may be consisted of oligomers. This observation strongly confirms that a stepwise initiation occurs during the polymerization.

To get more information about the nature and the weight contribution of the second fraction of the S_{CF}-PIPOZ observed on DSC thermograms (Figure 3.3 B), a solution of a known amount of the S_{CF}-PIPOZ 3 has been subjected to the double centrifugal fractionation cycles reported earlier (Figure 3.4). The pellet, the first and the second supernatant were recovered, freeze-dried and weighted. They represented respectively 48, 46, and 6 wt% of the initial amount of S_{CF}-PIPOZ 3. GPC and DSC analyses showed that the pellet was composed of 20 kDa S_{CF}-PIPOZs whereas supernatants, which were composed of the S_{CF}-PIPOZ 3 fraction 2, were mainly composed of 9 kDa presumably linear polymers (Figure 3.4). This latter statement was confirmed by UV analyses which proved that the first supernatant was composed of traces (only 7%) of pentaerythrityl initiating core. Based on these results, it is obvious that the polymers composing the second fractions are not S_{CF}-PIPOZs but arise from chain polymerization of hydrogen initiated chains hence the absence of core absorbance in UV. Those L-PIPOZs are from polymerization initiated by the oxazolinium ion **13** depicted in Scheme 3.5. Apparently, the chain transfer reaction seems to occur in the early stage of the CROP since those hydrogen initiated L-PIPOZs have almost the same molecular weight as the S_{CF}-PIPOZ arms (Table 3.5).

As a conclusion, the discrepancy between NMR and GPC analyses can be explained by two reasons. First, it can be explained by stepwise or incomplete initiation step leading to heterogeneous S-PIPOZ which lowers the molecular weights determined for the isolated S-PIPOZ

fractions. Secondly, it can be imputed to the presence of chain transfers. These side reactions may have two effects on the molecular weight determination. On one hand, they lead to I-PIPOZ without initiating core, which increases molecular weight determined by ^1H NMR for the mixtures and on the other hand to the possibility of star/star coupling.

3.4 Conclusion

Synthesis of *s*-PIPOZs has been performed by “core-first” and “coupling-onto” approaches. We have demonstrated that the “core-first” which is the frequently used method in the literature presents in our case some drawbacks in CROP of PIPOZ. This approach affords to ill-defined *S*-PIPOZs. It presents stepwise initiation that leads to heterogeneous *S*-PIPOZs and to chain transfer reactions. These results have been successfully highlighted by combination of GPC, ^1H NMR, UV and HS-DSC. The latter technique is fundamental for screening and confirming the microstructure of mixture or pure thermosensitive *S*-PIPOZ. Contrary to the “core-first” approach, the synthesis of star-shaped PIPOZ by the “coupling-onto” pathway based CuAAC provides well-defined polymeric systems with consistent and reliable analytical characteristics. We have also demonstrated that purification which usually a problem for this approach can be simply circumvented by taking advantage of the thermosensitive properties of PIPOZ. Based on discussed above results, synthesis of more complex star-PIPOZ systems such as heterostar-PIPOZ or stars with higher number of arms can be considered using the “coupling-onto” method instead of “core-first” since stepwise initiation and chain transfer reaction occurred inside this process.

3.5 Acknowledgement

We thank the staff of center of mass analysis and the laboratory of elemental analysis of Université de Montréal for all the analyses performed. Financial support from the FQRNT is gratefully acknowledged

3.6 References

- [1] Lutz, J.-F., et al. "From precision polymers to complex materials and systems." *Nature Reviews Materials* 1 (2016) 16024.
- [2] Ren, J. M.; McKenzie, T. G.; Fu, Q.; Wong, E. H. H.; Xu, J.; An, Z.; Shanmugam, S.; Davis, T. P.; Boyer, C.; Qiao, G. G. Star polymers. *Chemical Reviews* 2016, 116 (12), 6743-6836
- [3] Khan, A., et al. Compositions for defoaming aqueous compositions, (2003), Google Patents.

- [4] Zhou, L. L., et al. Highly regular multi-arm star polymers, US Patent 5,276,110, (1994), Google Patents.
- [5] Li, S.-D. and L. Huang (2010). "Stealth Nanoparticles: High Density but Sheddable PEG is a Key for Tumor Targeting." *Journal of Controlled Release* 145(3): 178-181.
- [6] Zhang, P.; Sun, F.; Tsao, C.; Liu, S.; Jain, P.; Sinclair, A.; Hung, H.-C.; Bai, T.; Wu, K.; Jiang, S. Zwitterionic gel encapsulation promotes protein stability, enhances pharmacokinetics, and reduces immunogenicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112 (39) (2015) 12046-12051.
- [7] Tagami, T., et al. "CpG motifs in pDNA-sequences increase anti-PEG IgM production induced by PEG-coated pDNA-lipoplexes." *Journal of Controlled Release* 142(2) (2010) 160-166.
- [8] R. Luxenhofer, G. Sahay, A. Schulz, D. Alakhova, T.K. Bronich, R. Jordan, A.V. Kabanov, Structure-property relationship in cytotoxicity and cell uptake of poly(2-oxazoline) amphiphiles, *Journal of Controlled Release* 153(1) (2011) 73-82.
- [9] A. Mero, G. Pasut, L.D. Via, M.W.M. Fijten, U.S. Schubert, R. Hoogenboom, F.M. Veronese, Synthesis and characterization of poly(2-ethyl 2-oxazoline)-conjugates with proteins and drugs: Suitable alternatives to PEG-conjugates?, *Journal of Controlled Release* 125(2) (2008) 87-95.
- [10] P.-F. Caponi, X.-P. Qiu, F. Vilela, F.M. Winnik, R.V. Ulijn, Phosphatase/temperature responsive poly(2-isopropyl-2-oxazoline), *Polymer Chemistry* 2(2) (2011) 306-308.
- [11] M. Bauer, C. Lautenschlaeger, K. Kempe, L. Tauhardt, U.S. Schubert, D. Fischer, Poly(2-ethyl-2-oxazoline) as alternative for the stealth polymer Poly(ethylene glycol): Comparison of in vitro cytotoxicity and hemocompatibility, *Macromolecular Bioscience* 12(7) (2012) 986-998.
- [12] R.-H. Jin, Colloidal crystalline polymer generated in situ from growing star poly(oxazolines), *Journal of Materials Chemistry* 13(4) (2003) 672-675.
- [13] T. Ogoshi, S. Hiramitsu, T.-a. Yamagishi, Y. Nakamoto, Columnar stacks of star- and tadpole-shaped polyoxazolines having triphenylene moiety and their applications for synthesis of wire-assembled gold nanoparticles, *Macromolecules* 42(8) (2009) 3042-3047.
- [14] Y. Chujo, K. Sada, T. Kawasaki, T. Saegusa, Synthesis of non-ionic hydrogel from star-shaped polyoxazoline, *Polym J* 24(11) (1992) 1301-1306.

- [15] J. Jeerupan, T. Ogoshi, S. Hiramitsu, K. Umeda, T. Nemoto, G.-I. Konishi, T.-A. Yamagishi, Y. Nakamoto, Star-Shaped Poly(2-methyl-2-oxazoline) Using by reactive bromoethyl group modified calix[4]resorcinarene as a macrocyclic initiator, *Polymer Bulletin* 59(6) (2007) 731-737.
- [16] A.I. Amirova, O.V. Golub, T.U. Kirila, A.B. Razina, A.V. Tenkovtsev, A.P. Filippov, Influence of arm length and number on star-shaped poly(2-isopropyl-2-oxazoline) aggregation in aqueous solutions near cloud point, *Soft Materials* 14(1) (2016) 15-26.
- [17] A.V. Tenkovtsev, A.E. Trofimov, L.I. Shcherbinskaya, Thermoresponsive star-shaped poly(2-isopropyl-2-oxazolines) based on octa-*tert*-butylcalix[8]arene, *Polymer Science Series B* 54(3) (2012) 142-148.
- [18] A.P. Filippov, A.I. Amirova, M.M. Dudkina, A.V. Tenkovtsev, Thermoresponsive star-shaped poly(2-isopropyl-2-oxazoline) in aqueous solution, *International Journal of Polymer Analysis and Characterization* 18(8) (2013) 567-577.
- [19] A.I. Amirova, M.M. Dudkina, A.V. Tenkovtsev, A.P. Filippov, Self-assembly of star-shaped poly(2-isopropyl-2-oxazoline) in aqueous solutions, *Colloid and Polymer Science* 293(1) (2014) 239-248.
- [20] A.P. Filippov, A.I. Amirova, M.N. Nikolaeva, M.M. Dudkina, A.V. Tenkovtsev, Deuterium isotope effect on solution behavior of thermoresponsive star-shaped poly(2-isopropyl-2-oxazoline), *International Journal of Polymer Analysis and Characterization* 19(8) (2014) 721-730.
- [21] M.P. Kurlykin, A.E. Bursian, M.M. Dudkina, A.V. Tenkovtsev, Synthesis of star-shaped polymers based on 2-alkyl-2-oxazoline with a calix[8]arene central core and the study of their heat-sensitive properties, *Fibre Chemistry* 47(4) (2016) 291-297.
- [22] K.-M. Kim, Y. Ouchi, Y. Chujo, Synthesis of organic-inorganic star-shaped polyoxazolines using octafunctional silsesquioxane as an initiator, *Polymer Bulletin* 49(5) (2003) 341-348.
- [23] J. Shen, S. Zheng, Comparative studies on miscibility and phase behavior of linear and star poly(2-methyl-2-oxazoline) blends with poly(vinylidene fluoride), *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* 44(6) (2006) 942-952.
- [24] A. Kowalczyk, J. Kronek, K. Bosowska, B. Trzebicka, A. Dworak, Star poly(2-ethyl-2-oxazoline)s—synthesis and thermosensitivity, *Polymer International* 60(7) (2011) 1001-1009.

- [25] R. Hoogenboom, M.W.M. Fijten, G. Kickelbick, U.S. Schubert, Synthesis and crystal structures of multifunctional tosylates as basis for star-shaped poly(2-ethyl-2-oxazoline)s, *Beilstein Journal of Organic Chemistry* 6 (2010) 773-783.
- [26] A. Dworak, R.C. Schulz, Star polymers and block copolymers of 2-oxazolines using chloroformates as initiators, *Die Makromolekulare Chemie* 192(2) (1991) 437-445.
- [27] J.Y. Chang, H.J. Ji, M.J. Han, S.B. Rhee, S. Cheong, M. Yoon, Preparation of star-branched polymers with cyclotriphosphazene cores, *Macromolecules* 27(6) (1994) 1376-1380.
- [28] R.-H. Jin, K.-I. Motoyoshi, Porphyrin-centered water-soluble star-shaped polymers: Poly(N-acetylenimine) and poly(ethylenimine) arms, *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines* 03(01) (1999) 60-64.
- [29] R.-H. Jin, Water soluble star block poly(oxazoline) with porphyrin label: a unique emulsion and its shape direction, *Journal of Materials Chemistry* 14(3) (2004) 320-327.
- [30] G. Pereira, C. Huin, S. Morariu, V. Bennevault-Celton, P. Guégan, Synthesis of poly(2-methyl-2-oxazoline) star polymers with a β -cyclodextrin core, *Australian Journal of Chemistry* 65(8) (2012) 1145-1155.
- [31] R. Weberskirch, R. Hettich, O. Nuyken, D. Schmaljohann, B. Voit, Synthesis of new amphiphilic star polymers derived from a hyperbranched macroinitiator by the cationic 'grafting from' method, *Macromolecular Chemistry and Physics* 200(4) (1999) 863-873.
- [32] T.K. Bera, S. Sivaram, 2-Perbromomethyl-2-oxazoline: a novel trifunctional initiator for the ring-opening polymerization of 2-methyl-2-oxazoline, *Macromolecular Chemistry and Physics* 196(5) (1995) 1515-1522.
- [33] S. Lim, H.-P. de Hoog, A. Parikh, M. Nallani, B. Liedberg, Hybrid, nanoscale phospholipid/block copolymer vesicles, *Polymers* 5(3) (2013) 1102.
- [34] N. Xue, X.-P. Qiu, Y. Chen, T. Satoh, T. Kakuchi, F.M. Winnik, Effect of chain architecture on the phase transition of star and cyclic poly(N-isopropylacrylamide) in water, *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* 54(20) (2016) 2059-2068.
- [35] P.G.M. Wuts, Protection for the hydroxyl group, including 1,2- and 1,3-diols, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, Inc.2014, pp. 17-471.

- [36] P.G.M. Wuts, Protection for phenols and catechols, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, Inc.2014, pp. 472-553.
- [37] N. Zhang, S. Huber, A. Schulz, R. Luxenhofer, R. Jordan, Cylindrical molecular brushes of poly(2-oxazoline)s from 2-isopropenyl-2-oxazoline, *Macromolecules* 42(6) (2009) 2215-2221.
- [38] S. Huber, N. Hutter, R. Jordan, Effect of end group polarity upon the lower critical solution temperature of poly(2-isopropyl-2-oxazoline), *Colloid Polym Sci* 286 (2008) 1653–1661.
- [39] M. Litt, A. Levy, J. Herz, Polymerization of cyclic imino ethers. X. kinetics, chain transfer, and repolymerization, *Journal of Macromolecular Science: Part A - Chemistry* 9(5) (1975) 703-727.
- [40] P.H.M. Van Steenberge, B. Verbraeken, M.-F. Reyniers, R. Hoogenboom, D.R. D'hooge, Model-based visualization and understanding of monomer sequence formation in gradient copoly(2-oxazoline)s on the basis of 2-methyl-2-oxazoline and 2-phenyl-2-oxazoline, *Macromolecules* 48(21) (2015) 7765-7773.
- [41] C.-F. Huang, H.-F. Lee, S.-W. Kuo, H. Xu, F.-C. Chang, Star polymers via atom transfer radical polymerization from adamantane-based cores, *Polymer* 45(7) (2004) 2261-2269.
- [42] R.P. Quirk, Y. Tsai, Trifunctional organolithium initiator based on 1,3,5-*tris*(1-phenylethenyl)benzene. Synthesis of functionalized, three-armed, star-branched polystyrenes, *Macromolecules* 31(23) (1998) 8016-8025.
- [43] X. Qiu, T. Koga, F. Tanaka, F.M. Winnik, New insights into the effects of molecular weight and end group on the temperature-induced phase transition of poly(N-isopropylacrylamide) in water, *Science China Chemistry* 56(1) (2012) 56-64.

**Supporting information for: Synthesis of Star Shaped Poly-(2-Isopropyl-
Oxazoline): The Dilemma between the “Coupling-onto” and the “Core First”
Approach?**

Jean-Richard Bullet¹, Evgeniya V. Korchagina¹, and Françoise M. Winnik^{1,2}

S-3.1 Experimental procedures:

S-3.1.1 Synthesis of tetrakis[(4-formylphenoxy)methyl]methane (**1**)

To a solution of pentaerythrityl tetrabromide (6.45 mmol, 2.5 6.4g g) and 4-hydroxybenzaldehyde (27.08 mmol, 3.3 g) in DMF (100 mL) was added K_2CO_3 (27.08 mmol; 3.74 g). The mixture was heated to 80°C for 10 min then at 130°C overnight. It was cooled to room temperature (RT). The dark solution was poured into water (200 mL) and extracted twice with CH_2Cl_2 (100 mL). The organic phase was subsequently washed with water (5 x 100 mL) and brine (100 mL) then dried over anhydrous Na_2SO_4 . It was then filtered. The solvent was removed by evaporation. The compound was purified by flash chromatography with a mixture CH_2Cl_2 /MeOH (97.5/2.5, v/v) as eluent. Compound **1** was obtained as an off-white solid. Yield 98 % (6.34 mmol, 3.5 g) 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 9.89 (s, 4H), 7.84 (d, $J = 8.7$ Hz, 8H), 7.05 (d, $J = 8.7$ Hz, 8H), 4.49 (s, 8H). ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 191.04, 163.57, 132.41, 131.02, 115.27, 66.88, 45.11. HR-MS ESI calcd for $C_{33}H_{29}O_8$ (M+H) $^+$: 553.1857, found: 553.1875.

S-3.1.2 Synthesis of tetrakis [[(4-hydroxymethyl)phenoxy]methyl] methane (**2**)

To a solution of **1** (5.1 mmol, 2.9 g) in a mixture of MeOH/THF (50/50, v/v) at room temperature was added portionwise $NaBH_4$ (21.15 mmol, 0.8 g). The mixture was stirred overnight. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was filtered twice over neutral aluminum oxide with a mixture CH_2Cl_2 /MeOH (9/1, v/v) as eluent. Evaporation of the solvent gave the compound **2** as a light-yellow solid. Yield: quantitative (5.2 mmol, 2.9 g). 1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 7.23 (d, $J = 8.6$ Hz, 8H), 6.92 (d, $J = 8.6$ Hz, 8H), 4.50 (s, 8H), 4.33 (s, 8H). ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ ppm 158.87, 134.22, 128.61, 114.69, 66.71, 63.89, 45.30. HR-MS ESI calcd for $C_{33}H_{36}O_8Na$ (M+Na) $^+$: 583.2302, found: 583.2291.

S-3.1.3 Synthesis of tetrakis [[(4-chloromethyl)phenoxy]methyl] methane (**3**)

To a cold suspension (ice bath) of **2** (5.2 mmol, 2.9 g) in CH_2Cl_2 was added dropwise thionyl chloride (41.2 mmol, 4.9 g). After 2 hr, the solvent was distilled off leading to a light orange product. The oil was subjected to three cycles of dissolution in dichloromethane (50 mL)/evaporation under reduced pressure giving **3** as a light orange oil. It was used without further purification. Yield: quantitative (5.2 mmol, 3.3 g). 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 7.32 (d, $J = 8.7$ Hz, 8H), 6.92 (d, $J = 8.7$ Hz, 8H), 4.58 (s, 8H), 4.37 (s, 8H);

S-3.1.4 Synthesis of tetrakis [[(4-azidomethyl)phenoxy]methyl] methane (4)

To a solution of **3** (5.2 mmol, 3.3 g) in DMF (80 mL) at room temperature was added in one portion NaN₃ (61.5 mmol, 4 g). The suspension was kept at 60°C for 6 hr. It was cooled to RT and poured into water (200 mL). The solution was extracted with CH₂Cl₂ (2 x 100 mL). The organic phase was washed with water (4 x 100 mL), then brine (100 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄ and filtered. The solution was concentrated under reduced pressure and filtered twice over a short silica column. Removal of the solvent yields to the compound **4** as a light orange oil. Yield: 65 % (3.4 mmol, 2.6 g). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.25 (d, *J* = 8.6 Hz, 8H), 6.96 (d, *J* = 8.6 Hz, 8H), 4.39 (s, 8H), 4.28 (s, 8H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 159.21, 130.14, 128.35, 115.39, 67.05, 54.74, 45.24. HR-MS ESI calcd for C₃₃H₃₂N₁₂O₄Na (M+Na)⁺: 683.2557, found: 683.2562.

S-3.1.5 Synthesis of 2,5-dioxopyrrolidin-1-yl hex-5-ynoate (5)

N,N-Dimethylaminopyridine was added in one portion to a mixture of 5-hexynoic acid (5 g, 44.59 mmol), *N*-hydroxysuccinimide (6.7 g, 57.97 mmol), and EDC.HCl (11.11 g, 57.97 mmol) in CH₂Cl₂ (100 mL). The mixture was stirred for 3 hr. The solution was washed successively with water (3x100 mL), then brine (100 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄ and then filtered. The solvent was removed under reduced pressure giving a light-yellow oil which was purified by flash chromatography with a mixture CH₂Cl₂/MeOH (95/5, v/v) as eluent. Compound **5** was obtained as a light-yellow oil. Yield: 95 % (8.9 g, 42.54 mmol); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 2.83 (s, 4H), 2.77 (t, *J* = 7.1, 7.1 Hz, 2H), 2.35 (dt, *J* = 7.1, 7.1, 2.7 Hz, 2H), 2.03 (t, *J* = 2.7, 2.7 Hz, 1H), 1.96 (p, *J* = 7.1, 7.1, 7.1, 7.1 Hz, 2H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 169.54, 168.58, 82.83, 70.24, 30.05, 25.98, 23.73, 17.97; HR-MS ESI calcd for C₁₀H₁₁NO₄ (M+Na)⁺: 232.0580 found: 232.0589

S-3.1.6 Synthesis of core-4-yne (6)

Palladium on activated charcoal (200 mg) was added to a solution of compound **4** (2.6 g, 3.4 mmol) in MeOH (50 mL). The mixture was then charge into a Parr reactor, which was purged of air by vacuum/N₂ cycles. The mixture was hydrogenated for 24 hr at 90 psi at RT. It was filtered over a pad of Celite® to removed the Pd/C. The pad was then rinsed thoroughly with MeOH. The solution was reduced to 100 mL under reduced pressure. To this solution, was added a solution of 2,5-dioxopyrrolidin-1-yl hex-5-ynoate **5** (16.7 mmol, 3.5 g) in CH₂Cl₂ (30 mL). The mixture was stirred at RT overnight under N₂. CH₂Cl₂ (200 mL) was added to the reaction mixture. The solution was washed with water (2 x 100 mL), brine (100 mL) then dried over anhydrous Na₂SO₄. The mixture was then filtered. Removal of the solvent gave a residue. It was purified by flash chromatography with a mixture CH₂Cl₂/MeOH (95:5, v/v) as eluent. Compound **6** was obtained as

a light-brown gummy residue. Yield: 86.4 % (2.9 mmol, 2.7 g). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7.06 (d, $J = 8.69$ Hz, 8H), 6.77 (d, $J = 8.69$ Hz, 8H), 5.90 (t, $J = 5.7$, 5.7 Hz, 4H), 4.24 (d, $J = 5.70$ Hz, 8H), 4.22 (s, 4H), 2.24 (t, $J = 7.0$, 7.0 Hz, 8H), 2.16 (dt, $J = 6.84$, 6.81, 2.6 Hz, 8H), 1.88 (t, $J = 2.6$, 2.6 Hz, 4H), 1.78 (p, $J = 7.0$, 7.0, 7.0, 7.0 Hz, 8H) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 172.43, 158.61, 131.39, 129.41, 115.26, 83.92, 69.61, 66.93, 45.38, 43.36, 35.42, 24.56, 18.26; ESI-MS (m/z): calcd for $\text{C}_{57}\text{H}_{65}\text{N}_4\text{O}_8$: 933.480. Found: 933.476

S-3.1.7 Synthesis of tetrakis [[4-(1,3-dioxolan-2-yl) phenoxy]methyl] methane (9)

Compound **1** (6.34 mmol, 3.5 g), ethylene glycol (33.7 mmol, 2.1 g), *p*-TSOH monohydrate (0.176 mmol, 33.63 mg) and toluene (100 mL) was added to a round bottom and reflux at 145 °C overnight in Dean-Stark condition. After cooling to room temperature, the solution was rinsed twice with 0.1 M NaOH solution (2 x 100 mL). The organic phase was collected, dried over Na_2SO_4 and filtered. Toluene was removed under reduced pressure affording to the compound **7** as a yellow oil which was used with further purification. Yield: quantitative (6.32 mmol, 4.6 g) ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7.40 (d, $J = 8.7$ Hz, 8H), 6.94 (d, $J = 8.7$ Hz, 8H), 5.78 (s, 4H), 4.37 (s, 8H), 4.13 (m, 8H), 4.03 (m, 12H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 159.97, 130.94, 128.23, 114.96, 104.02, 67.11, 65.60, 45.18.

S-3.1.8 Synthesis of tetrakis [[4-[(2-hydroxyethoxy)methyl]phenoxy]methyl] methane (10)

To a solution of **2** (4.29 mmol, 3.13 g) in CH_2Cl_2 (300 mL) at -78°C, was added dropwise DIBAL (18.02 mmol, 10.25 mL; 25 wt% in toluene). After stirring for 2 hr, the solution was warmed to 0°C. A 2M HCl solution (100 mL) was then carefully added. The mixture was stirred for 30 min. The organic phase was recovered and washed subsequently with water (2 x 100 mL), brine (100 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 and filtered. The solvent was removed under reduced pressure giving a light-yellow oil which was purified by flash chromatography (CH_2Cl_2 / MeOH respectively in a ratio v/v 9/1). Compound **8** was obtained as a colorless oil. Yield: 47.5 % (2.04 mmol, 1.5 g). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7.25 (d, $J = 8.6$ Hz, 8H), 6.92 (d, $J = 8.6$ Hz, 8H), 4.49 (s, 8H), 4.36 (s, 8H), 3.79-3.72 (dd, $J = 5.2$, 4.01 Hz, 8H), 3.57 (dd, $J = 5.2$, 4.01 Hz, 8H), 2.18 (s, 1H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 158.99, 130.94, 129.80, 115.09, 73.28, 71.48, 67.01, 62.28, 45.33; HR-MS ESI calcd for $\text{C}_{41}\text{H}_{52}\text{O}_{12}\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$: 759.3351, found: 759.3350.

S-3.1.9 Synthesis of core-4-OTs (11)

To an ice cooled solution of **8** (1.77 mmol, 1.3 g) and Et_3N (31.8 mmol, 4.43 mL) in anhydrous CH_2Cl_2 (50 mL) was slowly added *p*-toluenesulfonyl chloride (10.6 mmol, 2.02g). The reaction

mixture was stirred for an additional hour at 0°C, then at room temperature for 16 hr. It was subsequently washed with 2M HCl (100 mL). The acid aqueous phase was washed once with CH₂Cl₂ (100 mL). The organic phases were recombined and washed subsequently with water (100 mL), brine (100 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄ and filtered. The solvent was removed under reduced pressure leading to a yellow gum, which was purified by flash chromatography with a mixture CH₂Cl₂/MeOH (95/5, v/v) as eluent. Compound **9** was obtained as an amber gum. Yield: 75% (1.33 mmol, 1.8 g). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.71 (d, *J* = 8.0 Hz, 8H), 7.23 (d, *J* = 8.0 Hz, 8H), 7.09 (d, *J* = 8.6 Hz, 8H), 6.80 (d, *J* = 8.6 Hz, 8H), 4.32 (s, 8H), 4.26 (s, 8H), 4.09 (dd, *J* = 5.4, 4.2 Hz, 8H), 3.53 (dd, *J* = 5.4, 4.2 Hz, 8H), 2.34 (s, 12H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 158.96, 145.17, 133.42, 130.50, 130.20, 129.70, 128.37, 114.99, 73.22, 69.70, 67.55, 66.98, 45.16, 22.04; Anal. Calcd for: C: 61.23; H: 5.66; S: 9.48; found C: 61.08, H: 5.75, S: 9.39; HR-MS ESI calcd for C₆₉H₇₆ O₂₀S₄Na (M+Na)⁺: 1375.3705, found: 1375.3705.

S-3.2 Additional information

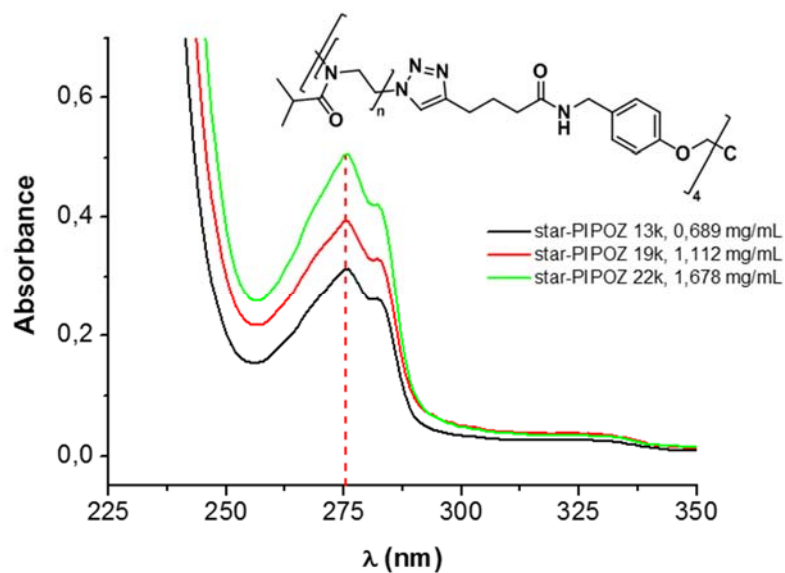


Figure SI-3. 1 UV/Vis absorption spectra of S_{CO}-PIPOZ used for determination of molecular weight M_n. The measurements were carried out with 5 mg of carefully dried polymer dissolved into 3 ml of acetonitrile.

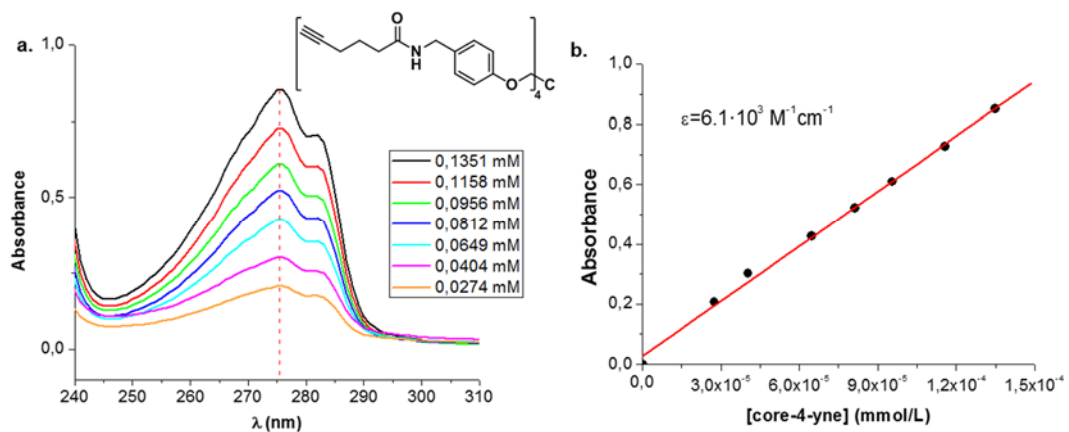


Figure SI-3. 2 UV/Vis absorption spectra of core-4-yne (**a.**) and calibration curve for determination of the extinction coefficient (**b.**). Measurements were carried out with concentration of core-4-yne in acetonitrile ranging from 0.0274 to 0.1351 mM.

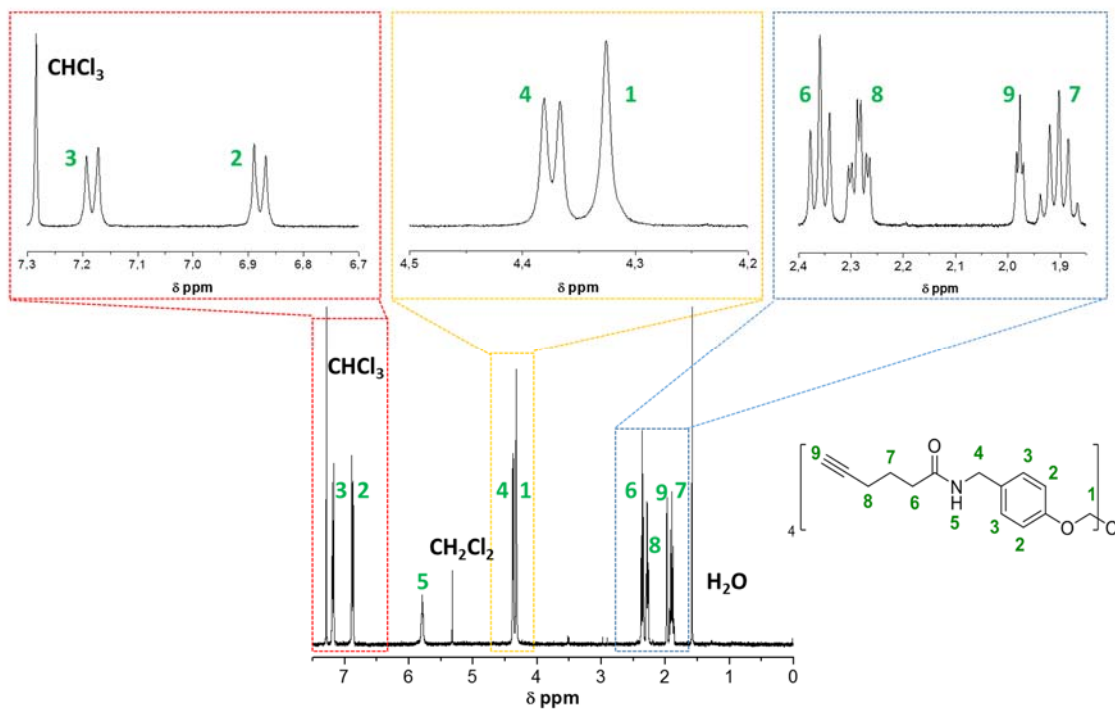


Figure SI-3. 3 ^1H NMR spectrum of core-4-yne in CDCl_3 at room temperature.

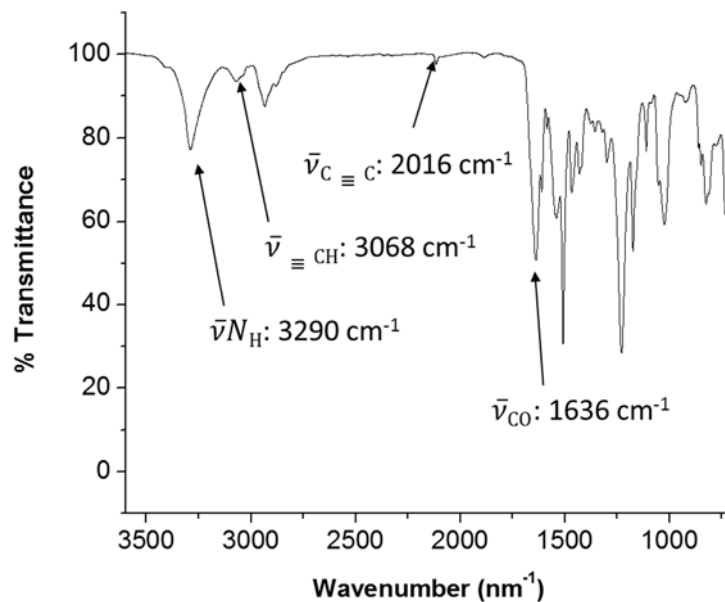


Figure SI-3. 4 FT-IR spectrum of Core-4-yne. The spectrum displays the characteristic vibrational bands of terminal alkyne ($\bar{\nu}_{\equiv\text{CH}}$ at 3068 cm⁻¹ and $\bar{\nu}_{\text{C}\equiv\text{C}}$ at 2116 cm⁻¹) and the characteristic vibrational bands of the amide ($\bar{\nu}_{\text{NH}}$ and $\bar{\nu}_{\text{CO}}$ at 3290 cm⁻¹ and 1638 cm⁻¹ respectively).

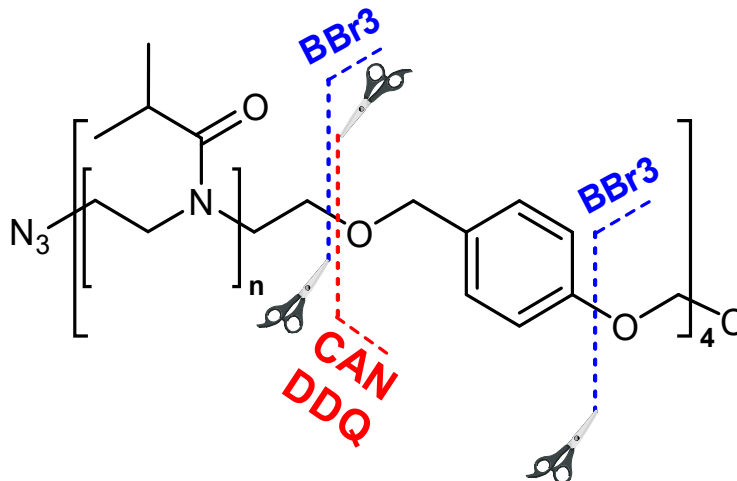


Figure SI-3. 5 Site of cleavage for BBr₃, CAN and DDQ.

- **By CAN:**

S_{CF}-PIPOZs (1 eq) was dissolved in acetone/water (90/10 v/v) mixture and CAN (100 eq) was added. After 2 days reaction at r.t, dialysis against deionized water for 3 days was performed using a 2 kDa MWCO regenerative cellulose membrane. PIPOZ was recovered by freeze drying.

- **By BBr3:**

S_{CF} -PIPOZs (1 eq) was dissolved in dry DCM under inert conditions and cooled at -78°C (dry ice/acetone). Then BBr_3 (40 eq) was added to polymer solution. After 2 days of stirring, the reaction was quenched by adding a small amount of water and subsequently dialysed two days using 2 kDa MWCO regenerative cellulose membrane against MeOH, then 2 days against deionized water. PIPOZ was recovered by freeze-drying.

- **By DDQ:**

S_{CF} -PIPOZs (1 eq) was dissolved in DCM and DDQ (100 eq) was added. Reaction was performed at RT during 2 days. After that 3 days dialysis against MeOH and 3 days dialysis against DI water using 2 kDa MWCO regenerative cellulose membrane was applied. PIPOZ was recovered by freeze-drying.

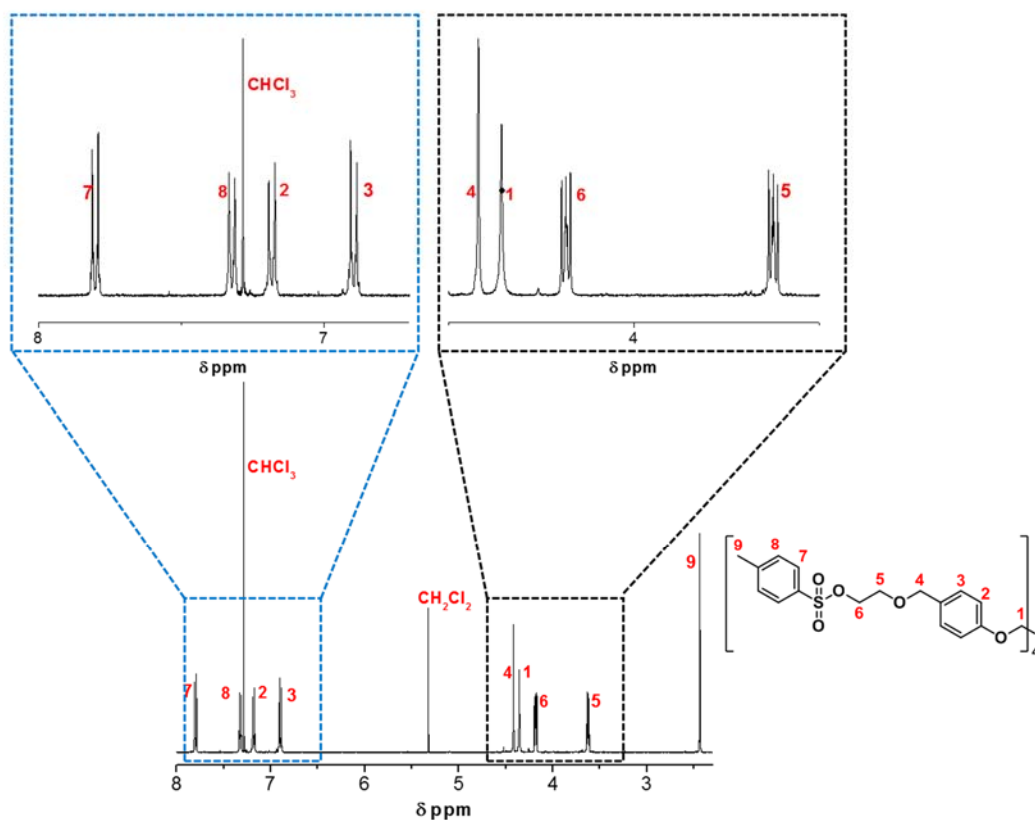


Figure SI-3. 6 ^1H NMR spectrum of Core-4-OTs in CDCl_3 at room temperature.

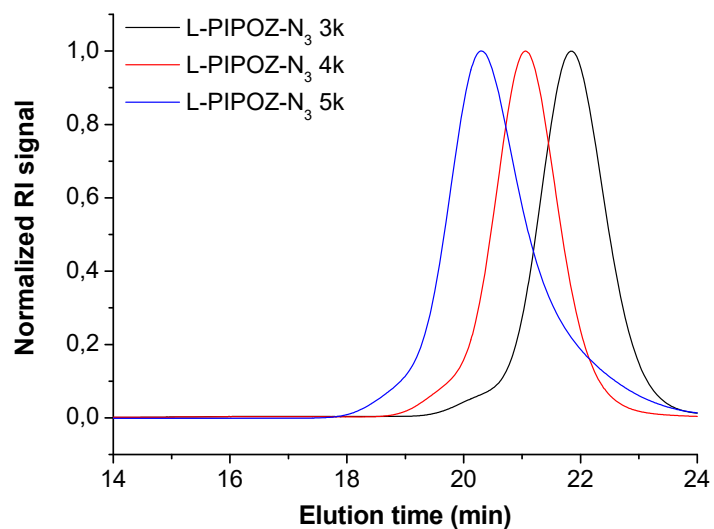


Figure SI-3. 7 GPC chromatograms of L-PIPOZ-N₃ samples. The analyses were performed in DMF containing 0.01M of LiBr at a flow rate of 0.3 mL/min and with a polymer concentration of 5 mg/mL.

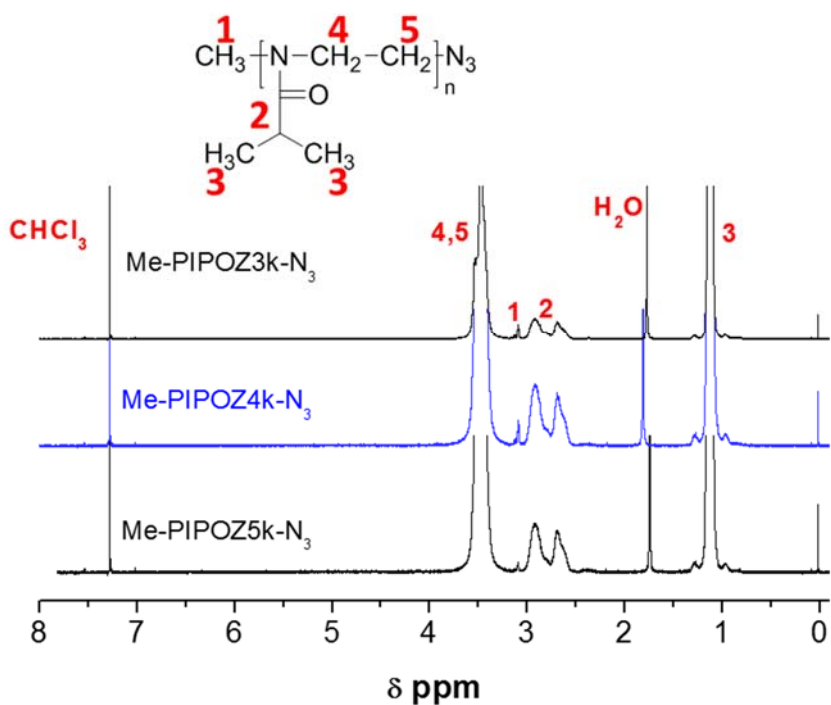


Figure SI-3. 8 ¹H NMR spectrum of the L-PIPOZ-N₃ samples. The NMR spectra were recorded at room temperature, in 0.7 mL of CDCl₃ with 10-15 g of polymers.

Table SI-3. 1 DSC data of 1 g/L aqueous solution of L-PIPOZs-N₃ and S_{CO}-PIPOZs.

Polymer	L-PIPOZ N ₃			S _{CO} -PIPOZ		
	3kDa	4 kDa	5 kDa	13 kDa	19 kDa	22 kDa
T _{max} °C	55.1	50.0	46.4	37.2	36.9	36.1
ΔH kcal/mol	1.13	1.34	1.34	1.11	1.15	1.17

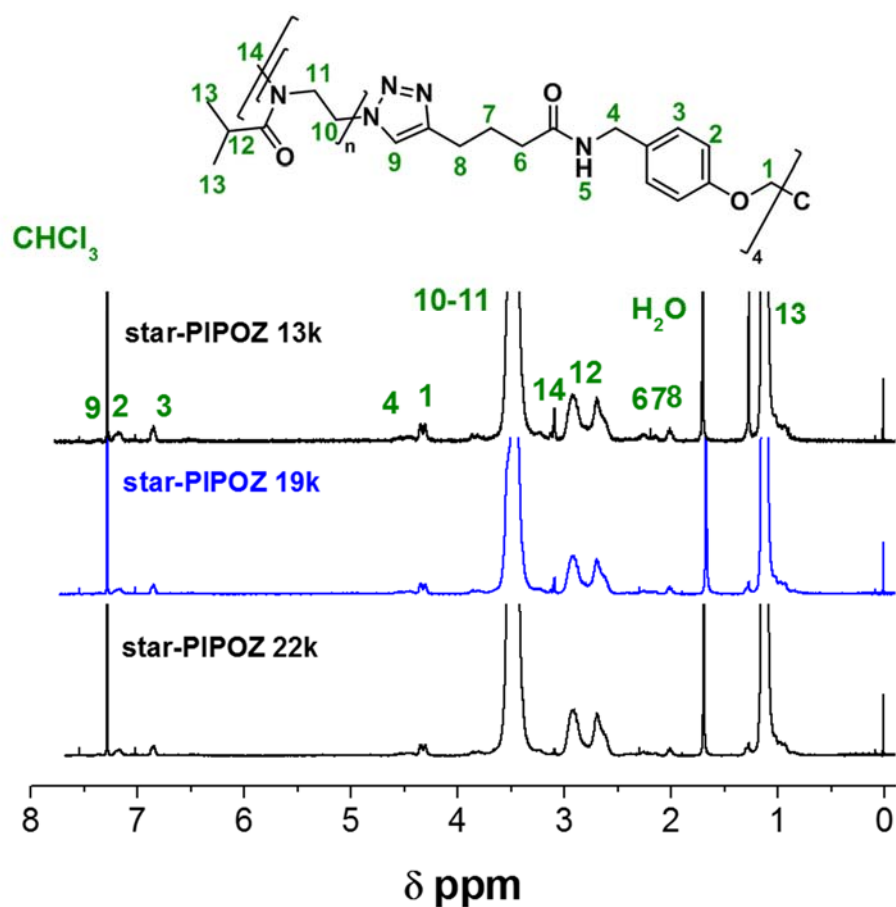


Figure SI-3. 9 ¹H NMR spectra of the S_{CO}-PIPOZ samples. The NMR spectra were recorded at room temperature, in 0.7 mL of CDCl₃ and with 10-15 g of polymers.

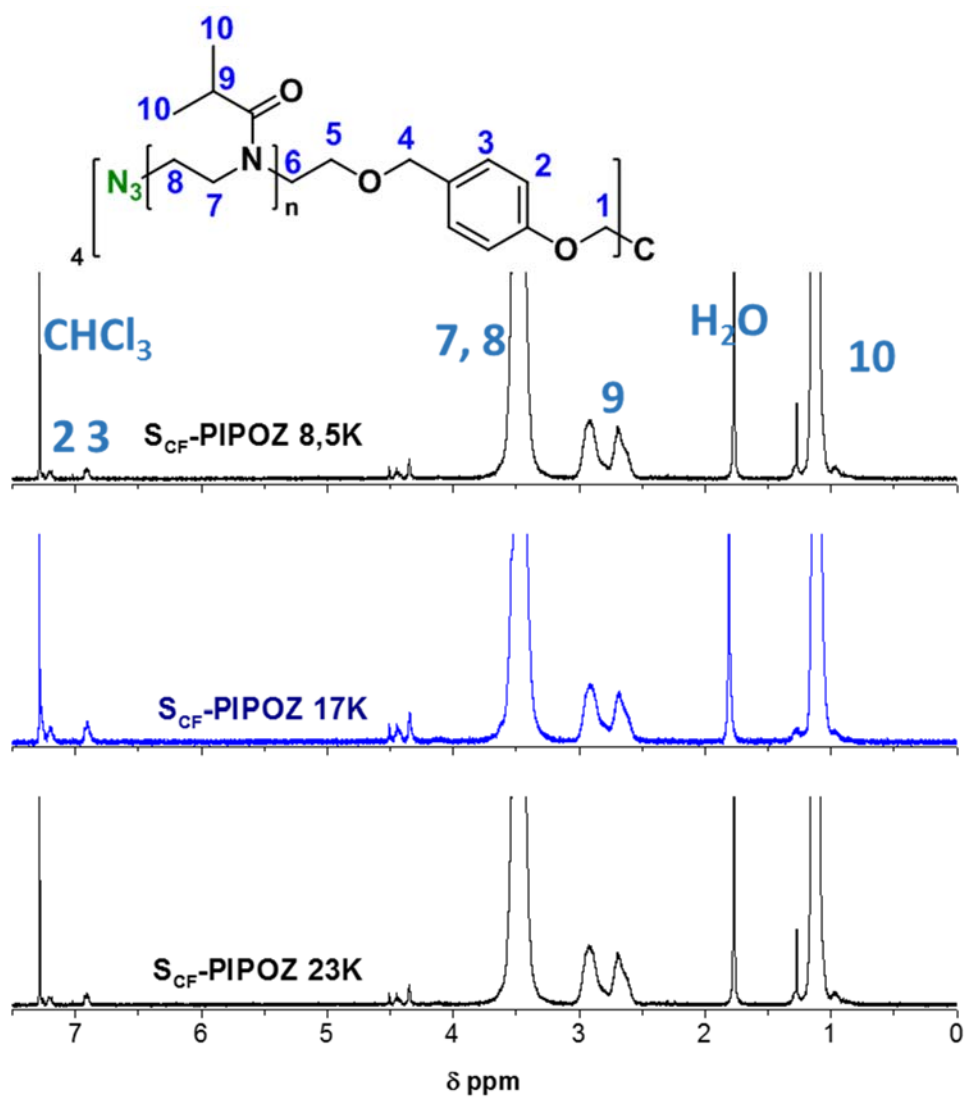


Figure SI-3. 10 ^1H NMR spectra of $\text{S}_{\text{CF}}\text{-PIPOZ-N}_3$ samples in CDCl_3 . The NMR spectra were recorded at room temperature, in 0.7 mL of CDCl_3 and with 10-15 g of polymers

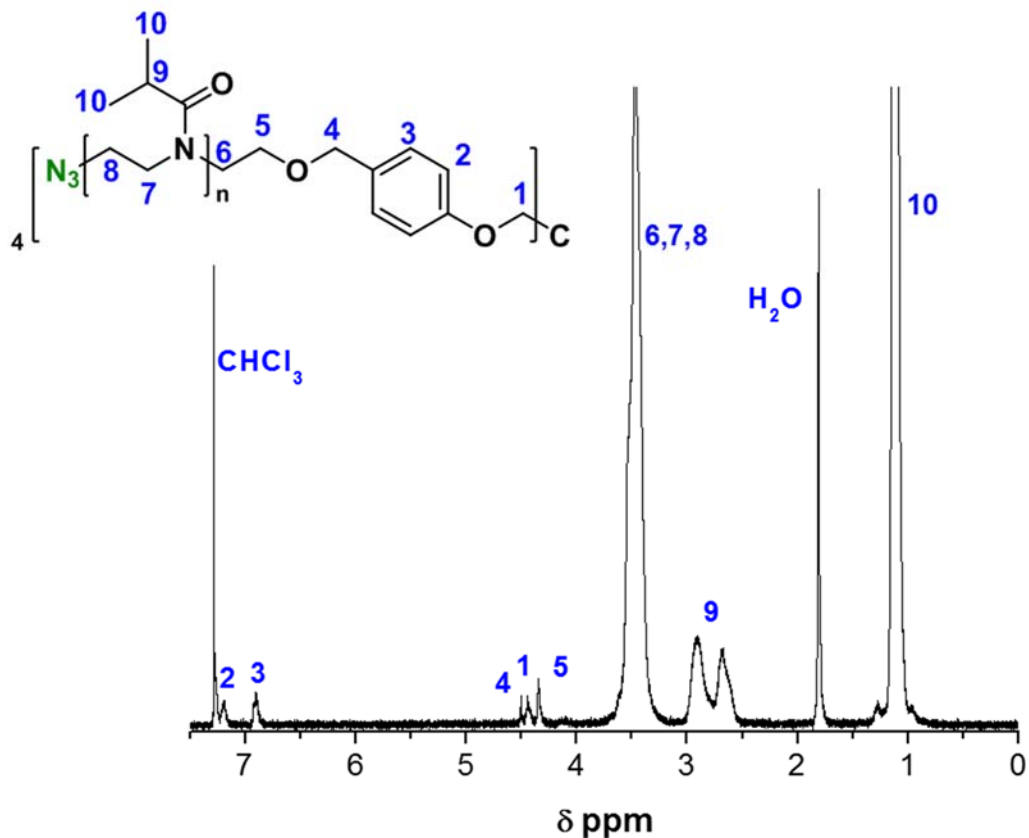


Figure SI-3. 11 Enlarged ^1H NMR spectrum of $\text{S}_{\text{CF}}\text{-PIPOZ-N}_3$ 17 K in CDCl_3 .

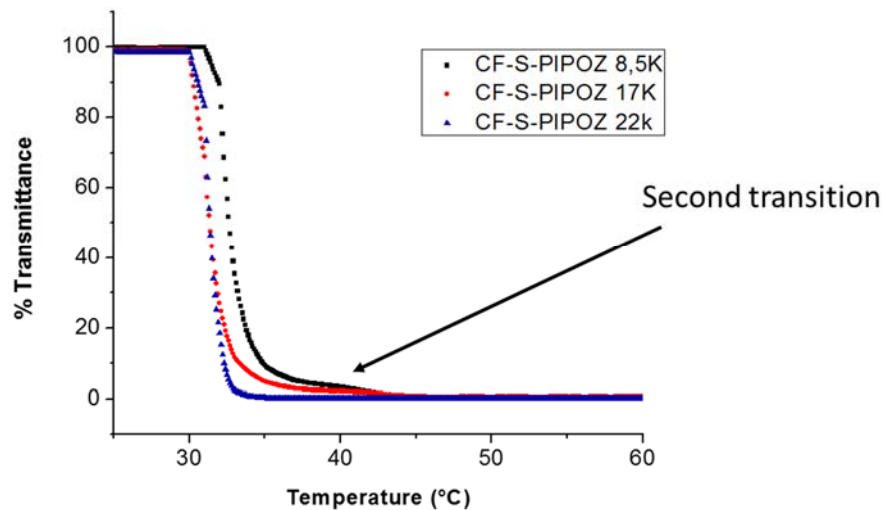


Figure SI-3. 12 Turbidimetry measurement curves of the $\text{S}_{\text{CF}}\text{-PIPOZ}$ s. The measurements were performed at a heating rate of $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ with a 1 g/L polymer solution. The arrow is depicted a second transition which is not obvious.

CHAPTER 4: Synthesis and investigation of the heat-induced phase transition of well-defined homo and hetero-star block poly(2-isopropylloxazoline)

4.1 Abstract

We demonstrate the synthesis of a set of well-defined 4 arms homo star-poly(2-isopropyl-2-oxaoline) S-PIPOZ, with molecular weights ranging from 5.8 to 9.8 kDa which have been prepared by the “coupling-onto” approach. A straightforward strategy based on the aminative reduction allowed us to perform a post-polymerization functionalization with a 5 kDa polyethylene glycol (PEG) chain on one of the S-PIPOZs. This functionalization yielded a well-defined 46 kDa hetero star-PIPOZ-block-PEG. Polymers have been characterized by proton Nuclear Magnetic Resonance (^1H NMR), Gel Permeation Chromatography linked to a Multi-Angle Laser Light Scattering (GPC-MALLS) and Ultraviolet absorption spectroscopy (UV). The solution properties of the S-PIPOZs and S-PIPOZ-b-PEG have been explored by light scattering (LS), by turbidimetry and by High-Sensitive Differential Scanning Calorimetry (HS-DSC) to determine their hydrodynamic radius (R_h), cloud point temperature (T_{CP}), transition temperature (T_M), and enthalpy ΔH , respectively. A comparison between the solution properties (T_{CP} , T_{MAX} and the enthalpy ΔH) of the star-polymers with those of precursors, and a linear PIPOZ (7.1 k)-b-PEG (5k) has been performed. Another comparison between S-PIPOZs bearing two different 4 arms cores, namely a tetrahedral and an orthogonal core, has been carried out. Linear and S-PIPOZs, L-PIPOZ-b-PEG and S-PIPOZ-b-PEG, isolated from aqueous solutions heated 15-20°C above the cloud point for 24 h, have been analyzed by Wide Angle X-Ray Diffraction (WAXS), Transmission and Scanning Electronic Microscopy (TEM; SEM).

4.2 Introduction

Recently, in the field of polymer chemistry, increasing attention has been directed towards the study of star-polymers. Star-polymers are composed of linear polymer-arms radiating from a central point also known as the «core». They represent the simplest class of branched macromolecules. Polymers of such architecture possess properties that are distinctly different from their linear analogues. Being more compact and having enhanced segmental density, star polymers tend to adopt behavior of hard sphere rather than statistical coil [1]. The smaller hydrodynamic radius of star-polymers leads to the lowering of the intrinsic viscosity [2, 3]. Star-polymers with multiple arms allow the production of entities with highly functionalized end groups comparing to their linear analogues. The high density of end groups can be leveraged to bind some prodrugs, or cell adhesion molecules (RGD peptide, streptavidin or folate [4]) or even polymer chains. In addition, their compact structure can reduce reptation through the pore with the size smaller than their hydrodynamic radius [3]. These properties make them potent candidates for drug delivery vehicles with long-term blood circulation. However, to be a suitable candidate for this purpose, the star-polymer must display a core-shell structure. In aqueous solution, amphiphilic star-block copolymers with a high number of arms behave more like a unimolecular micelle rather than aggregates [5, 6]. In contrast, amphiphilic star-block copolymers with low number of arms tend to aggregate together in the same fashion as linear amphiphilic block copolymers [4]. Moreover, the shape of the self-assembly is intrinsically linked to the architecture of the star-block copolymer. Amphiphilic star-polymers have been prepared by a combination of a wide variety of polymer-branches such as polyester (polycaprolactone PCL [5]; polylactide [4])-block-PEG or its derivatives, poly(*n*-butyl acrylate)-block-poly(dimethylamino ethyl methacrylate) [7], PCL-block-poly(methacrylic acid) [8]. All those sets of polymers are composed of a hydrophobic and hydrophilic polymer. However, amphiphilic star-block copolymer can also be achieved through the combination of thermoresponsive and hydrophilic polymers.

Thermoresponsive (or “thermosensitive”) polymers are macromolecules which exhibit a coil to globule transition in response to a change of its solution temperature resulting, macroscopically, in a change of the solution turbidity. There are two types of thermoresponsive polymers: the UCST-type and the LCST-type. The UCST (upper critical solution temperature) or LCST (lower critical solution temperature) is the maximum (UCST) or the minimum (LCST), respectively, of the phase diagram of a polymer/solvent mixture vs. temperature. To put it simply UCST-type polymers dissolve with increasing temperature, while LCST-type polymers need

lowering of the temperature to transition from an insoluble to soluble state. The most representative members among the LCST-type polymer, are the poly(N-isopropylacrylamide), the poly(N-vinylcaprolactam) and the poly(2-alkyl-2-oxazoline) with 2 or 3 carbons on their side chains. Poly(2-alkyl-2-oxazoline)s have been synthesized for the first time in the mid-sixties [9-12], but they have received a renewed interest in the early 2000s due to the introduction of microwave assisted synthesis and the thermo-responsiveness of some members of their family. The aqueous solutions of poly(2-ethyl-2-oxazoline) PEOZ and poly(2-isopropyl-2-oxazoline) PIPOZ (Figure 1) exhibit a phase transition temperature, respectively, at 60°C and 38°C [13, 14].

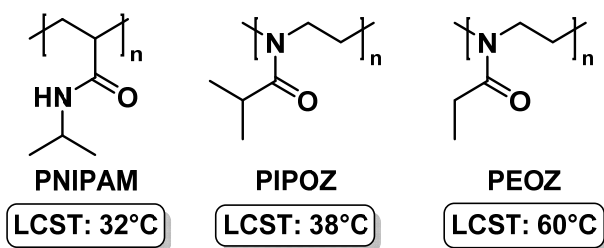


Figure 4. 1 Representation of some thermosensitive polymers. PNIPAM and PIPOZ are structural isomers.

The close value of the PIPOZ LCST to the human body temperature make it a potential candidate for biomedical application. In addition to these properties, poly(2-alkyne-2-oxazoline)s have shown low cytotoxicity, no significant trace of bioaccumulation and excellent urine excretion [15, 16]. PEOZ have even been approved as food additive by the FDA. In addition to hydrophobicity brought by the side chain, Luxenhofer *et al.* have shown that the high polarity of the poly(2-alkyl-oxazoline) given by the tertiary amide within the structure, gave an noteworthy increase of the non-water soluble drug loading capacity of poly(2-alkyl-oxazoline) based micelles. This increase is a result of dipolar interactions between the polymer chains and the polar moiety within the non-water-soluble drugs. There are few papers dealing with star-PIPOZ in the literature [17-21]. Among them, only one deals with the synthesis and characterization of amphiphilic hetero-star-block-copolymers based of PIPOZ and PEOZ. Rudolph *et al.* have prepared 8 arms hetero-star-block copolymers composed of PEOZ and PEG where the PEG is the inner and the PEOZ the outer part of the branches [22]. However, it is more convenient to have PEG chains as the outer polymer to ensure solubility and stealth behavior of the hetero star-block copolymer towards the plasmatic proteins and the immune system. PIPOZ has been copolymerized or

coupled with different kinds of polymers such as poly-(*N*-isopropyl acrylamide) PNIPAM [23], poly-(2-ethyl-2-oxazoline) PEOZ [24], and pullulan [25].

These two-mentioned block-copolymer and hetero-star block copolymers of poly(2-alkyl-2-oxazoline) were prepared either by sequential polymerization, the core-first method, esterification or by the copper catalyzed alkyne-azide cycloaddition CuAAC. Although they are efficient, these approaches are not convenient to functionalization with a broader range of macromolecules. For example, the polymerization of poly(2-alkyl-oxazoline) requires anhydrous conditions. This requirement makes the pathway unsuitable to functionalization with water-soluble macromolecules. On the other hand, the copper used as a catalyst in the CuAAC can be chelated by some macromolecules, complicating the purification process.

We recently explored the synthesis of the S-PIPOZs by both the “core-first” and the “coupling-onto” approach. We determined that the coupling-onto approach was the more convenient route to achieve well-defined star-polymers (Bullett *et al.*; See Chapter 3).

The design of the heterofunctional initiator is a key step to get the desired hetero star-block copolymer by the “coupling-onto” approach. It must be capable of specifically polymerizing the oxazoline and either capable of binding to the core or capable of allowing further post-polymerization functionalizations. Owing to the sensitive characteristic of CROP, the choice of the second moiety of heterofunctional initiator is crucial. First, it must be able to withstand the CROP conditions and second, it must not react with the living cationic species to prevent chain end or chain transfer reactions. Since the CuAAC is used as a strategy to prepare the S-PIPOZs by the coupling onto method, it is obvious that the initiator or the synthesized polymer should bear an azide moiety. Although the azide moiety is stable under the CROP conditions, it is wise to introduce it at the end of the polymerization as a quencher since it is easy to perform. Therefore, the initiator must directly have the coupling agent which allows the post-polymerization functionalization of the S-PIPOZ. Moreover, this functionality must be very flexible to enable a wide range of reactions. Primary amines are suitable candidates for the second functionality but it cannot be introduced as is since it reacts with the cationic oxazolium end group [26-28]. Then, the amine should be introduced as a precursor which upon conversion will generate it. Nitroaryl fits with those criteria and can be easily reduced to the corresponding amine either by metal salts such as Fe, Sn, or Zn or by catalytic hydrogenation. Besides, nitroaryls have been proved to be totally harmless for the CROP [29]. With the amine, functionalization can be performed for example either by amination, by coupling to a succinimide ester or N-alkylation.

In this paper, we synthesized S-PIPOZs composed of a 4-arms 3D core based on the same strategy that we described in a previous study (Bullet *et al.*, See chapter 3). In our previous study, the core was tetrahedral. Here, we synthesized an orthogonal core with well-separated arms. The aim of this study is to determine the effects of the architecture and the polymer composition on the star-polymers and copolymers properties, more precisely the phase transition temperature and crystallization, with the perspectives of designing some non-water-soluble drugs nanovehicles based on S-PIPOZs. These information were extracted through a comparative study of a set of well-defined polymers (α -azido- ω -nitro-PIPOZs, S-PIPOZs, a Linear PIPOZ-b-PEG and a S-PIPOZ-b-PEG) performed by DSC, UV, LS, SEM, TEM, and WAXS analyses. A comparison between the thermo-responsiveness was investigated by HS-DSC and UV spectroscopy of the newly synthesized S-PIPOZs bearing the orthogonal core and the previously reported S-PIPOZs (Bullet *et al.*; see Chapter 3) bearing a pentaerythrityl tetragonal core will be discussed. In this paper, we also provided a way to synthesize hetero-block star polymers of PIPOZ through the amination reduction which can be applicable to the ligation of a broad range of macromolecules.

4.3 Experimental part

4.3.1 Materials

All chemicals were purchased from Aldrich (Canada) and used as received, unless otherwise specified. Sodium sulfate anhydrous was purchased from Anachemia. PEG butyraldehyde was purchased from Nektar Therapeutics and used without further purification. Acetonitrile (ACN), Dimethylformamide (DMF), dichloromethane (CH_2Cl_2), tetrahydrofuran (THF), triethylamine (Et_3N), pyridine, ethyl acetate, hexane and methanol were purchased from Fisher (ACS grade solvents) and dried over alumina columns prior to use. Polymerization and anhydrous reactions were performed under dry nitrogen with predried flasks, using solvents dried over alumina columns. 2-isopropyl-2-oxazoline was prepared according to a reported procedure of Hoogenboom *et al* [2].

4.3.2 Methods

NMR Spectra were recorded on a Bruker Avance (400 MHz) spectrometer. Chemical shifts are referenced to the tetramethylsilane ($(\text{Me})_4\text{Si}$) signal as internal standard (^1H NMR spectra) or the residual solvent resonance (^{13}C NMR spectra). Accurate mass measurements were performed on a LC-TOF mass spectrometer from Agilent Technologies in positive electrospray mode. Protonated molecular ions $(\text{M}+\text{H})^+$ and/or sodium adducts $(\text{M}+\text{Na})^+$ were used for empirical

formula confirmation. FTIR-ATR spectra of the samples were obtained using a Thermo Scientific-Nicolet IS10 FT-IR spectrometer equipped with a smart iTR attachment. Regenerated Cellulose membranes (Spectrum Spectra/Pore) were used for dialysis. Ultrafiltration was performed at 60 psi with a Millipore Stirred Ultrafiltration Cell Model 8400 equipped with a Millipore 10 KDa Regenerated Cellulose Ultrafiltration Disc. An Eppendorf Centrifuge 5804 R was used for centrifugal separations. UV spectra were recorded on an Agilent 8453 diode array spectrometer equipped with a 89090 temperature controller.

4.3.3 Synthesis of the α -nitro- ω -azido-poly(2-isopropylloxazoline): L-PIPOZ.

2-isopropyl-2-oxazoline was added with a syringe to a Schlenk tube preheated at 80 °C (oil immersion bath) and charged with the initiator (compound **8**) in acetonitrile. The monomer consumption was followed by ^1H NMR spectroscopy by taking aliquots from the reaction mixture. The polymerization was quenched by addition of sodium azide (5 eq. per arms) when the polymerization degree reached 80%. The polymer was purified by dialysis against methanol for 24 hrs and against distilled water for 48 hrs with a 3.5 kDa MWCO regenerated cellulose membrane. Polymers were isolated by freeze-drying. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 8.21 (d, $J = 9.12$ Hz, phenyl ring: $\text{NO}_2\text{-C}(\text{CH})_2\text{-}$), 7.03-6.95 (m, phenyl ring: $\text{-O-C}(\text{CH})_2\text{-}$), 4.31-4.11 (br s, $\text{Ph-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-}$), 3.99-3.79 (br s, $\text{Ph-O-CH}_2\text{CH}_2\text{-O-}$), 3.76-3.16 (br s, $\text{-N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$), 3.07-2.51 (br d, $\text{CO-CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.48-0.09 (br s, $\text{CO-CH}(\text{CH}_3)_2$)

4.3.4 Synthesis of α -nitro star poly(2-isopropyl-2-oxazoline): S-PIPOZ.

S-PIPOZs were performed in degassed DMF (20 mL) at 60 °C by CuAAC using the core **6** and the N_3 functionalized linear PIPOZ (2 g; 1.5 eq/arms) in the presence of copper (I) bromide (10 eq/arms) and N,N,N',N'',N'' -pentamethyldiethylenetriamine (10 eq/arms). The reaction media was stirred under N_2 atmosphere for 5 days. The resulting polymer solution was diluted 5 times with methanol (v/v). It was purified by ultrafiltration over 10 kDa MWCO regenerated cellulose membrane. The remaining solution in the ultrafiltration cell, was washed 5 times with methanol (200 mL) then three times in water (200 mL). The polymer was recovered by centrifugal fractionation (see chapter 3) at 37 °C and 10000 rpm for 1 hr. The resulting pellet was dissolved in water and freeze dried. Yield: 80-90% (1.15-1.29 g). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 8.21 (d, $J = 9.02$ Hz, phenyl ring: $\text{NO}_2\text{-C}(\text{CH})_2\text{-}$), 7.49-7.38 (s, triazole ring: -CH-), 7.38-7.30 (s, biphenyl ring: -CH-), 7.03-6.95 (m, phenyl ring: $\text{O-C}(\text{CH})_2\text{-}$), 4.65-4.53 (s, $\text{-NH-CH}_2\text{-Ph}$), 4.52-4.40 (br s, $\text{Ph-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-}$), 4.28-4.16 (br s, $\text{Ph-O-CH}_2\text{CH}_2\text{-O-}$), 3.95-3.79 (m, biphenyl: -OCH_3), 3.50 (br s, $\text{-N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$)

), 3.04-2.53 (br d, CO-CH-(CH₃)₂), 2.37-2.17 (br s, Triazole-CH₂-CH₂-CH₂-CO-NH-), 1.43-0.85 (br s, CO-CH-(CH₃)₂).

4.3.5 Synthesis of linear PIPOZ2-block-PEG5k: L-PIPOZ2-b-PEG.

Triphenylphosphine (148 mg, 0.564 mmol) was added to a solution of L-PIPOZ2 (100 mg, 0.0141 mmol) in 50 mL of dry dioxane. The mixture was stirred at room temperature for 24 hr. Water (10 mL) was added to the solution to complete the reaction. The mixture was stirred for an additional 2 hrs. The solvent was distilled off under reduced pressure and the residue was dissolved in 50 mL of water leading to a milky solution. PEG butyraldehyde (281 mg, 0.0563 mmol) and NaCNBH₃ (35 mg, 0.564 mmol) were added to the mixture. The solution was stirred for 3 days. Fresh NaCNBH₃ (spatula tip) was added every day. The block-copolymer was purified by ultrafiltration over a 10 kDa MWCO regenerated cellulose membrane in MeOH (6x100 mL) and in water (4x100), successively. Yield: 78 % (m: 0.140 mg). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.22 (d, *J* = 9.35 Hz, phenyl ring NO₂-C(CH₂)₂-), 7.04-6.96 (m, phenyl ring -O-C(CH₂)₂), 4.23 (s, Ph-O-CH₂-CH₂-O-), 3.92-3.86 (m, Ph-O-CH₂-CH₂-O-), 3.79-3.60 (s, PEG: -O-CH₂-CH₂-), 3.76-3.16 (br s, -N-CH₂-CH₂-), 3.07-2.49 (br d, CO-CH-(CH₃)₂), 1.24-0.98 (br s, CO-CH-(CH₃)₂).

4.3.6 Synthesis of the heterostar PIPOZ2-b-PEG5k copolymer.

A degassed solution of S-PIPOZ2 (100 mg, 3.89 μmol) in 100 mL of MeOH (100 mL) was hydrogenated with 80 psi of hydrogen in a Parr bottle reactor for 3 days. Afterwards, the solution was filtered, first through a 0.22 μm PVDF filter then through a 0.02 μm nylon filter to remove the catalyst. Solvent was evaporated and the residue was dissolved in 50 mL of deionized water. PEG butyraldehyde (233 mg, 0.046 mmol) and NaCNBH₃ (9.8 mg, 0.155 mmol) were added to the solution. The mixture was stirred for 3 days. Fresh NaCNBH₃ (spatula tip) was added upon each day. The hetero star block-copolymer was purified by ultrafiltration over a 30 kDa MWCO regenerated cellulose membrane in water (5x100 mL) to remove the remaining Peg-butyraldehyde. Yield: 67 % (m: 0.125 g). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 3.64 (s, PEG: -O-CH₂-CH₂-), 3.59-3.28 (br s, -N-CH₂-CH₂-), 3.05-2.49 (br d, CO-CH-(CH₃)₂), 1.23-0.92 (br s, CO-CH-(CH₃)₂)

4.3.7 GPC-MALLS Measurements.

Gel permeation chromatography (GPC) analysis was performed with an Agilent 1100 series system consisting of an isocratic pump, a heated column chamber set at 40°C equipped with a set of Phenomenex columns (Phenogel 5u 10⁴ A and 5u 10³ A), a DAWN-EOS multiangle laser light scattering detector (laser beam: λ = 690 nm (Wyatt Technology.) and a T-Rex refractometer

detector $\lambda = 690$ nm (Wyatt Technology). The experiments were carried under the following conditions: injection volume, 100 μ L; flow rate: 3 mL/min; eluent: DMF with 0.01 M LiBr; temperature: 40°C. The dn/dc of linear PIPOZ, determined with the T-Rex refractometer, was 0.079 and 0.080 cm^3/g at 690 nm for, respectively, the homo L-PIPOZs and S-PIPOZs. The refractive index of the linear and star PIPOZ-block-PEG was 0.065 cm^3/g .

4.3.8 Determination of the M_n by UV-Vis absorbance.

The molecular weight M_n^{UV} of *s*-PIPOZ was obtained by UV spectroscopy of the core was calculated using the formula $M_n = \frac{w}{n_{\text{nitrophenoxy ether}}}$; where w is the polymer weight (g), $n_{\text{nitrophenoxy ether}}$ is the amount of core in the polymer chain (in mol) [30]. The amount of nitrophenyl ether moiety ($n_{\text{nitrophenoxy ether}}$) was calculated from the nitrophenoxy ether concentration determined by measuring the absorbance at 309 nm ($\epsilon_{309\text{nm}}=10719 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ in acetonitrile) of the polymer solution (2-4 mg of carefully dried polymer dissolved into 5 mL of acetonitrile). All experimental data are shown in supporting information (Figure SI-3.1).

4.3.9 Turbidity measurement.

Cloud point temperature (T_{CP}) was measured on an Agilent 8254A diode array spectrophotometer equipped with a temperature controller. All experiments were done with 1 g/L polymer solutions placed into a 1 cm cuvette. The heat rate was of 1°C/min and ranged from 25 to 80°C. The transmittance was set at 550 nm. The cloud point temperature (T_{CP}) was defined as 80% of transmittance.

4.3.10 High sensitivity scanning calorimetry HS-DSC.

HS-DSC measurements were performed with a VP-DSC microcalorimeter (MicroCal Inc.) at an external pressure of ca. 25 psi. Degassed polymer solutions (1.0 g/L) were introduced into the 0.52 mL cell pre-equilibrated at 10 °C for 1 hr. Heating/cooling scans were performed with a heating rate of 1 °C/min within the 10 - 90°C temperature range. Experimental data were analyzed with the help of the Origin based software supplied by the manufacturer. A water vs water scan was used as a reference. The endotherm maximum, T_{MAX} , was used as the temperature of phase transition and the area below the endotherm was taken as the enthalpy (ΔH) of the phase transition.

4.3.11 Dynamic Light Scattering (DLS).

DLS measurements were carried out on an ALV/LSE-5003/CGS-3 using a helium–neon laser operating at $\lambda = 632.8$ nm as a light source. Measurements were performed either in water

at 20 °C or in DMF/10 mM LiBr at 40 °C (conditions identical to GPC experiments) in the angular range θ from 40° to 130°. In order to obtain hydrodynamic radius R_h , first, diffusion coefficient D was determined from the slope of decay rates versus q^2 (where $q = \frac{4\pi n}{\lambda \sin \theta/2}$ is the scattering vector, n is the refractive index of the solvent). R_h was calculated by using the following Einstein-Stokes equation [31]; $D = \frac{k_B T}{6\pi\eta_s R_h}$ where k_B is the Boltzmann constant, T is the absolute temperature, η_s is the viscosity of the solvent.

4.3.12 Assessment of the crystallization of L-PIPOZ and S-PIPOZ homo and hetero-block (co)polymers in water.

Aqueous solutions of well-dissolved polymer samples (dissolution for 24 hrs at 4°C) were heated in a thermostated oil bath either at 56°C (L-PIPOZ and S-PIPOZ) or 75°C (L-PIPOZ-b-PEG and S-PIPOZ-b-PEG) for 24 hrs and 3 days. The solution was subsequently cooled to room temperature. Analyses on these samples were performed either on the solution and suspension (TEM), or on the resulted freeze-dried polymers (SEM and WAXS).

4.3.13 Transmittance Electron Microscopy

Electron micrographs of polymeric micelles were obtained on a Tecnai T12 transmission electron microscope operating at the accelerating voltage 80 kV. The samples for TEM were prepared as follows: 5 μ L of a solution or suspension was dropped on the 200-mesh copper grid and left to dry for couple hours. No staining was used for the contrast of the polymer.

4.3.14 Scanning Electron Microscopy (SEM).

The topography of the surfaces of freeze dried linear and star-polymers samples was examined by conventional field-emission scanning electron microscopy (FESEM) (JEOL JSM-7400F; JEOL Ltd, Tokyo, Japan) working at 1.5 Kv using low secondary electron image detector (LEI). All samples were coated with carbon.

4.3.15 Wide Angle X-ray Scattering (WAXS).

The X-ray diffraction patterns were measured on a Bruker D8/Discover diffractometer set in in q/q geometry and equipped with a sealed-Copper fine focus source (wavelength $\lambda = 1.54178$ Å) and a two-dimensional multiwire "HI-Star" gas chamber detector. The samples were measured in transmission mode. A small amount of polymer powder was set on a sample holder made with a Kapton foil that is transparent to the X-ray. The experiment consisted in the acquisition of one 2D frame with the source below the sample holder ($q = 0^\circ$) and the 2D detector set at $10^\circ 2q$ and

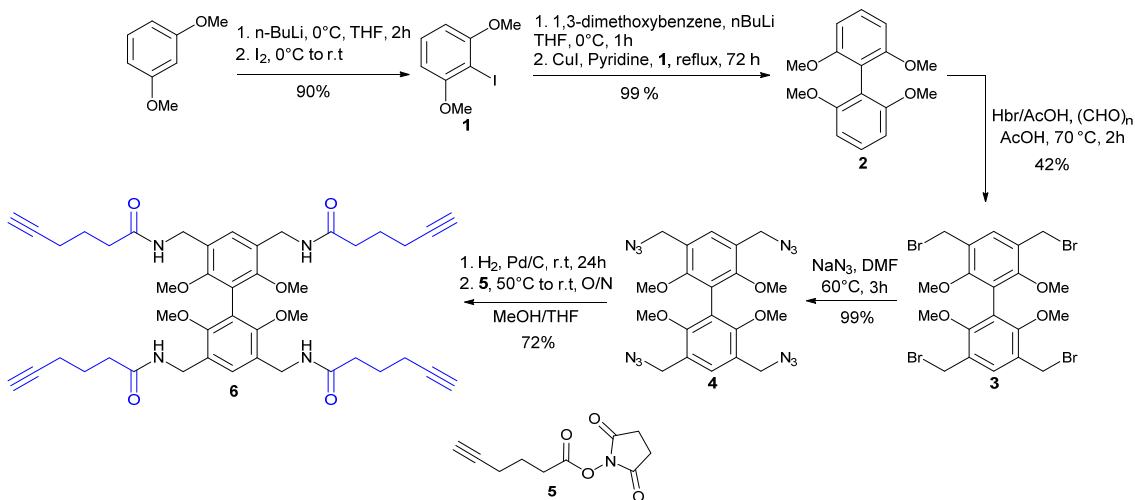
an exposure time of one hour for each frame. The 2D frame was integrated along the azimuthal angle to produce the final 1D diffraction powder pattern in the 3°–31° 2 θ range. Background correction was applied on the pattern using manually adjusted Bessel functions.

4.4 Results and discussion

4.4.1 Synthesis of the star-poly(2-isopropyl-2-oxazoline)

4.4.1.1 Synthesis of the orthogonal core-4-yne

Tetra-substituted biaryls, in ortho (2, 2', 6, 6') positions to the bond between the two phenyl rings, are very interesting compounds for designing cores for the synthesis of star-polymer. They tend to adopt a near orthogonal geometry through the atropisomerism induced by the hindered rotation of the phenyl rings. Moreover, depending on the nature of the substituents on the ortho-positions, they can be easily substituted in 3, 3', 5, 5' positions through aromatic nucleophilic substitutions. As it is the case for the pentaerythritol derivatives, a core bearing 4 arms with the arms spaced out from each of other can be afforded from substitutions on the 3, 3', 5, 5' positions. We prepared an orthogonal Core-4-yne **6** (*orth*-Core-4-yne) using this strategy. The synthetic pathway to the compound **6** is depicted in Scheme 1.



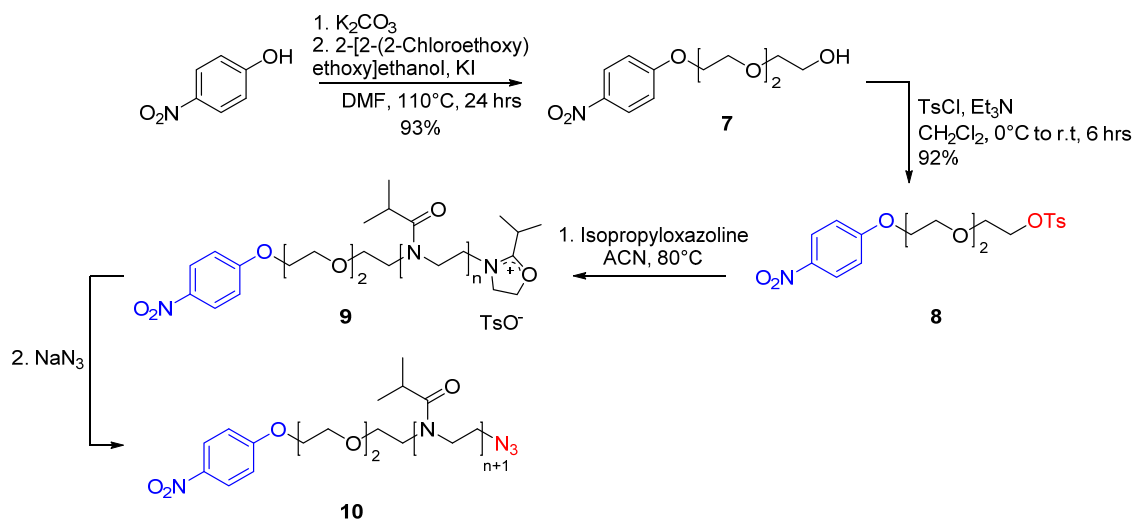
Scheme 4. 1 Synthetic pathway to the *orth*-Core-4-yne.

The biaryl **2** was obtained from Ulmann-type coupling between an in-situ generated organocopper and 2-iodo-1,3-dimethoxybenzene **1**. The 4 arms of the core were obtained first by a bromomethylation of the biaryl (compound **2**) followed by the subsequent displacement of the bromide **3** to the azide **4**. As for the tetrahedral core-4-yne (*tetr*-Core-4-yne), the introduction of the alkyne on the biaryl was performed via the reduction of the azide **4** to a primary amide

followed by an amidation with the succinimidyl ester **5** yielding to the *ortho*-Core-4-yne **6**. The overall yield of the reaction was 72%. The success of the synthesis was confirmed by ^1H NMR (Figure SI-4. 2). The ^1H NMR Spectrum presents all the characteristic signals arising from the *ortho*-Core-4-yne, namely the two lone protons of the phenyl of the biaryl core at δ 7.30 ppm, the benzylic proton at δ 4.50 ppm, the amide proton at δ 6.02 ppm, the methoxy proton at δ 3.53 ppm and the protons of the hex-5-ynyl chain between δ 2.38 and δ 1.90 ppm. The presence of the alkyne group was supported by FT-IR analysis through the presence of the strong $\equiv\text{C-H}$ vibrational band at 3069 cm^{-1} and the weak $\text{C}\equiv\text{C}$ vibrational band at 2116 cm^{-1} (Figure SI-4.3). Furthermore, the structure of the *ortho*-Core-4-yne was also determined by single-crystal X-Ray analysis on which the near orthogonality of the two benzyl rings can be seen (Figure SI-4. 4).

4.4.1.2 Synthesis of the linear PIPOZ samples

To obtain the telechelic linear PIPOZ, we developed a di-functionalized initiator (Scheme 4.2). The nitro-functionalized initiator (**8**, scheme 4.2) was synthesized in two steps and in excellent yield (80%), by alkylation of 2-[2-(2-chloroethoxy)ethoxy]ethanol with nitrophenol followed by the tosylation of the alcohol of the resulting compound **7**. The ^1H NMR spectrum of the α -nitro- ω -tosylated initiator presents on the signal in the aromatic region of the doublet of the tosylate ester at δ 7.79 and δ 7.33 ppm; and the doublet of 4-nitrophenoxyether moieties at δ 8.19 and δ 6.97 ppm.



Scheme 4. 2 Synthesis of the telechelic α - nitro- ω -azido-PIPOZ arms.

A set of telechelic α - nitro- ω -azido-PIPOZ arms (**10**, Scheme 4. 2) of different molecular weights were obtained by cationic ring opening polymerization of 2-isopropyl-2-oxazoline in dry

acetonitrile at 80°C initiated by the compound **8**. The azide end group was introduced by quenching of the propagating oxazolinium specie **9** upon addition of sodium azide when the conversion degree, determined by ¹H NMR analyses thanks to aliquots taken from the reaction mixture, reached 80-90%. Three different arm-polymers were synthesized which were named PIPOZ1, 2 and 3, respectively. Their structures were confirmed by ¹H NMR (Figure SI-4.6). NMR spectra evidence both the characteristic signal of the PIPOZ (namely a broad signal at δ 1.09 ppm due to the methyl proton of the isopropyl, a broad doublet attributed to the methine of isopropyl and a broad signal at δ 3.49 ppm assigned to the methylene proton of the main chain) and the 4-nitrophenoxyether (namely the two doublets in the aromatic region at δ 8.21 and at δ 6.99 ppm). The presence of the azide moiety was confirmed by the presence of the vibrational band at 2 100 cm⁻¹ (Figure SI-4.7). As shown in table 4.1, the functionalized polymers have very low polydispersities (1.02 < Đ < 1.09), monomodal distributions and symmetrical elution profiles (Figure SI-4.8).

Table 4. 1 Molecular weights (M_n and M_w) and dispersity (Đ) of linear PIPOZs

Entry	M _n g/mol			M _w g/mol ^c	Đ ^c
	UV ^a	NMR ^b	GPC		
L-PIPOZ 1	6 300	5 400	5 800	6 300	1.09
L-PIPOZ 2	7 200	7 400	7100	7 600	1.06
L-PIPOZ 3	13 200	12 100	9 800	10 000	1.02
L-PIPOZ2-b-PEG5k	-	12 900	15 200	16 800	1.1

^a Determined from the 4-nitrophenyl ether moiety absorption band at 309 nm. Measurements were performed in triplicate.

^b Determined ¹H NMR from the integration of the nitro-phenyl doublet signal at 8.21 and the methyl protons signal arising from the PIPOZ at 1.10 ppm using the following formula:

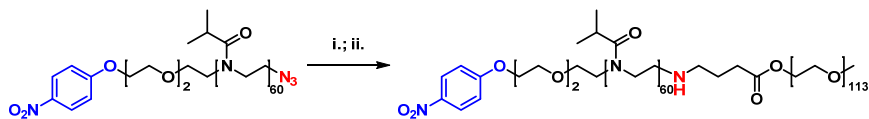
$$M_n = \frac{I_{\text{CH}_3 \text{ PIPOZ}} \times 2}{I_{\text{CH nitro phenyl}} \times 6} \times M_{\text{IPOX}}$$

^c Determined by GPC-MALLS analysis

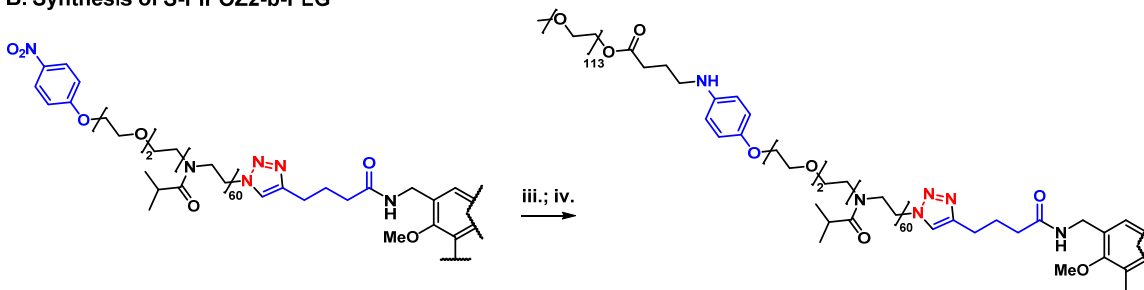
Molecular weights M_n ranged from 5.8 to 9.8 kg/mol. In addition, the values of M_n determined by UV and ¹H NMR through the 4-nitrophenyl ether end group analysis corroborate

the ones determined by GPC. These results confirm the high content of 4-nitrophenyl end-group within the polymer samples therefore the virtually absence of chain transfer reactions (Table 4.1). Encouraged by this success, we synthesized a L-PIPOZ-b-PEG via a two steps reaction involving a Staudinger reduction of the ω -azide of the L-PIPOZ2 followed a condensation of a 5 kDa PEG butyraldehyde by an aminative reduction (Scheme 4.3, top). After purification by ultrafiltration over 10 kDa MWCO regenerated cellulose membrane, the success of the coupling was support ^1H NMR analysis. ^1H NMR spectrum presents the typical pattern of the PIPOZ and ascertains the presence of the signal of the methylene of the PEG main chain at δ 3.7 ppm. The coupling was also confirmed by the shifting of the GPC trace towards the higher molecular weight region (Figure SI-4.8). No remaining polymer traces belonging to neither the PEG nor the PIPOZ were detected. The molar mass M_n obtained from the GPC analysis was 15.2 kDa. This value is higher than the expected polymer molecular weight. This deviation can be explained by the elimination during the ultrafiltration process of the short polymer chain by reptation through the membrane. The determination of the molecular weight by ^1H NMR via the nitrophenyl ether end group analysis gave a relatively close M_n value of 12.9 kDa.

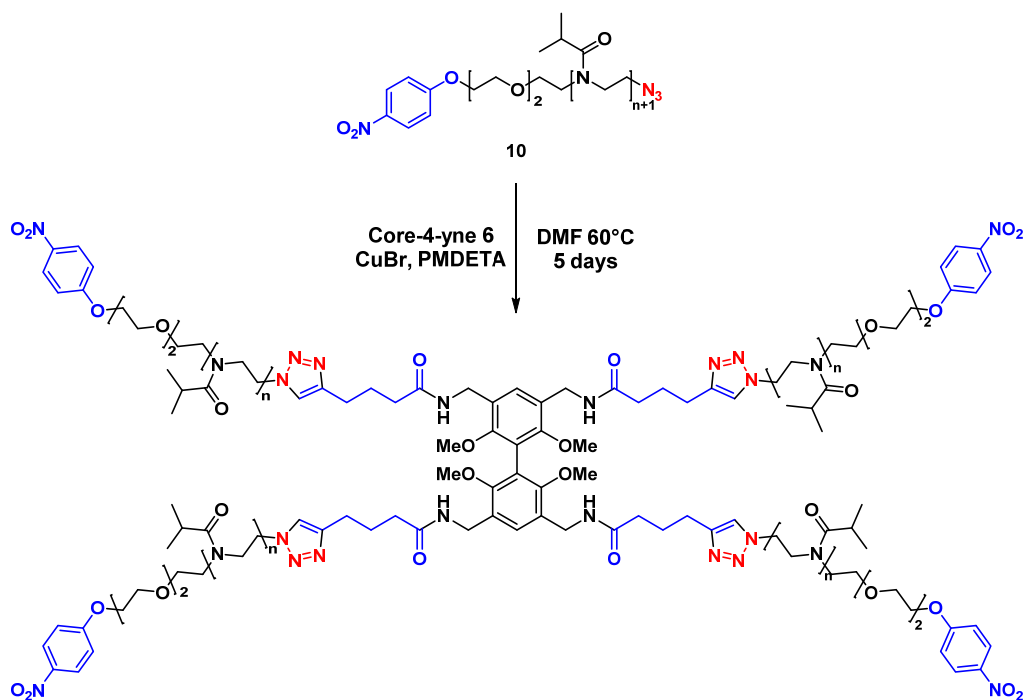
A. Synthesis of L-PIPOZ2-b-PEG



B. Synthesis of S-PIPOZ2-b-PEG



Scheme 4. 3 Synthesis of L-PIPOZ-b-PEG (route a.) and S-PIPOZ-b-PEG (route b.). **Conditions:** i. $\text{P}(\text{Ph})_3$, Dioxane, r.t, 24hr then water 2h; ii. PEG butyraldehyde, NaCNBH_3 , water, r.t, 3 days. iii. H_2 , 80 psi, Pd/C, MeOH, r.t, 3 days; iv. PEG butyraldehyde, NaCNBH_3 , H_2O , 3 days. Note: Only a quarter of S-PIPOZ-b-Peg is represented for the sake of clarity.



Scheme 4. 4 Synthesis of S-PIPOZ by the “coupling-onto” approach

4.4.1.3 Coupling the PIPOZs- arms to the *ortho*-Core-4-yne by the “coupling-onto” approach

Synthesis of the S-PIPOZ are described in the Scheme 4. 4. Coupling between the linear telechelic α -nitro- ω -azido-PIPOZ arms **10** (L-PIPOZ1, 2 and 3) and the core **6** was performed by CuAAC following a reported procedure (Bullet *et al.*; Chapter 3). Briefly, the *ortho*-Core-4-yne was mixed with 1.5 eq of functionalized arms per branch of core and a high excess of CuBr (10 eq per branch of core) in DMF at 60°C for 5 days. The polymer solution was washed by repeated ultrafiltration over 10 KDa cut-off membranes in methanol then in water to remove both the chelated copper bromide and the free polymer arms. S-PIPOZs were isolated precisely by the double centrifugal fractionation at 36°C for 1 hr (Bullet *et al.*; Chapter 3). This method takes advantage of the difference of the phase transition temperature of two polymers in a heated aqueous polymer solution during a centrifugation process to purify thermosensitive samples. The resulting S-PIPOZs were recovered by freeze drying of the solution of the pellet. No presence of arms has been monitored by GPC after those purifications steps (Figure SI-4.8). Only one monomodal distribution peak was detected for all the resulted S-PIPOZ (S-PIPOZ 1, 2 and 3). Moreover, all the samples exhibited a lower elution time than the arms precursors which indicated that higher molecular weights compound were obtained. ^1H NMR spectra of the S-PIPOZs (Figure 4.2) showed the presence of the proton of *ortho*-Core-4-yne within all synthesized

samples namely the lone biaryl protons signal at δ 7.34 ppm, the signal of the methoxy and the benzyl group at δ 3.86 ppm and at δ 4.58 ppm respectively, the signal of one of the three methylene protons of the core branch at δ 2.27 ppm. The achievement of the coupling was ensured by the presence of the signal of the triazole proton at δ 7.43 ppm.

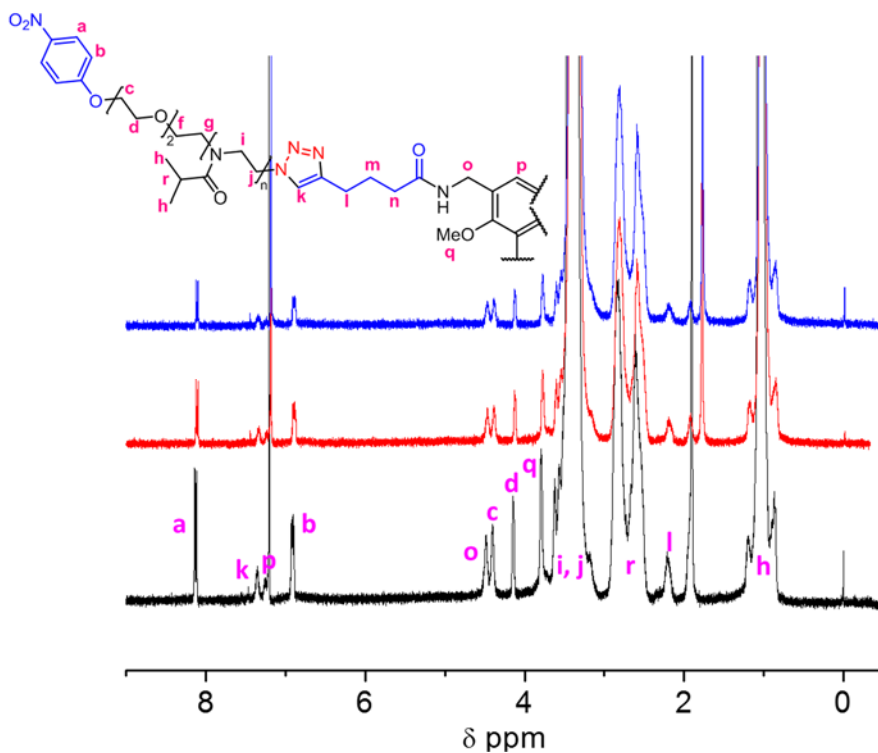


Figure 4. 2 ^1H NMR spectra of S-PIPOZ1 (black), S-PIPOZ2 (red) and S-PIPOZ3 (blue). The NMR spectra were recorded with 14-17 g/mL polymer solution in CDCl_3 at r.t. Only a quarter of the molecule is represented for the sake of clarity

Although the dispersity was very narrow, molecular weights M_n obtained by GPC for the homo S-PIPOZ were ranging from 19 and 36 kDa for S-PIPOZ1 and S-PIPOZ3, respectively (table 4. 2). These M_n values were inferior to the expected ones as evidenced by the low values obtained for the number of branch $f = (M_{n\text{S-PIPOZ}} - M_{n\text{CORE}}) / M_{n\text{L-PIPOZ}}$ which range between 3.1 and 3.5. These values suggest that incomplete coupling may have occurred. To get a definite answer about f , we probed the presence of free terminated alkyne by performing a fluorogenic click chemistry using an azido anthracene. This molecule is not fluorescent but has the ability to highly fluoresce upon CuAAC with a terminated alkyne [32]. S-PIPOZ 1, 2 and 3 were incubated at 40°C in the presence of the anthracene azide, CuBr and PMDETA for 24 hrs. The polymers were then purified by dialysis against THF, methanol and water. S-PIPOZs were dissolved in THF and exposed to a UV lamp

(Figure SI-4-14). Contrary to the positive control, no significant fluorescence has been visually detected upon illumination with the UV-light. This result is suggesting that all the core-arms have been functionalized by the α -nitro-L-PIPOZ. The molecular weights M_n determined by ^1H NMR analyses were higher than those obtained by GPC. They ranged from 24.4 kDa and 5 kDa. The higher results obtained by this method come from the difficulty in integrating the nitrophenyl aryl proton with increasing of the molecular weight. Although the four arms of the core are well apart from each other, the absence of a spacer between the core and the arms, as for the previous study (see Chapter 3), may limit the accessibility of the PIPOZ to the alkyne chain. This lack of accessibility favors the coupling of shorter PIPOZ chains resulting in 4-arms S-PIPOZs with molecular weights lower than the expected one.

Table 4. 2 Molecular weights (M_n and M_w) and dispersity (\mathcal{D}) of homo and hetero-S-PIPOZs.

Entry	M_n (g/mol)		M_w (g/mol) ^b	\mathcal{D}^b	f
	NMR ^a	GPC			
S-PIPOZ1	24 400	19 000	19 400	1.02	3.1
S-PIPOZ2	34 500	25 700	26 000	1.02	3.5
S-PIPOZ3	51 000	36 000	36 500	1.02	3.6
S-PIPOZ2-b-PEG5k	-	46 000	47 000	1.03	4.0

^a Determined ^1H NMR from the integration of the nitro-phenyl doublet signal at 8.21 and the methyl protons signal arising from the PIPOZ at 1.10 ppm using the following formula:

$$M_n = \frac{I_{\text{CH}_3 \text{ PIPOZ}} \times 2}{I_{\text{CH nitro phenyl}} \times 6} \times M_{\text{PIPOZ}}$$

^b Determined by GPC-MALLS analysis

Following the L-PIPOZ-b-PEG model, a heterostar PIPOZ-b-PEG was synthesized via the reduction of the nitro compound by catalytic hydrogenation followed by condensation of a 5 kDa PEG butyraldehyde by aminative reduction. The desired hetero S-PIPOZ-b-PEG was obtained in 67% yield (Scheme 4.3 b) after purification by ultrafiltration over a 30 kDa MWCO regenerated cellulose membrane and isolation by freeze-drying. The structure of the copolymer was confirmed by ^1H NMR analysis. The ^1H NMR spectrum evidence signals of the characteristic protons of both polymers, namely the signal of the methylene proton of the PEG main chain at δ 3.64 ppm, the

broad singlet corresponding to the methylene proton signal of the PIPOZ at δ 3.47 ppm, the broad doublet corresponding to the signal of the methine proton of the PIPOZ isopropyl side chain between δ 2.05-2.49 ppm, and the broad singlet corresponding to the two methyl protons of the PIPOZ. The GPC elution profile of the S-PIPOZ-b-PEG (Figure SI-4.8) displays a shorter elution time than to the profile of the S-PIPOZ2 precursor (or even to the S-PIPOZ3 which has the highest molecular weight among the homo S-PIPOZs). This confirms that a polymer with a higher molecular weight was formed. The M_n of the resulted S-PIPOZ-b-PEG was found to be 46 KDa corresponding to a 20 kDa increase (ligation of 4 PEG chains) from the M_n of the S-PIPOZ precursor. This result, in addition to fluorogenic experiment, constitutes an irrefutable proof of the success of the synthesis and the achievement of a well-defined 4 arms star-polymer. Having the desired set of well-designed L-PIPOZs and S-PIPOZs, the next step of this study is to evaluate their solution properties.

4.4.2 Solution properties of linear and star PIPOZ.

4.4.2.1 Dynamic Light Scattering of linear and star PIPOZ.

For all linear and star polymers, hydrodynamic radii were calculated from diffusion coefficients obtained in water at 20 °C and in DMF/10 mM LiBr at 40 °C (Table DLS1). The processed light scattering data can be found in Figure SI-4.12. One can see that according to the size of linear and star PIPOZ, both series of polymers exist as unimers (in water and organic media) without forming supramolecular structures. Interactions between macromolecules could be expected in water first, due to the hydrophobic nature of the nitrobenzene moiety on the end of both the linear and star PIPOZ (1, 2 and 3), and second due to hydrophobic core of the latter. The size of the unimers of the linear PIPOZ is quite equal in water and in DMF. This suggested that the quality of two solvents is the same for the linear PIPOZ in the studied range of molecular weights. Only L-PIPOZ2-b-PEG5k demonstrated slightly higher R_h in water compared to DMF. Contrary to the linear polymers, hydrodynamic radii of the stars (including STAR2PEG5k) in water were slightly larger than in DMF (Table 4.3). This indicated that polymer-solvent interactions, inside the polymer coil of the star PIPOZ, were more favorable in water than in DMF, and this despite the presence of the hydrophobic core and the end groups (in case of homo-star PIPOZ). Similar results were observed for the linear poly(2-ethyl-2-oxazoline) (PEOZ): hydrodynamic radius determined in THF (organic media) was almost half of those compared to these measured in water (molecular weights of PEOZ was 10^5 - 10^6 g/mol) [33].

Table 4. 3 Diffusion coefficients (D) and hydrodynamic radii (R_h) of linear (arms) and star PIPOZ obtained in water and 20 °C and DMF/10 mM LiBr at 40 °C.

Entry	DMF		H ₂ O	
	D·10 ⁻⁶ , cm ² /s	R _h , nm	D·10 ⁻⁶ , cm ² /s	R _h , nm
L-PIPOZ1	1.61	2.0	1.08	2.0
L-PIPOZ2	1.29	2.5	0.87	2.5
L-PIPOZ3	1.18	2.7	0.72	2.7
L-PIPOZ2-b-PEG5k	1.09	2.9	0.61	3.2
S-PIPOZ1	1.12	2.9	0.55	3.5
S-PIPOZ2	0.84	3.8	0.47	4.0
S-PIPOZ3	0.75	4.3	0.37	5.1
S-PIPOZ2-b-PEG5k	0.63	5.1	0.33	5.7

To gain insight into the quality of the solvent we calculated the exponent ν according to $R_h = A \cdot M_w^\nu$ (A is a constant) [33-35]. This value can vary from 0.33 for a hard sphere and up to 1 for rigid rods. The values of ν for polymer coil usually are in the range 0.5-0.6 depending whether the solvent is θ or good [35]. Based on the estimations (Table 4.3), one can conclude that molecular weight dependence of R_h of S-PIPOZ in DMF is indistinguishable from its linear analogue. The same result was reported for linear and 4-arm poly(*tert*-butyl acrylate) [36]. In our case, the exponent ν was close to 0.6 for both the linear and the star polymers. This indicated that water and DMF were good solvents for these polymers. A very precise value of ν was difficult to determine from the equation $R_h = A \cdot M_w^\nu$ since we used only three experimental points. However, we estimated R_h of the linear PIPOZ with molecular weights M_w 19 400, 26 000 and 36 500 g/mol (M_w of S-PIPOZs). They were found to be 4.3, 5.1 and 6.2 nm, correspondingly. The estimated size of the linear analogue was ca. 20% bigger than for the star shaped samples (Table 4.3). This result is explained by the more compact structure of the star polymers caused by the joint point (core), which partially prevented free motion of polymer chains compared to its linear analogue [35, 36].

The knowledge of hydrodynamic radius of the polymers that could have potential use for pharmaceutical applications is critical [33]. Thus, for the fast choice, a polymer with desired size,

it is necessary to know the relationship between the molecular weight of the polymer and its hydrodynamic radius/radius of gyration. The hydrodynamic radius of S-PIPOZ-b-PEG is reasonably higher than for homopolymer S-PIPOZ2, showing an increasing molecular weight of the polymer due to attachment of PEG block. R_h was found to be 5.1 and 5.7 nm respectively in DMF and water.

4.4.2.2 Thermal behaviour of linear and star PIPOZ in water.

Thermosensitive behavior of polymers was studied with 1 g/L solutions simultaneously by microcalorimetry (HS-DSC) and turbidimetry. DSC endotherms of the linear polymer (Figure 4.3) showed relatively broad distributions with the T_{MAX} ranging from 39 to 41.5 °C and the enthalpy of phase transition from 1.3 to 1.4 kcal/mol (Table 4.4). T_{CP} of L-PIPOZs, determined at 80% of transmittance, was found to be 37-38 °C. Both T_{MAX} and T_{CP} decrease with the increase of molecular weight. Contrary to the L-PIPOZ homopolymers, DSC endotherm of L-PIPOZ2-b-PEG displayed two transitions with the first maximum located at 38.1 °C and the second one at 54.4 °C. The total enthalpies obtained via integration of the endotherm profile were 0.75 and 1.04 kcal/mol for a concentration of diblock copolymer 1 and 1.7 g/L (Figure SI-4.9), correspondingly. The fact that ΔH of L-PIPOZ-b-PEG is less than the value for its homopolymer L-PIPOZ2 indicates incomplete dehydration of PIPOZ due to the retention of water molecules facilitated by the PEG block in its vicinity. These two peaks on DSC profile could be considered as a two-steps phase transition and it reflected the confinement of the PIPOZ chains. Upon heating, the diblock polymer aggregated into amphiphilic micelles with a core composed of the PIPOZ block and an outer layer facing the water phase composed of PEG. In the first transition step (first endotherm) occurs the dehydration of part of PIPOZ chain which is far from PEG block and in the middle of the formed micelles. This leads almost to the same transition temperature and profile of the first peak as for its linear analogue PIPOZ2. The second endotherm resulted from dehydration of the remaining part of PIPOZ chain, which is next to PEG block. Although, as it was mentioned above, the dehydration of PIPOZ block is still incomplete.

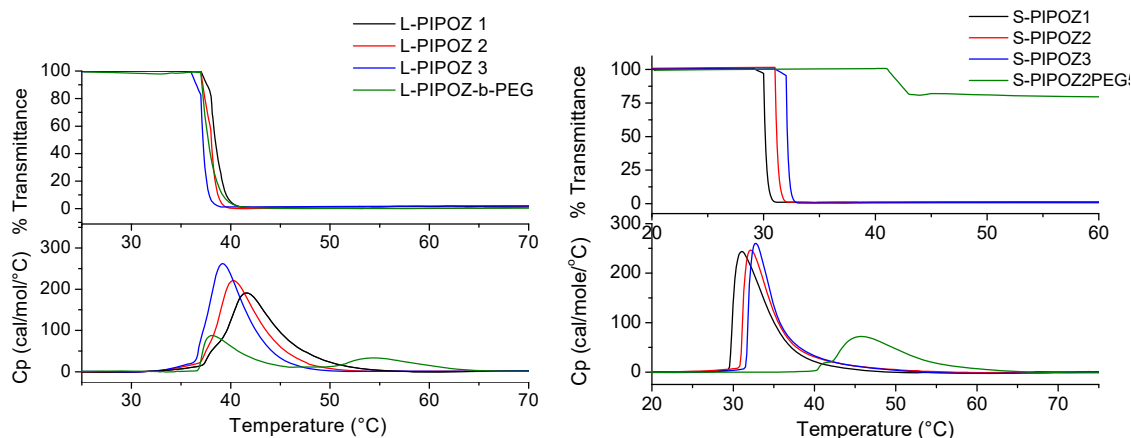


Figure 4. 3 Turbidimetry measurement curves (on the top) and HS-DSC thermograms (on the bottom) of L-PIPOZ (left) and S-PIPOZs (right) samples. Concentration of polymer solutions were 1 g/L.

Table 4. 4 Summary of the thermal behavior of the L-PIPOZs and S-PIPOZs aqueous solutions

Entry	T_{cp} °C ^a	T_{max} °C ^b	ΔH kcal/mol ^c
L-PIPOZ 1	38.0	41.5	1.32
L-PIPOZ 2	37.4	40.3	1.29
L-PIPOZ 3	37.0	39.2	1.38
L-PIPOZ-b-PEG	37.2	38.1 54.4	0.75
STAR PIPOZ1	30.0	31.0	1.29
STAR PIPOZ2	31.0	31.2	1.26
STAR PIPOZ3	32.0	32.8	1.16
S-PIPOZ-b-PEG	43.1	45.8	0.72

Contrary to L-PIPOZ, S-PIPOZ demonstrates a much sharper endotherm on the DSC plot and lower absolute values of ΔH with no pronounced dependence on molecular weight. Similar results were observed earlier [Bullet *et al.* (chapter 3)]; [37]. For example, for dendrimer-like star PNIPAM [37], the smaller changes of endothermic enthalpy were explained by initially lower hydration of

PNIPAM caused by compact structure of star polymer, that hindered water molecules to enter inside polymer coil. In our case, the decrease (15-25 %) of the absolute value of the enthalpy and the sharpening DSC endogram could be due to partial dehydration of PIPOZ near the hydrophobic core and nitrobenzene end groups. Another remarkable difference in thermoproperties between linear PIPOZ and its 4-arms stars was the lower values of T_{CP} and T_{MAX} of starPIPOZ. Those results could be explained, firstly, by the 4-fold increase of the molecular weight of star polymer and, secondly, by effect of its partial polymer dehydration. Such a partial dehydration of star polymers can be considered as the first step to a complete polymer dehydration. It facilitates the phase transition of the polymer, and thus the decrease of polymer transition temperature.

Striking difference in heat-induced phase transition was observed for S-PIPOZ2-*b*-PEG5k. Firstly, the solution stayed transparent not only at low temperatures, but throughout the full range of elevated temperatures, which is confirmed by the significant transmittance (ca. 75%) above T_{CP} (Figure 4.3, top). In this case PEG acts as stabilizer of the smaller-sized aggregated particles above phase transition. T_{CP} and T_{MAX} of S-PIPOZ2-*b*-PEG5k were ca. 15 °C higher, than the ones of the homopolymer S-PIPOZ2. This result is explained by the presence of hydrophilic PEG block that shifts T_{CP} to higher temperatures [38]. For most of LCST-type thermosensitive heteropolymers having a hydrophilic block, transition enthalpy ΔH is significantly lower than its homopolymer analogue [24, 27, 38-42]. In our case, the ΔH of S-PIPOZ2-*b*-PEG5k is only ca. 57 % (0.72 kcal/mol) that of S-PIPOZ2 (Table 4.4). This results from incomplete dehydration of PIPOZ above the phase transition temperature. Constant attraction of water molecules near the PEG chains prevent the PIPOZ from fully demixing, even at elevated temperatures. The most interesting result obtained from DSC is the non-unimodal profile of the endotherm (Figure 4.3). Such a two-step phase transition can be explained by consecutive dehydration of PIPOZ within the star polymer. At first, PIPOZ segments located closer to the hydrophobic core first undergo a phase transition and followed by the rest of the chains next to the hydrophilic PEG block. LS measurements performed at 42.5 and 70 °C revealed two populations of particles with R_h of ca. 30 and 190 nm. Based on the rough estimation of R_g/R_h ratio (<1) and densities of the biggest aggregates (<0.02 g/cm³), we concluded that, due to the PEG stabilization, the bigger particles form loose sphere-like morphologies. Within the latter, the PIPOZ chains can be partially hydrated. Analogous LS measurements with 1 g/L solution of L-PIPOZ2-*b*-PEG5k were not performed because of its high turbidity. The latter fact indicates that in the L-PIPOZ2-*b*-PEG

diblock copolymer PEG does not prevent the polymer from aggregating into big and dense nanoparticles at high temperatures.

4.4.2.3 Effect of the core architecture on the phase transition

We wanted to examine by DSC the effect of the core on the phase transition temperature. For that, we compared two different S-PIPOZs bearing the *orth*-Core-4-yne and a tetrahedral pentaerythrityl core (*tetr*-Core-4-yne) from a previous study (Bullet *et al.*; Chapter 3). Both polymer bear as an arm the same α -nitro-PIPOZ. We compare them also to their arms precursor. Figure 4.4 presents the results of this study. Independently from the core, all S-PIPOZs display lower T_{MAX} comparing to the linear precursor. The T_{MAX} of the S-PIPOZ*30 kDa (bearing the tetrahedral core) is 30.4°C whereas the T_{MAX} of S-PIPOZ 36 and 26 kDa, bearing an *orth*-Core, are 32°C and 31.0°C, respectively. The increase of T_{MAX} with the molecular weight between the S-PIPOZ 36 and 26 kDa is due to the decrease of the hydrophobic chain end contribution with the increase of molecular weight [43-45]. The lower value of T_{MAX} for the PIPOZ bearing the tetragonal core is due to the greater hydrophobic contribution of the latter on the phase transition. Indeed, the core-4-yne is composed of 4 phenyl whereas the *orth*-Core-4-yne is composed of two.

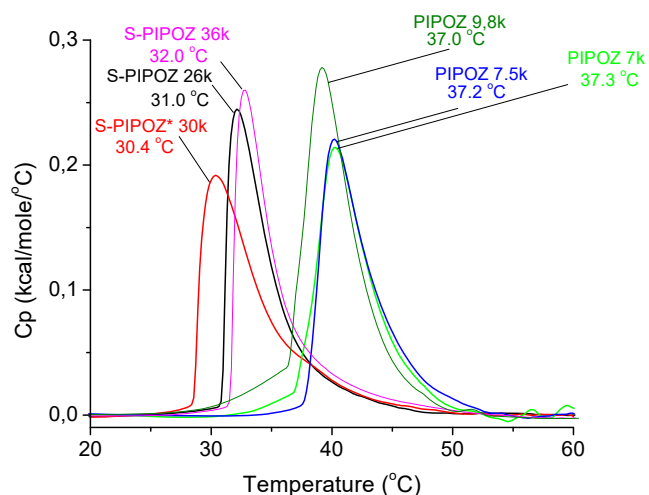


Figure 4. 4 HS-DSC thermograms of α -nitro-S-PIPOZ bearing two different cores. The sample marked with an asterisk (red curve) is the one bearing the *tetr*-Core-4-yne. Experiments were performed with 1 g/L of polymer solution at a heating rate of 1°C/min.

In summary, the effect of the core of S-PIPOZ on the phase transition temperature is actually similar to the effect of the end chain observed for the linear thermosensitive polymer. As

for the linear PIPOZ and the linear PNIPAM, a hydrophobic core will decrease the T_{MAX} but only to a certain extent.

This latter statement is supported by the increase of the T_{MAX} from 30.4°C to 36.1°C (Table SI-3.1 chapter 3) for S-PIPOZ bearing the same tetrahedral core but with different end groups composed of α -nitro phenoxyether and α -methyl, respectively. Moreover, the molecular weight of the PIPOZ α -Me-S-PIPOZ is 22 kDa. This result showed that the core had almost no effect on the phase transition temperature. The LCST of PIPOZ is 38°C [13]. The near absence of hydrophobic effect, in our case, could be explained by the shielding of the core by the PIPOZ chains surrounding it towards the aqueous phase. These observations were also reported for combs of poly(2-alkyl-oxazoline) [46].

4.4.2.4 Assessment of the crystallization of the polymer samples

We wondered if an extended heating above the transition temperature of the S-PIPOZ would lead to crystallization, as is the case for the L-PIPOZ [47, 48]. Visually, solutions of S-PIPOZ after 1 day of heating at 56 °C demonstrated a clear precipitate that did not disappear, even after long storage at 4 °C (Figure SI-13). In contrast, the S-PIPOZ2-*b*-PEG5k solution after 1 day (and even 3 days) of heating at 75 °C remained clear. Transmission electronic micrographs (Figure SI-4.14) taken after 1 day of heating at 56 and 75 °C, respectively, demonstrated that both samples formed two different morphologies of particles: long micron-sized rods and small nano-sized spheres (note, that we did not consider the bulk precipitate of S-PIPOZ2). The structures of star PIPOZ2 were very polydisperse: the width of the rods ranged from 40 to 150 nm and the diameter of the spheres varied from 10 to 75 nm. Star PIPOZ2 PEG5K self-assemble into rods with the width of 25-40 nm, and diameter of the spheres is ca. 15-40 nm. Smaller-sized and narrower polydisperse objects were formed by the latter polymer. The near absence of precipitate after heating, was due to the stabilization and the anti-fouling properties conferred by the PEG to the diblock star polymer. Scanning electronic micrographs of the bulk precipitate of S-PIPOZ2 and L-PIPOZ2 showed fibers, which agglomerated into micron-sized spheres.

To ensure the crystallinity of the copolymers after extended heating above transition point, XRD analysis was performed and compared to those of the homopolymers. The diffractograms of the lyophilized samples L-PIPOZ, S-PIPOZ and L-PIPOZ-*b*-PEG showed several well pronounced peaks located at $2\theta=8.2^\circ$, 16.7° , 18.3° , 21.5° (Figure 4.5). It was found previously that these peaks

were attributed to the crystalline structure of PIPOZ [48-52]. It should be mentioned that even the presence of the hydrophilic PEG block in the structure of L-PIPOZ-*b*-PEG does not prevent crystallization of PIPOZ chain. Besides PIPOZ crystalline peaks, the sample PIPOZ-PEG also displayed peaks at $2\theta=19.1^\circ$, 23.3° . Comparison with the XRD analyses of the PEG homopolymer showed that these latter peaks arose from the diffraction pattern of the PEG (Figure 4.5). Contrary to all other polymers, S-PIPOZ-*b*-PEG sample did not show any crystalline peaks arising from the PIPOZ block. This indicated that crystallization of the PIPOZ-based polymer was avoided with the sample having both the hydrophilic PEG block and the star-shape morphology. Moreover, these XRD analyses revealed that the fibers observed by TEM for the S-PIPOZ-*b*-PEG5k were self-assemblies formed during the samples preparation (drying), and not after the extended heating of the sample. This knowledge of the sample crystallinity is important for designing biomedical tools, since introducing crystalline materials into the body leads to inflammation cause by late degradation [53].

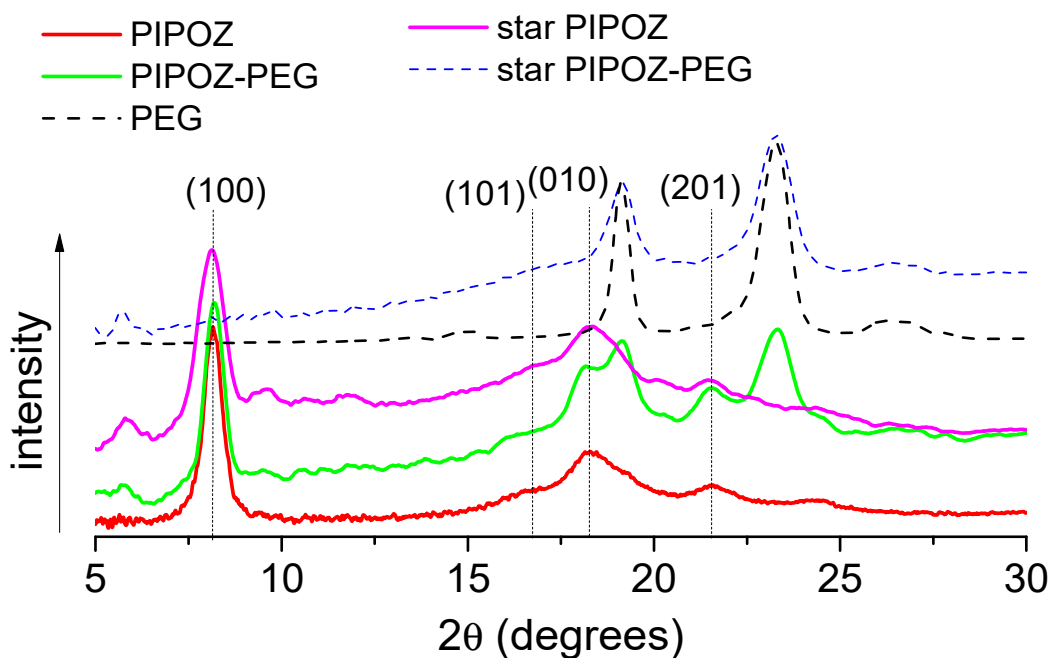


Figure 4. 5 WAXS diffraction pattern of the investigated freeze-dried polymer samples.

4.5 Conclusion

Nitro functionalized star-PIPOZ polymers have been prepared using CuAAC, a 4-arms core and a telechelic α -nitro- ω -azidoPIPOZ. A set of well-defined S-PIPOZ polymers was prepared via

this approach. A hetero-star PIPOZ-*b*-PEG was obtained, from one of these polymers, by reducing the nitro group to amine then followed by aminative reduction in high yield. This method is adaptable to the functionalization of the S-PIPOZ with either synthetic polymers or biomacromolecules, such as polysaccharides. This method also gives the opportunity to carry out the post-polymerization either in organic solvents or in aqueous medium.

We investigated the effect of the topology and composition of a set of polymers (L-PIPOZ, S-PIPOZ, L-PIPOZ-*b*-PEG, S-PIPOZ-*b*-PEG). There is no clear effect of the topology on the phase transition. The effect of the polymer architecture on the phase transition can be attributed to two well-known effects observed for linear thermosensitive polymers. These are the end group contribution and the effect of the molecular weight. In case of the star polymer, the hydrophobic effect is enhanced due to the high density of chain end. The core has nearly no effect regarding the phase transition temperature due to the solvent shielding of the PIPOZ arms. However, the composition influences the star-polymer properties. First, the PEG, as an outer layer within the star-polymer, stabilizes the aggregates formed upon heat induction of an aqueous polymer solution. It also prevents the formation of crystallites upon long heating. The absence of crystallinity for the S-PIPOZ-*b*-PEG is an important criterion for the development of drug-delivery nanodevices. Some star-PIPOZ will be developed using the same strategy, but with an increased number of arms. This will allow us to form unimolecular micelles having a shape, which is independent of the concentration. It will be also important to decrease the phase transition temperature to room temperature. This will facilitate the formulation of the nanodevices as drug carriers.

4.6 Acknowledgements

We thank Dr. Thierry Maris for the crystal structure determination and refinement, and for the WAXS analyses. We are also thankful for the interesting discussions on the polymer crystals. We thank also Dr. Alejandra Rodriguez-Contreras for the carrying and processing all SEM analyses.

4.7 References

- [1] N.H. Aloorkar, A.S. Kulkarni, R.A. Patil, D.J. Ingale, Star Polymers: An Overview International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology 5(2) (2012) 167-1684.
- [2] A. Kowalczyk, J. Kronek, K. Bosowska, B. Trzebicka, A. Dworak, Star poly(2-ethyl-2-oxazoline)s—synthesis and thermosensitivity, Polymer International 60(7) (2011) 1001-1009.

- [3] J.M. Ren, T.G. McKenzie, Q. Fu, E.H.H. Wong, J. Xu, Z. An, S. Shanmugam, T.P. Davis, C. Boyer, G.G. Qiao, *Star Polymers*, *Chemical Reviews* 116(12) (2016) 6743-6836.
- [4] J. Zhu, Z. Zhou, C. Yang, D. Kong, Y. Wan, Z. Wang, Folate-conjugated amphiphilic star-shaped block copolymers as targeted nanocarriers, *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 97A(4) (2011) 498-508.
- [5] X. Li, Y. Qian, T. Liu, X. Hu, G. Zhang, Y. You, S. Liu, Amphiphilic multiarm star block copolymer-based multifunctional unimolecular micelles for cancer targeted drug delivery and MR imaging, *Biomaterials* 32(27) (2011) 6595-6605.
- [6] G. Kreutzer, C. Ternat, T.Q. Nguyen, C.J.G. Plummer, J.-A.E. Månson, V. Castelletto, I.W. Hamley, F. Sun, S.S. Sheiko, A. Herrmann, L. Ouali, H. Sommer, W. Fieber, M.I. Velazco, H.-A. Klok, Water-Soluble, Unimolecular Containers Based on Amphiphilic Multiarm Star Block Copolymers, *Macromolecules* 39(13) (2006) 4507-4516.
- [7] K.-Y. Baek, S.-H. Lee, S.S. Hwang, Synthesis of amphiphilic star block copolymer with photosensitive core by ATRP, *Macromolecular Research* 19(5) (2011) 461-467.
- [8] Z. Jia, Y. Zhou, D. Yan, Amphiphilic star-block copolymers based on a hyperbranched core: Synthesis and supramolecular self-assembly, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* 43(24) (2005) 6534-6544.
- [9] T. Kagiya, S. Narisawa, T. Maeda, K. Fukui, Ring-opening polymerization of 2-substituted 2-oxazolines, *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Letters* 4(7) (1966) 441-445.
- [10] W. Seeliger, E. Aufderhaar, W. Diepers, R. Feinauer, R. Nehring, W. Thier, H. Hellmann, Recent Syntheses and Reactions of Cyclic Imidic Esters, *Angewandte Chemie International Edition in English* 5(10) (1966) 875-888.
- [11] D.A. Tomalia, D.P. Sheetz, Homopolymerization of 2-alkyl- and 2-aryl-2-oxazolines, *Journal of Polymer Science Part A-1: Polymer Chemistry* 4(9) (1966) 2253-2265.
- [12] T.G. Bassiri, A. Levy, M. Litt, Polymerization of cyclic imino ethers. I. Oxazolines, *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Letters* 5(9) (1967) 871-879.
- [13] R. Obeid, E. Maltseva, A.F. Thünemann, F. Tanaka, F.M. Winnik, Temperature Response of Self-Assembled Micelles of Telechelic Hydrophobically Modified Poly(2-alkyl-2-oxazoline)s in Water, *Macromolecules* 42(6) (2009) 2204-2214.

- [14] P. Tatar Güner, A.L. Demirel, Effect of Anions on the Cloud Point Temperature of Aqueous Poly(2-ethyl-2-oxazoline) Solutions, *The Journal of Physical Chemistry B* 116(49) (2012) 14510-14514.
- [15] F.C. Gaertner, R. Luxenhofer, B. Blechert, R. Jordan, M. Essler, Synthesis, biodistribution and excretion of radiolabeled poly(2-alkyl-2-oxazoline)s, *Journal of Controlled Release* 119(3) (2007) 291-300.
- [16] R. Luxenhofer, G. Sahay, A. Schulz, D. Alakhova, T.K. Bronich, R. Jordan, A.V. Kabanov, Structure-property relationship in cytotoxicity and cell uptake of poly(2-oxazoline) amphiphiles, *Journal of Controlled Release* 153(1) (2011) 73-82.
- [17] A.P. Filippov, A.I. Amirova, M.M. Dudkina, A.V. Tenkovtsev, Thermoresponsive Star-Shaped Poly(2-isopropyl-2-oxazoline) in Aqueous Solution, *International Journal of Polymer Analysis and Characterization* 18(8) (2013) 567-577.
- [18] A.I. Amirova, M.M. Dudkina, A.V. Tenkovtsev, A.P. Filippov, Self-assembly of star-shaped poly(2-isopropyl-2-oxazoline) in aqueous solutions, *Colloid and Polymer Science* 293(1) (2014) 239-248.
- [19] A.P. Filippov, A.I. Amirova, M.N. Nikolaeva, M.M. Dudkina, A.V. Tenkovtsev, Deuterium Isotope Effect on Solution Behavior of Thermoresponsive Star-Shaped Poly(2-isopropyl-2-oxazoline), *International Journal of Polymer Analysis and Characterization* 19(8) (2014) 721-730.
- [20] A. Amirova, S. Rodchenko, Z. Makhmudova, G. Cherkaev, S. Milenin, E. Tatarinova, M. Kurlykin, A. Tenkovtsev, A. Filippov, Synthesis, Characterization, and Investigation of Thermosensitive Star-Shaped Poly(2-isopropyl-2-oxazolines) Based on Carbosilane Dendrimers, *Macromolecular Chemistry and Physics* (2016) 1600387-n/a.
- [21] A.I. Amirova, O.V. Golub, T.U. Kirila, A.B. Razina, A.V. Tenkovtsev, A.P. Filippov, Influence of arm length and number on star-shaped poly(2-isopropyl-2-oxazoline) aggregation in aqueous solutions near cloud point, *Soft Materials* 14(1) (2016) 15-26.
- [22] T. Rudolph, S. Crotty, M. von der Lüche, D. Pretzel, U. Schubert, F. Schacher, Synthesis and Solution Properties of Double Hydrophilic Poly(ethylene oxide)-block-poly(2-ethyl-2-oxazoline) (PEO-b-PEtOx) Star Block Copolymers, *Polymers* 5(3) (2013) 1081.

- [23] R. Takahashi, X.-P. Qiu, N. Xue, T. Sato, K. Terao, F.M. Winnik, Self-Association of the Thermosensitive Block Copolymer Poly(2-isopropyl-2-oxazoline)-b-poly(N-isopropylacrylamide) in Water–Methanol Mixtures, *Macromolecules* 47(19) (2014) 6900-6910.
- [24] R. Takahashi, T. Sato, K. Terao, X.-P. Qiu, F.M. Winnik, Self-Association of a Thermosensitive Poly(alkyl-2-oxazoline) Block Copolymer in Aqueous Solution, *Macromolecules* 45(15) (2012) 6111-6119.
- [25] N. Morimoto, R. Obeid, S. Yamane, F.M. Winnik, K. Akiyoshi, Composite nanomaterials by self-assembly and controlled crystallization of poly(2-isopropyl-2-oxazoline)-grafted polysaccharides, *Soft Matter* 5(8) (2009) 1597-1600.
- [26] H.M.L. Lambermont-Thijs, M.W.M. Fijten, U.S. Schubert, R. Hoogenboom, Star-shaped Poly(2-oxazoline)s by Dendrimer Endcapping, *Australian Journal of Chemistry* 64(8) (2011) 1026-1032.
- [27] E.V. Korchagina, X.-P. Qiu, F.M. Winnik, Effect of Heating Rate on the Pathway for Vesicle Formation in Salt-Free Aqueous Solutions of Thermosensitive Cationic Diblock Copolymers, *Macromolecules* 46(6) (2013) 2341-2351.
- [28] R. Luxenhofer, A. Schulz, C. Roques, S. Li, T.K. Bronich, E.V. Batrakova, R. Jordan, A.V. Kabanov, Doubly amphiphilic poly(2-oxazoline)s as high-capacity delivery systems for hydrophobic drugs, *Biomaterials* 31(18) (2010) 4972-4979.
- [29] A. Levy, M. Litt, Polymerization of cyclic iminoethers. IV. Oxazoline polymerization in solvents containing different functional groups, *Journal of Polymer Science Part A-1: Polymer Chemistry* 6(1) (1968) 63-72.
- [30] X.-P. Qiu, F.M. Winnik, Synthesis of α,ω -Dimercapto Poly(N-isopropylacrylamides) by RAFT Polymerization with a Hydrophilic Difunctional Chain Transfer Agent, *Macromolecules* 40(4) (2007) 872-878.
- [31] W. Schärtl, *Light Scattering from Polymer Solutions and Nanoparticle Dispersions*, Springer Berlin Heidelberg 2007.
- [32] F. Xie, K. Sivakumar, Q. Zeng, M.A. Bruckman, B. Hodges, Q. Wang, A fluorogenic 'click' reaction of azidoanthracene derivatives, *Tetrahedron* 64(13) (2008) 2906-2914.

- [33] X. Ye, J. Yang, J. Ambreen, Scaling laws between the hydrodynamic parameters and molecular weight of linear poly(2-ethyl-2-oxazoline), *RSC Advances* 3(35) (2013) 15108-15113.
- [34] I. Perez-Baena, A.J. Moreno, J. Colmenero, J.A. Pomposo, Single-chain nanoparticles vs. star, hyperbranched and dendrimeric polymers: effect of the nanoscopic architecture on the flow properties of diluted solutions, *Soft Matter* 10(47) (2014) 9454-9459.
- [35] W. Burchard, Solution Properties of Branched Macromolecules, in: J. Roovers (Ed.), *Branched Polymers II*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 1999, pp. 113-194.
- [36] B. Mendrek, B. Trzebicka, W. Wałach, A. Dworak, Solution behavior of 4-arm poly(tert-butyl acrylate) star polymers, *European Polymer Journal* 46(12) (2010) 2341-2351.
- [37] X. Wan, J. Xu, S. Liu, Facile synthesis of dendrimer-like star-branched poly(isopropylacrylamide) via combination of click chemistry and atom transfer radical polymerization, *Science China Chemistry* 53(12) (2010) 2520-2527.
- [38] Y.-Y. Liu, Y.-B. Zhong, J.-K. Nan, W. Tian, Star Polymers with Both Temperature Sensitivity and Inclusion Functionalities, *Macromolecules* 43(24) (2010) 10221-10230.
- [39] T. Maeda, T. Kanda, Y. Yonekura, K. Yamamoto, T. Aoyagi, Hydroxylated Poly(N-isopropylacrylamide) as Functional Thermoresponsive Materials, *Biomacromolecules* 7(2) (2006) 545-549.
- [40] T. Maeda, M. Takenouchi, K. Yamamoto, T. Aoyagi, Analysis of the Formation Mechanism for Thermoresponsive-Type Coacervate with Functional Copolymers Consisting of N-Isopropylacrylamide and 2-Hydroxyisopropylacrylamide, *Biomacromolecules* 7(7) (2006) 2230-2236.
- [41] X. Huang, F. Du, D. Liang, S.-S. Lin, Z. Li, Stereochemical Effect of Trans/Cis Isomers on the Aqueous Solution Properties of Acid-Labile Thermoresponsive Polymers, *Macromolecules* 41(14) (2008) 5433-5440.
- [42] S. Sugihara, S. Kanaoka, S. Aoshima, Thermosensitive Random Copolymers of Hydrophilic and Hydrophobic Monomers Obtained by Living Cationic Copolymerization, *Macromolecules* 37(5) (2004) 1711-1719.

- [43] X. Qiu, T. Koga, F. Tanaka, F.M. Winnik, New insights into the effects of molecular weight and end group on the temperature-induced phase transition of poly(N-isopropylacrylamide) in water, *Science China Chemistry* 56(1) (2013) 56-64.
- [44] Y. Xia, N.A.D. Burke, H.D.H. Stöver, End Group Effect on the Thermal Response of Narrow-Disperse Poly(N-isopropylacrylamide) Prepared by Atom Transfer Radical Polymerization, *Macromolecules* 39(6) (2006) 2275-2283.
- [45] S. Huber, N. Hutter, R. Jordan, Effect of end group polarity upon the lower critical solution temperature of poly(2-isopropyl-2-oxazoline), *Colloid Polym Sci* 286 (2008) 1653–1661.
- [46] C. Weber, C.R. Becer, R. Hoogenboom, U.S. Schubert, Lower Critical Solution Temperature Behavior of Comb and Graft Shaped Poly[oligo(2-ethyl-2-oxazoline)methacrylate]s, *Macromolecules* 42(8) (2009) 2965-2971.
- [47] M. Meyer, M. Antonietti, H. Schlaad, Unexpected thermal characteristics of aqueous solutions of poly(2-isopropyl-2-oxazoline), *Soft Matter* 3(4) (2007) 430-431.
- [48] C. Diehl, P. Cernoch, I. Zenke, H. Runge, R. Pitschke, J. Hartmann, B. Tiersch, H. Schlaad, Mechanistic study of the phase separation/crystallization process of poly(2-isopropyl-2-oxazoline) in hot water, *Soft Matter* 6(16) (2010) 3784-3788.
- [49] M. Litt, F. Rahl, L.G. Roldan, Polymerization of cyclic imino ethers. VI. X-ray study of some polyaziridines, *Journal of Polymer Science Part A-2: Polymer Physics* 7(3) (1969) 463-473.
- [50] C. Diehl, H. Schlaad, Polyoxazoline-based Crystalline Microspheres for Carbohydrate-Protein Recognition, *Chemistry – A European Journal* 15(43) (2009) 11469-11472.
- [51] R. Obeid, F. Tanaka, F.M. Winnik, Heat-Induced Phase Transition and Crystallization of Hydrophobically End-Capped Poly(2-isopropyl-2-oxazoline)s in Water, *Macromolecules* 42(15) (2009) 5818-5828.
- [52] A.L. Demirel, M. Meyer, H. Schlaad, Formation of Polyamide Nanofibers by Directional Crystallization in Aqueous Solution, *Angewandte Chemie International Edition* 46(45) (2007) 8622-8624.
- [53] J.E. Bergsma, W.C. de Bruijn, F.R. Rozema, R.R.M. Bos, G. Boering, Late degradation tissue response to poly(L-lactide) bone plates and screws, *Biomaterials* 16(1) (1995) 25-31.

Supporting information for : synthesis and investigation of the heat-induced phase transition of well-defined homo and hetero-star block poly(2-isopropylloxazoline)

S-4.1 Experimental procedures

S-4.1.1 Synthesis of the core

S-4.1.1.1 Synthesis of 2-iodo-1,3-dimethoxybenzene (**1**)[1]

To a solution of 1,3-dimethoxybenzene (12 g, 86.85 mmol) in THF (150 mL) at 0°C was added dropwise a solution of BuLi 2.5 M in hexane (38.21 mL, 95.54 mmol). After the addition was completed, the solution was stirred for 2 hrs, then a solution of I₂ (22.5 g, 88.57 mmol) in THF (100 mL) was added. Upon addition, the reaction mixture became milky white. The end of the reaction was monitored by the light brown appearance of the halogen. The reaction mixture was stirred for an additional hour, thereafter water was added. The product was extracted with CH₂Cl₂ (3x100 mL). The organic phase was washed subsequently with water (2x100 mL), with a solution of sodium thiosulfate (100 mL), with brine (100 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and filtered. The volatiles were removed under reduced pressure leading to a light-yellow solid which was purified by recrystallization in CH₂Cl₂/ EtOH 95% in a ratio 1/10 (v/v). The titled product **1** was obtained as colorless solid needles. Yield: 90% (20.65 g, 78.20 mmol). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ ppm 7.31 (t, *J* = 8.3, 8.3 Hz, 1H), 6.63 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 3.81 (s, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO) δ ppm 158.97, 130.10, 104.41, 77.33, 56.42; HRMS ESI Calcd for C₈H₉IO₂ (M+H)⁺: 264.9720, Found: 264.9720.

S-4.1.1.2 Synthesis of 2,2',6,6'-tetramethoxy-1,1'-biphenyl (**2**)[1]

To a cooled solution (-78°C) of 1,3-dimethoxybenzene (12.43 g, 89.95 mmol) in THF (120 mL) was added dropwise *sec*-BuLi (1.4 M in hexane, 64.3 mL, 89.95 mmol). Once added, the solution was stirred for 1 hr under the same conditions. After this period, the solution was warmed up to 0°C, then copper iodide (17.13 g, 89.95 mmol) was added in 2 portions. The resulting black solution was stirred for one additional hour. Compound **1** (20.46 g, 77.5 mmol) in pyridine (120 mL) was added via a dropping funnel. Once added, the solution was reflux for 48 hrs. The mixture was cooled to room temperature, poured into ice and subsequently acidified with concentrated HCl solution (82 mL). The precipitated was recovered by filtration, washed with water (3x100 mL) and taken up with CH₂Cl₂ (100 mL). The organic phase was passed twice through an aluminum oxide pad (10 cm x 3cm). After removal of the volatiles, colorless crystals were obtained. Yield: 99% (21.45 g, 78.45 mmol). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.28 (dd, *J* = 16.50, 8.3 Hz, 2H), 6.65 (d, *J* = 8.3 Hz, 4H), 3.71 (s, 12H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 157.84, 128.31, 112.03, 104.15, 55.45. HR-MS Calcd for C₁₆H₁₈O₄ (M+H)⁺: 275.12779 Found: 275.12877.

S-4.1.1.3 Synthesis of 3,3',5,5'-tetrakis(bromomethyl)-2,2',6,6'-tetramethoxy-1,1'-biphenyl (3)

To a suspension of **2** (5 g, 18.23 mmol) and paraformaldehyde (2.24 g, 74.73 mmol) in glacial acetic acid (50 mL), was added in one portion 33 % HBr in acetic acid (13.53 mL, 74.73 mmol). The mixture was then heated to 80°C for two hours. After this period, the orange red solution was carefully poured into crushed ice. A light-yellow precipitate was obtained. It was collected by filtration over a Buchner Funnel. The precipitate was washed thoroughly with water and taken up in CH₂Cl₂. The organic phase was successively washed with water (100 mL), sodium thiosulfate solution (100 mL), brine (100 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and filtered. The organic phase was evaporated under reduced pressure. The product was purified by a short flash chromatography (SiO₂, CH₂Cl₂) leading to **3** as colorless prisms. Yield: 42 % (4.9 g, 7.58 mmol). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.53 (s, 2H), 4.57 (s, 8H), 3.63 (s, 12H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 157.72, 133.76, 127.77, 122.77, 61.27, 27.95; HR-MS ESI calcd for C₂₀H₂₂Br₄O₄ (M+Na)⁺: 668.8103, found: 668.8124.

S-4.1.1.4 Synthesis of 3,3',5,5'-tetrakis(azidomethyl)-2,2',6,6'-tetramethoxy-1,1'-biphenyl (4)

Compound **3** (4.7 g, 7.27 mmol) was dissolved in 60 mL of anhydrous DMF under nitrogen. To this solution, was added NaN₃ (3.78 g, 58.20 mmol) and the resulting mixture was stirred and heated to 60°C for 6 hours. After this period, the mixture was cooled to room temperature and water (200 mL) was added to the solution. Compound was extracted with CH₂Cl₂ (2 x 100 mL). The organic phases were combined and washed with water (2 x 100 mL), brine (100 mL), dried over anhydrous sodium sulfate and filtered. The volatiles were removed under reduced pressure giving a light-orange oil. It was purified by column chromatography (SiO₂, CH₂Cl₂). Yield: 97% (3.5 g, 7.20 mmol). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.41 (s, 2H), 4.43 (s, 8H), 3.58 (s, 12H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 157.57, 131.94, 124.91, 122.79, 77.32, 77.00, 76.68, 61.27, 49.62; HR-MS ESI calcd for C₂₀H₂₂N₁₂O₄ (M+H)⁺: 517.17792, found: 517.17989.

S-4.1.1.5 Synthesis of 2,5-dioxopyrrolidin-1-yl hex-5-ynoate (5)

DMAP was added in one portion to a mixture of 5-hexynoic acid (5 g, 44.59 mmol), N-hydroxysuccinimide (6.7 g, 57.97 mmol), and EDC.HCl (11.11 g, 57.97 mmol) in dichloromethane (100 mL). The mixture was stirred for 3 h during (progress of the reaction was monitored by TLC and disappearance of the NHS crystals), after which the solution was poured into an extraction funnel and the organic phase was washed successively with water (3x100 mL) and brine (100 mL). It was then dried over anhydrous Na₂SO₄. The solution was filtered and the volatiles were

removed under reduced pressure giving an oil. It was purified by flash chromatography (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH in a ratio 95/5). The titled compound **5** was obtained as a light-yellow oil. Yield: 95 % (8.9 g, 42.54 mmol). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 2.83 (s, 4H), 2.77 (t, *J* = 7.1, 7.1 Hz, 2H), 2.35 (dt, *J* = 7.1, 7.1, 2.7 Hz, 2H), 2.03 (t, *J* = 2.7, 2.7 Hz, 1H), 1.96 (p, *J* = 7.1, 7.1, 7.1, 7.1 Hz, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ ppm 169.54, 168.58, 82.83, 70.24, 30.05, 25.98, 23.73, 17.97; HR-MS ESI calcd for C₁₀H₁₁NO₄ (M+Na)⁺: 232.0580 found: 232.0589.

S-4.1.1.5 Synthesis of N,N',N'',N'''-((2,2',6,6'-tetramethoxy-[1,1'-biphenyl]-3,3',5,5'-tetrayl)tetrakis(methylene))tetrakis(hex-5-ynamide) (6)

A suspension of Pd/C (0.25 g) in methanol was added to a solution of **4** (3.5 g, 7.08 mmol) in a mixture of MeOH (100 mL) and THF (50 mL). The reaction mixture was then placed into a Parr bottle reactor, which was purged by three vacuum/N₂ cycles. The mixture was hydrogenated with 90 psi of hydrogen at room temperature for 24 hr, and then filtered over Celite to remove the Pd/C. The Celite pad was washed with 200 mL of a solution MeOH/THF. The filtrate was then transferred into a 500 mL round bottom, after which compound **5** (6.22 g, 29.76 mmol) in CH₂Cl₂ (30 mL) was added. The medium was heated at 50°C under N₂ to reduce the solvent volume. It was then cooled to room temperature once the volume reached 100 mL. It was stirred overnight. CH₂Cl₂ was added to the reaction medium, which was subsequently washed with water (2 x 100 mL), brine (100 mL) then dried over anhydrous Na₂SO₄. The mixture was filtered and the solvent was removed under reduced pressure leading to a white wax. This was purified by flash chromatography (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH in a ratio 9/1). The titled compound **6** was obtained as a white waxy solid. Yield 72% (3.9 g, 5.1 mmol). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.30 (s, 2H), 6.02 (t, *J* = 5.8, 5.8 Hz, 4H), 4.50 (d, *J* = 5.8 Hz, 8H), 3.53 (s, 12H), 2.38 (t, *J* = 7.0, 7.0 Hz, 8H), 2.29 (dt, *J* = 7.0, 7.0, 2.6 Hz, 8H), 2.00 (t, *J* = 2.6, 2.6 Hz, 4H), 1.90 (p, *J* = 7.0, 7.0, 7.0, 7.0 Hz, 8H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 172.10, 156.34, 129.81, 127.31, 122.74, 83.45, 69.31, 60.83, 38.77, 35.02, 24.08, 17.81; HRMS ESI Calcd for C₄₄H₅₄N₄O₈ (M+Na)⁺: 789.3834, found: 767.4014.

S-4.1.2 Synthesis of the initiator

S-4.1.2.1 Synthesis of 2-(2-(2-(4-nitrophenoxy)ethoxy)ethoxy)ethan-1-ol (7)

To a suspension of nitrophenol (9.07 g, 59.30 mmol), K₂CO₃ (12.30 g, 88.96 mmol), and potassium iodide (0.984 g, 5.93 mmol) in DMF (100 mL) was added 2-[2-(2-chloroethoxy)ethoxy]ethanol (10 g, 59.30 mmol). The yellow suspension was heated at 110°C for 24 hours, then it was cooled to room temperature and water (300 mL) was added to the mixture. The compound

was extracted with ethyl acetate (2 x 100 mL). The organic phase was washed with water (4 x 100 mL), then brine (100 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄ and filtered. The solvent was evaporated under reduced pressure, leading to titled compound as a yellow oil. It was used without further purification. Yield: 93% (14.2 g, 55.2 mmol). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.82 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.37 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.64 (m, 2H), 3.46 (t, *J* = 5.2, 5.2 Hz, 1H), 3.25 (dd, *J* = 10.5, 5.2 Hz, 2H), 3.02 (dd, *J* = 10.5, 5.2 Hz, 1H). HRMS ESI Calcd for C₁₂H₁₇NO₆ (M+Na)⁺: 294.0948, found: 294.0960

S-4.1.2.2 Synthesis of 2-(2-(2-(4-nitrophenoxy)ethoxy)ethoxy)ethyl 4-methylbenzenesulfonate (8)

Para-toluenesulfonyl chloride (14.67 g, 76.97 mmol) was added to a cooled (ice bath) solution of **7** (13.2 g, 51.31 mmol) and Et₃N (21.45 mL, 153.9 mmol) in CH₂Cl₂ under inert atmosphere. The reaction mixture was stirred for 6 hrs. The mixture was poured into an extraction funnel, washed with water (3 x 100 mL), brine (100 mL), and dried over anhydrous Na₂SO₄. The mixture was filtered, and the solvent was removed under reduced pressure to give an orange oil. This was purified by flash chromatography (SiO₂, hexane/AcOEt in a ratio v/v 5/5). Yield: 92% (18 g, 47.20 mmol). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.19 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H), 7.79 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.33 (dd, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.97 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H), 4.18 (m, 4H), 3.87 (m, 2H), 3.69 (m, 4H), 3.63 (m, 2H), 2.44 (s, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 163.81, 144.84, 141.60, 132.96, 129.82, 127.93, 125.86, 114.57, 70.81, 69.42, 69.18, 68.77, 68.17, 21.62. HRMS ESI Calcd for C₁₉H₂₃NO₈S (M+Na)⁺: 448.1037, found: 448.1050.

S-4.1.4 Synthesis of 9-(azidomethyl)anthracene

To a cold (0°C) suspension of 9-(alkoxymethyl)anthracene (2 g; 9.6 mmol) in dichloromethane (30 mL) was added dropwise thionyl chloride (0.76 mL, 10.39 mmol). The reaction was stirred for an additional hour at 0 °C then for 1 hr at room temperature. The solvent and the volatile by-products were removed under reduced pressure. The resulting greenish powder obtained, was dissolved into 20 mL of anhydrous DMF. Sodium azide (0.674 g; 10.4 mmol) was added in one portion into the solution. The solution was stirred under nitrogen condition at r.t for 24 hrs. Water (100 mL) was then added to the mixture. The compound was extracted with EtOAc (3 x 100 mL). The organic layer was subsequently washed with water (3 x 100 mL) and brine (100 mL), then dried over MgSO₄, and filtered. The solvent was removed under reduced pressure, leading to a dark yellow solid. Yield: 95%. (2.12 g; 9.12 mmol). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8.70 (s, 1H), 8.46 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 8.16 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.61 (m, 4H), 5.52 (s, 2H).

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 131.80, 131.13, 129.91, 129.46, 127.68, 127.26, 126.27, 124.91, 46.38.

S-2.1.2 Synthesis of (1-(anthracen-9-ylmethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methanol: positive control

To a degassed solution of **1** (100 mg; 0.43 mmol), propargyl alcohol (25.2 mg; 0.45 mmol), and PMDETA (9 μL ; 0.043 mmol) in DMF (5 mL), was added CuBr (6.16 mg; 0.043 mmol) under nitrogen. The reaction mixture was stirred overnight. Water (50 mL) was added to the mixture. The compound was extracted with AcOEt (2 x 20 mL). The organic layer was washed with water (3 x 50 mL), brine, dried over anhydrous MgSO_4 and filtered. Evaporation of the solvent led to compound **2** as a yellow powder. Yield: 94 % (116.9 mg; 0.40 mmol). ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 8.75 (s, 1H), 8.62 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 8.17 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.63 (td, $J = 14.79, 7.04, 7.04$ Hz, 4H), 6.63 (s, 2H), 5.03 (t, $J = 5.6, 5.6$ Hz, 1H), 4.40 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 148.88, 131.91, 131.14, 129.98, 129.90, 127.98, 126.81, 126.26, 124.91, 123.04, 55.80, 46.17.

S-4.2 Additional figures and spectra

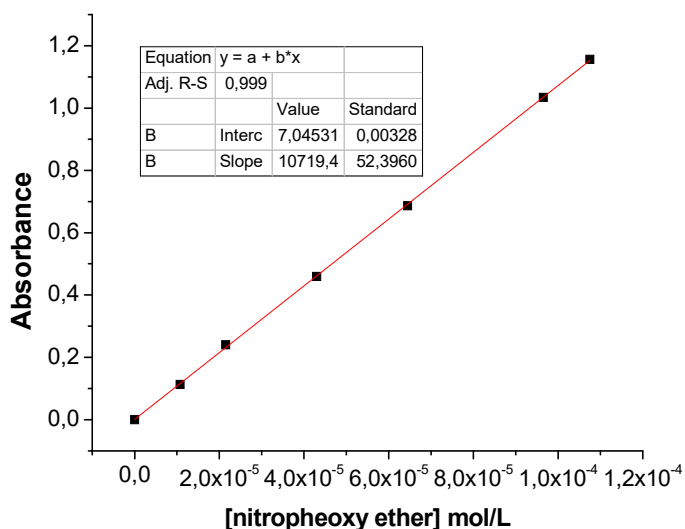


Figure SI-4. 1 Determination of the molar extinction coefficient of the nitrophenyl ether content of 2-(2-(2-(4-nitrophenoxy)ethoxy)ethoxy)ethan-1-ol (compound **7**) in acetonitrile.

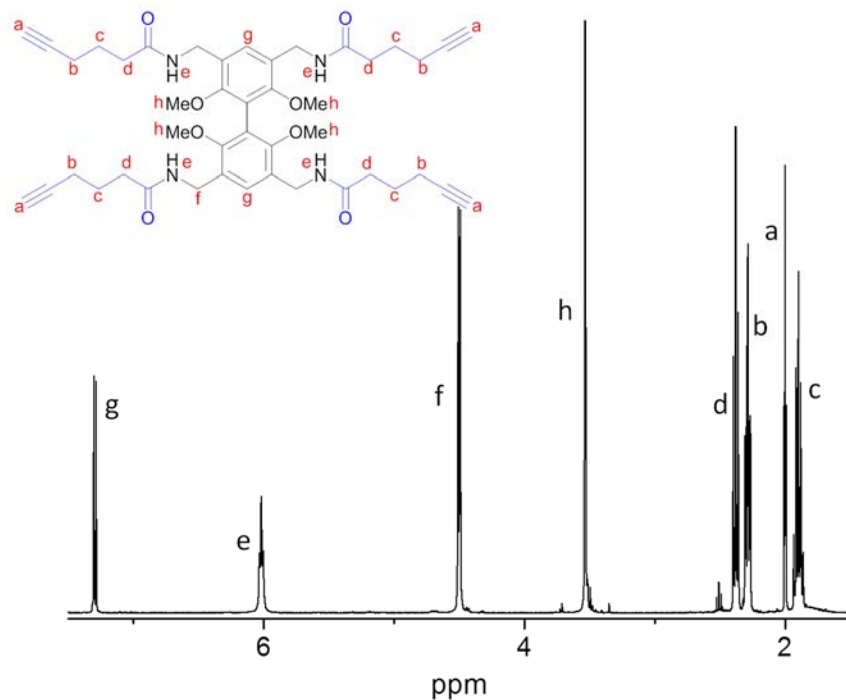


Figure SI-4. 2 ¹H NMR Spectrum of core-4-yne in MeOH-D₄ at room temperature.

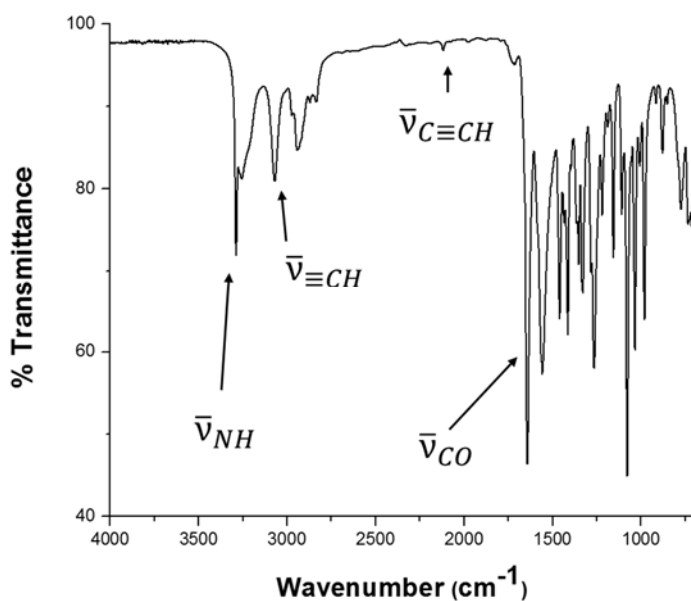


Figure SI-4. 3 ATR FT-IR spectrum of Core-4-yne. The spectrum evidence the characteristic vibrational bands of terminal alkyne ($\bar{\nu} \equiv CH$ at 3069 cm⁻¹ and $\bar{\nu} C \equiv C$ at 2116 cm⁻¹) and the characteristic vibrational bands of the amide ($\bar{\nu}_{NH}$ and $\bar{\nu}_{CO}$ at 3287 cm⁻¹ and 1642 cm⁻¹ respectively).

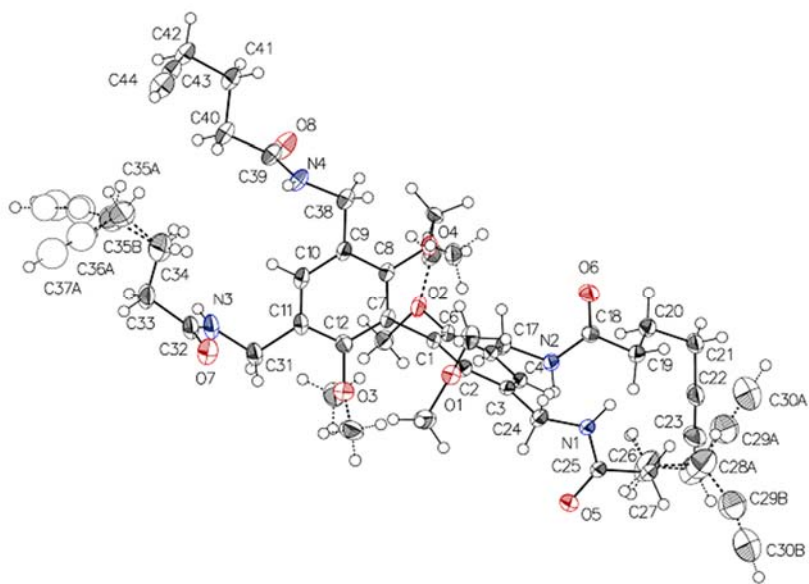


Figure SI-4. 4 Crystal structure of the title compound (**6**). The ellipsoids are drawn with 50 % of probability level.

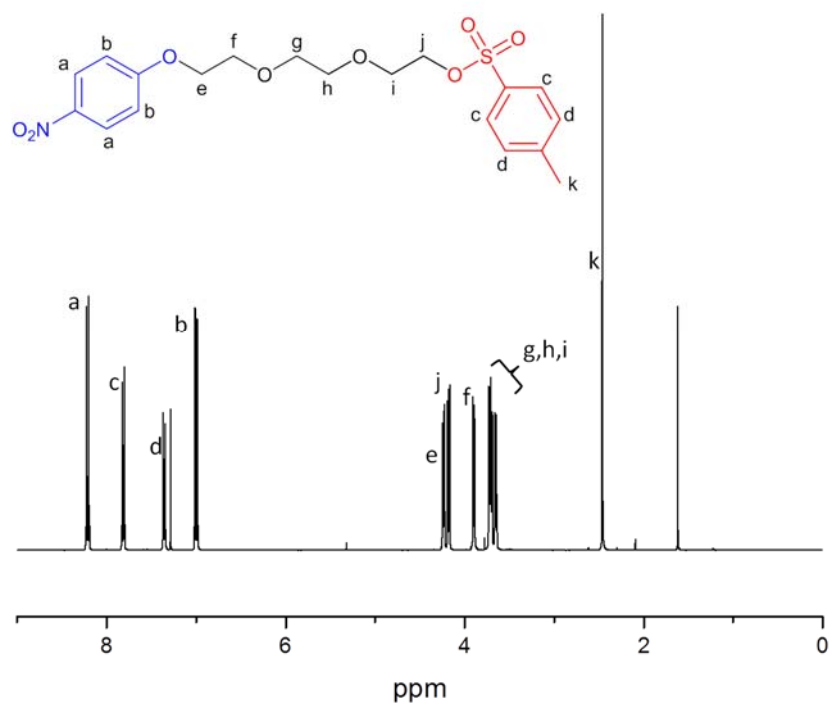


Figure SI-4. 5 ^1H NMR Spectrum of NO_2 -initiaton in CDCl_3 at room temperature.

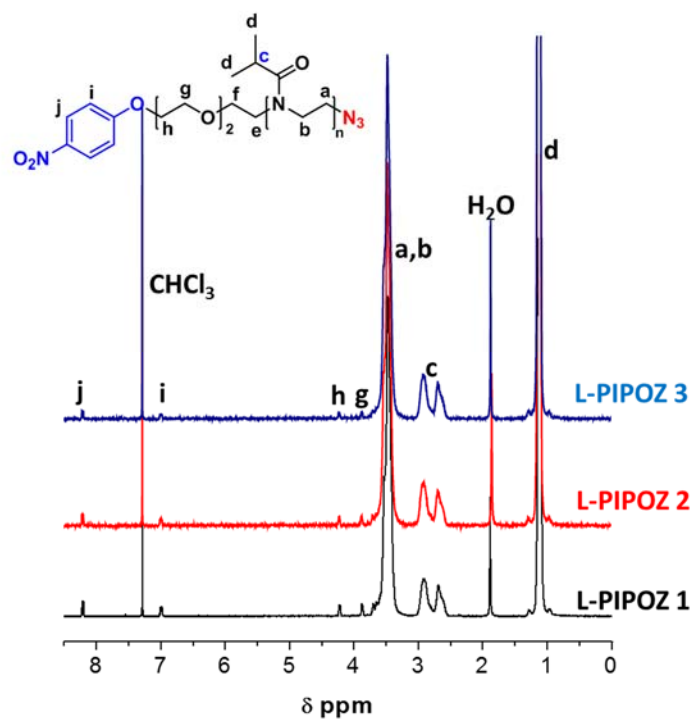


Figure SI-4. 6 ^1H NMR spectra of L-PIPOZ samples. The NMR spectra were recorded at room temperature, in 0.7 mL of CDCl_3 with 10-15 g of polymers.

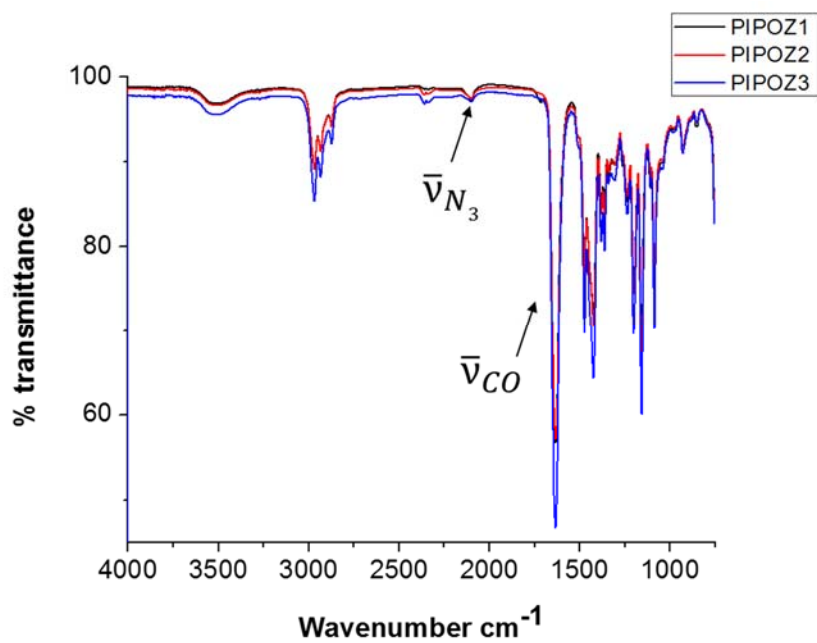


Figure SI-4. 7 ATR FT-IR spectra of L-PIPOZs powders.

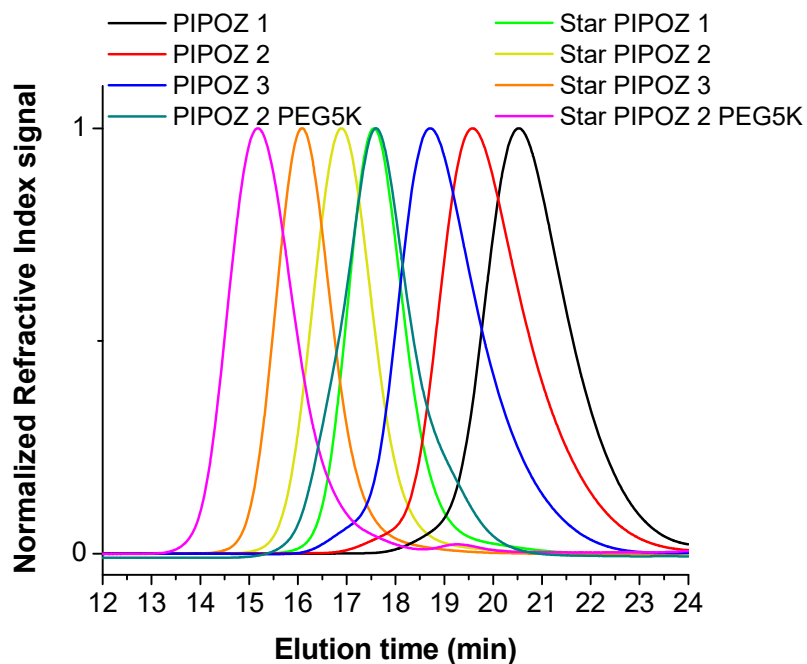


Figure SI-4. 8 GPC chromatograms of all the PIPOZs samples (linear and star-PIPOZ samples). The analyses were performed in DMF containing 0.01M of LiBr at a flow rate of 0.3 mL/min and with a polymer concentration of 5 mg/mL.

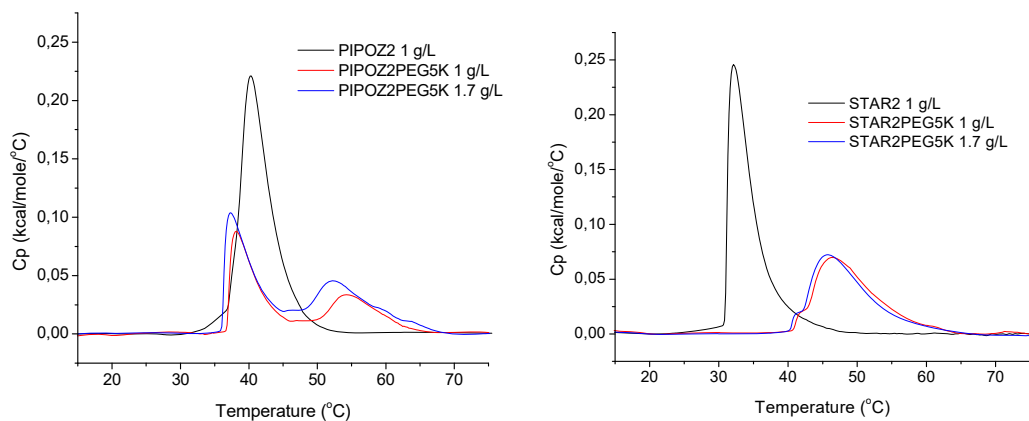


Figure SI-4. 9 Microcalorimetric endotherms of aqueous solutions of L-PIPOZ2 and PIPOZ2-*b*-PEG5K (on the left); and star S-PIPOZ2 and S-PIPOZ2-*b*-PEG5k (on the right).

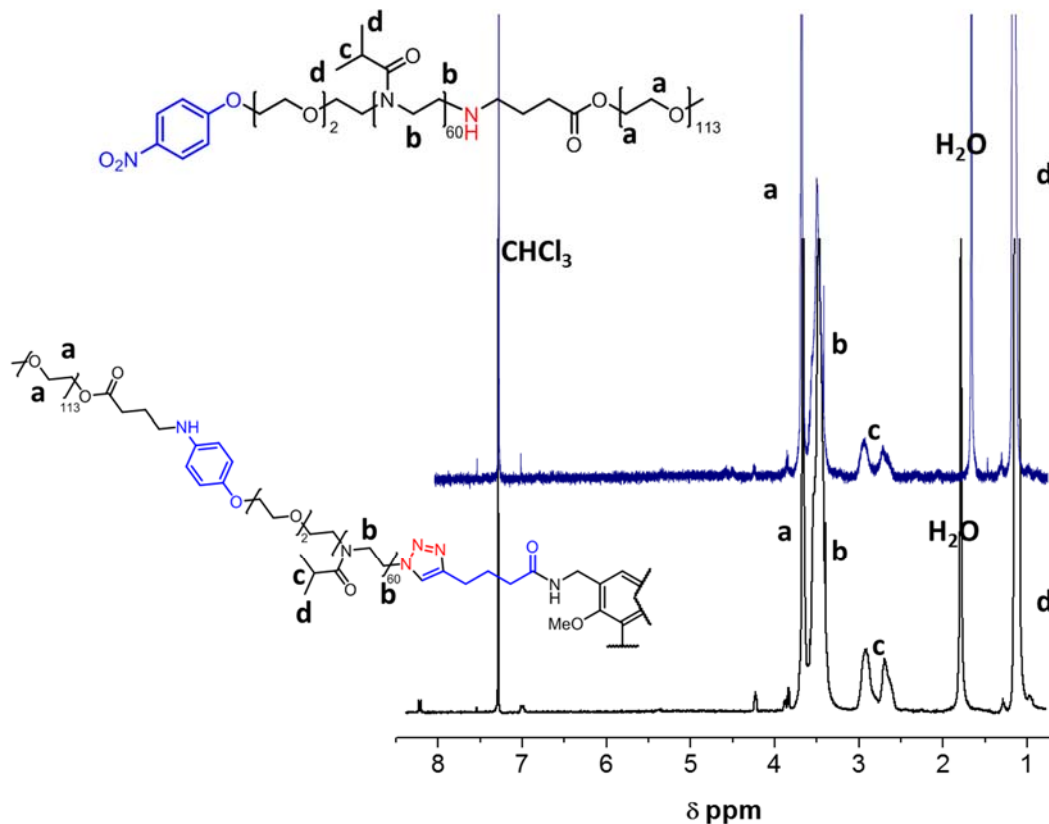


Figure SI-4. 10 ^1H NMR Spectrum of L-PIPOZ-b-PEG (top) and S-PIPOZ-b-PEG (bottom) in CDCl_3 at room temperature. Note: Only a quarter of S-PIPOZ-b-Peg is represented for the sake of clarity.

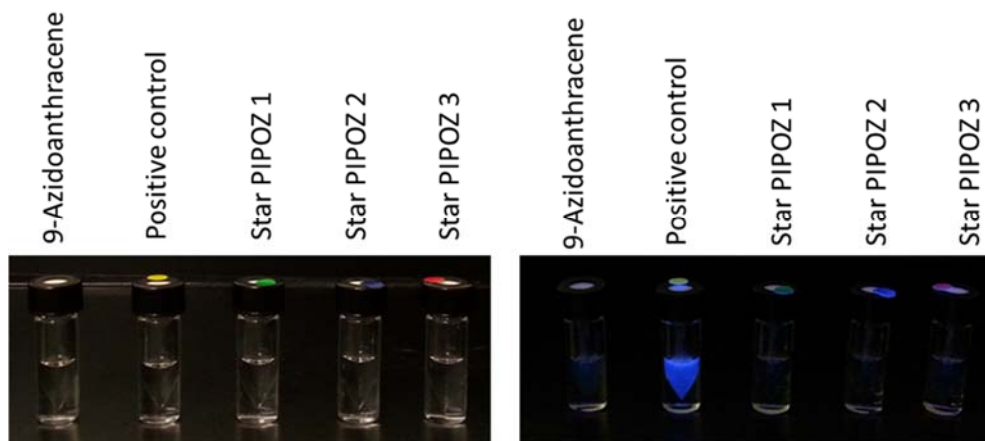


Figure SI-4. 11 Verification of the free alkyne chain presence onto S-PIPOZ incubated in the presence of (9-azidomethyl)anthracene and CuBr by fluorogenic CuAAC. To the left sample before, and to the right after UV irradiation. The sample concentrations were about 2×10^{-7} mol/L (2-3 mg pf polymer in 0.5 mL of THF).

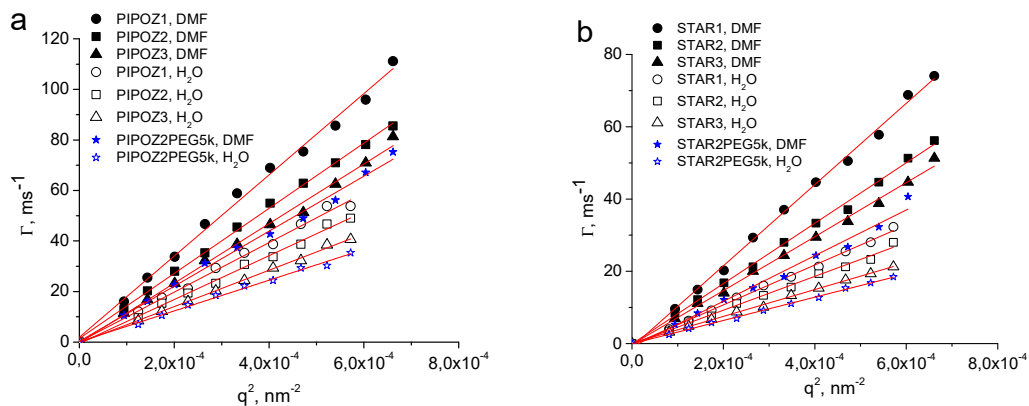


Figure SI-4. 12 Dependence of the relaxation rate on q^2 for linear (a) and star (b) PIPOZ in water at 20 °C and DMF/10 mM LiBr at 40 °C.



Figure SI-4. 13 Photographs of 10 g/L polymer solution before (row on the top) and after (row on the bottom) 24h of heating. From the left to the right: S-PIPOZ 1, S-PIPOZ2, S-PIPOZ3, L-PIPOZ2, L-PEG5k-b-PIPOZ2, S-PIPOZ2-b-PEG5k. The homo-PIPOZs were heated at 56°C whereas the hetero-block polymers were heated at 75°C. The photographs were taken after cooling all samples overnight at 4°C.

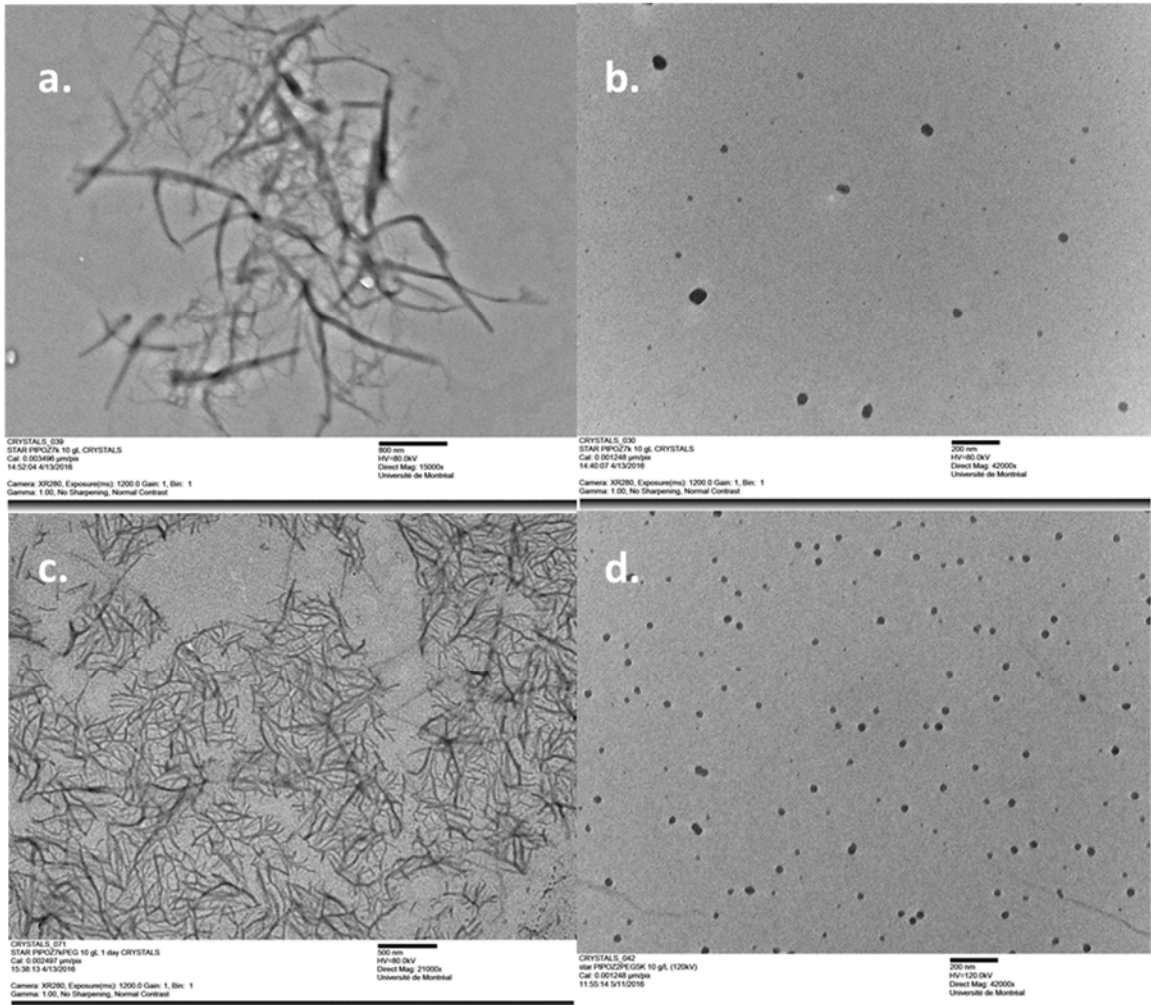


Figure SI-4. 14 TEM micrographs of starPIPOZ2 (top: a. and b.) and star PIPOZ2PEG5K (bottom: b. and c.) obtained after heating for 24 h at 56 and 75 °C, correspondingly. Concentration of polymer solution was 10 g/L.

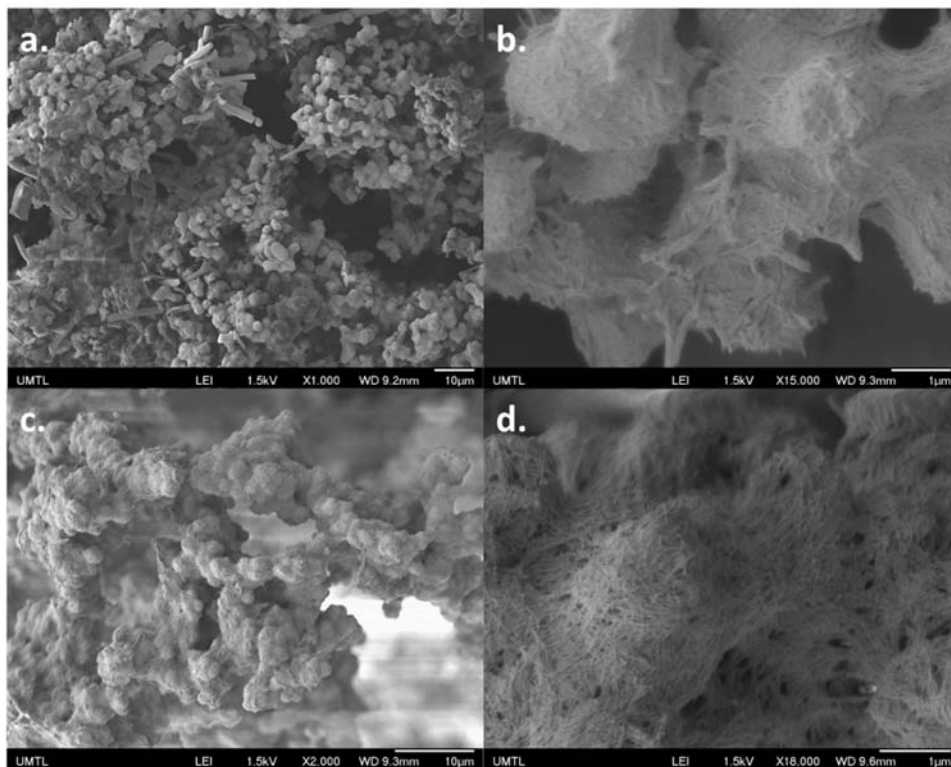


Figure SI-4. 15 SEM micrographs of PIPOZ2 (top: a. and b.) and starPIPOZ2 (bottom: c. and d.) obtained after heating for 24 h at 56 °C, correspondingly. Concentration of polymer solution was 10 g/L.

References

- [1] S. Govender, E.M. Mmutlane, W.A.L. van Otterlo, C.B. de Koning, Bidirectional racemic synthesis of the biologically active quinonecardinalin 3, *Organic & Biomolecular Chemistry* 5(15) (2007) 2433-2440.
- [2] H. Goossens, S. Catak, M. Glassner, V.R. de la Rosa, B.D. Monnery, F. De Proft, V. Van Speybroeck, R. Hoogenboom, Cationic ring-opening polymerization of 2-propyl-2-oxazolines: Understanding structural effects on polymerization behavior based on molecular modeling, *ACS Macro Letters* 2(8) (2013) 651-654.

Supporting crystallographic data

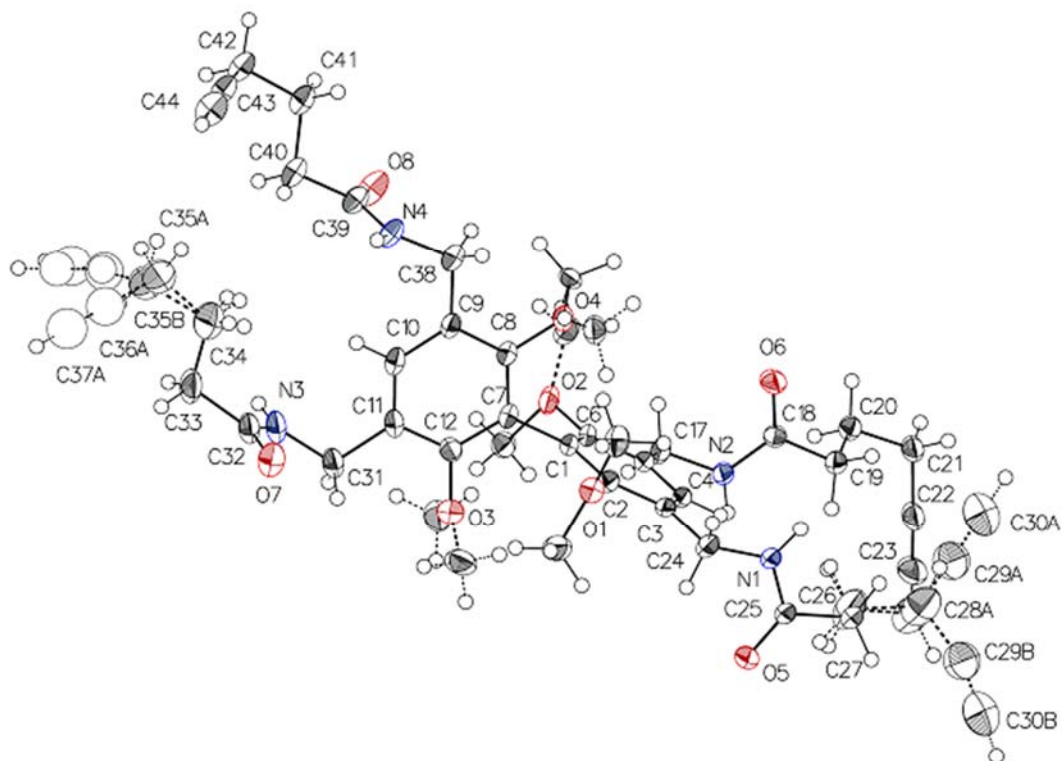


Figure SI-4. 16 Crystal structure of the title compound (6). The ellipsoids are drawn with 50 % of probability level.

Table 1 Crystal data and structure refinement for WINIK22.

Identification code	WINIK22
Empirical formula	C ₄₄ H ₅₄ N ₄ O ₈
Formula weight	766.91
Temperature/K	100
Crystal system	orthorhombic
Space group	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
a/Å	9.4048(3)

b/Å	9.4619(3)
c/Å	46.5065(13)
α /°	90
β /°	90
γ /°	90
Volume/Å ³	4138.5(2)
Z	4
ρ_{calc} /cm ³	1.231
μ /mm ⁻¹	0.442
F(000)	1640.0
Crystal size/mm ³	0.125 × 0.06 × 0.04
Radiation	GaK α (λ = 1.34139)
2 θ range for data collection/°	3.306 to 121.276
Index ranges	-12 ≤ h ≤ 12, -12 ≤ k ≤ 12, -60 ≤ l ≤ 60
Reflections collected	134128
Independent reflections	9513 [R_{int} = 0.0783, R_{sigma} = 0.0326]
Data/restraints/parameters	9513/35/570
Goodness-of-fit on F ²	1.042
Final R indexes [$I \geq 2\sigma(I)$]	R_1 = 0.0581, wR_2 = 0.1588
Final R indexes [all data]	R_1 = 0.0651, wR_2 = 0.1657
Largest diff. peak/hole / e Å ⁻³	0.48/-0.32
Flack parameter	?

Table 2 Fractional Atomic Coordinates ($\times 10^4$) and Equivalent Isotropic Displacement Parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for WINIK22. U_{eq} is defined as 1/3 of of the trace of the orthogonalised U_{ij} tensor.

Atom	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	$U(eq)$
O1	7045(3)	7053(3)	3530.5(6)	32.3(6)
O2	7012(3)	2012(3)	3653.2(5)	34.4(6)
O3	9288(3)	4842(3)	4003.3(6)	38.8(6)
O4	4226(3)	4656(4)	3843.2(5)	40.5(7)
O5	9828(3)	6483(4)	2557.9(6)	39.3(7)
O6	5182(2)	1351(3)	2698.9(6)	33.3(6)
O7	8571(4)	7451(3)	4969.6(6)	40.5(7)
O8	3402(4)	2558(3)	4795.3(6)	42.8(7)
N1	7450(3)	6503(4)	2623.7(6)	29.4(6)
N2	7571(3)	1401(3)	2757.4(6)	26.6(6)
N3	8585(4)	5093(3)	4906.0(6)	34.4(7)
N4	3472(4)	4923(3)	4738.1(6)	29.3(6)
C1	7024(3)	4538(4)	3598.1(7)	27.6(7)
C2	7164(3)	5702(4)	3417.0(7)	27.2(7)
C3	7383(3)	5535(4)	3121.3(7)	25.8(7)
C4	7486(3)	4179(4)	3011.2(7)	25.6(7)
C5	7359(3)	2990(4)	3183.6(7)	25.8(7)
C6	7122(4)	3196(4)	3478.6(7)	26.3(7)

C7	6767(4) 4722(4)	3915.5(7)	26.5(7)
C12	7896(4) 4837(4)	4109.5(7)	26.8(7)
C11	7675(4) 4999(4)	4403.0(7)	25.9(7)
C10	6289(4) 5013(3)	4505.0(7)	26.0(7)
C9	5129(4) 4878(4)	4321.5(7)	24.6(6)
C8	5388(4) 4750(4)	4028.0(7)	29.3(7)
C13A	8374(7) 7767(7)	3609.3(13)	38.7(14)
C14A	5488(7) 1591(7)	3678.4(12)	34.8(13)
C13B	5624(13) 7484(13)	3525(2)	34(3)
C14B	8502(12) 1503(13)	3751(2)	31(2)
C15A	9913(7) 3526(9)	3995.7(14)	47.1(17)
C16A	3754(6) 6159(6)	3754.0(12)	32.8(13)
C15B	9935(14) 6108(18)	3927(3)	48(4)
C16B	3859(10) 2899(12)	3807(2)	26(2)
C17	7485(4) 1501(4)	3069.2(7)	29.9(7)
C18	6393(3) 1300(4)	2595.7(7)	24.7(6)
C19	6624(4) 1029(4)	2277.9(7)	27.6(7)
C20	6259(4) -501(4)	2212.4(7)	28.5(7)
C21	6386(4) -869(5)	1893.7(7)	32.9(8)
C22	7841(4) -716(5)	1782.2(8)	38.3(9)
C23	9022(4) -576(6)	1698.2(10)	50.7(12)
C24	7527(4) 6828(4)	2928.7(7)	30.3(7)
C25	8611(4) 6357(4)	2461.9(7)	29.1(7)

C26	8348(4) 5946(5)	2152.7(8)	36.4(9)
C27	8694(8) 4396(6)	2112.0(11)	67.3(16)
C28A	8555(9) 3736(10)	1809.6(17)	69(4)
C29A	7054(8) 3861(11)	1736(2)	69(2)
C30A	5820(8) 3787(11)	1684(2)	72(2)
C28B	8190(30) 4130(30)	1799.5(18)	69(4)
C29B	8840(19) 4935(19)	1568(3)	69(2)
C30B	9667(18) 5560(20)	1421(3)	72(2)
C31	8945(4) 5172(4)	4603.8(8)	32.8(8)
C32	8429(5) 6248(4)	5068.5(8)	33.6(8)
C33	8012(6) 5988(5)	5377.6(9)	46.3(11)
C34	6428(7) 5987(9)	5411.3(12)	75.4(19)
C35A	5731(13) 6203(17)	5711(3)	65(3)
C36A	6524(13) 7017(12)	5923(2)	66(3)
C37A	7023(14) 7857(13)	6084(3)	74(3)
C35B	6155(16) 5632(15)	5732(3)	65(3)
C36B	6630(30) 4342(17)	5873(5)	66(3)
C37B	7080(30) 3293(18)	5979(5)	74(3)
C36C	6296(17) 5259(18)	5926(4)	37(3)
C37C	6830(20) 4600(20)	6092(5)	54(5)
C38	3606(4) 4843(4)	4427.7(7)	30.3(7)
C39	3374(4) 3767(4)	4899.3(7)	30.0(7)
C40	3135(4) 3997(4)	5217.4(8)	33.3(8)

C41	1596(4)	3632(4)	5289.4(7)	33.2(8)
C42	1255(5)	3788(4)	5612.1(8)	34.1(8)
C43	1423(5)	5238(4)	5711.5(8)	35.0(8)
C44	1534(5)	6440(4)	5781.9(9)	42.6(9)

Table 3 Anisotropic Displacement Parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for WINIK22. The Anisotropic displacement factor exponent takes the form: $-2\pi^2[h^2a^{*2}U_{11}+2hka^*b^*U_{12}+\dots]$.

Atom	U_{11}	U_{22}	U_{33}	U_{23}	U_{13}	U_{12}
O1	32.1(13)	37.6(14)	27.1(12)	1.6(11)	-0.6(10)	-3.7(11)
O2	42.6(15)	41.6(15)	19.0(11)	7.4(10)	-4.8(10)	-7.8(12)
O3	29.3(13)	53.2(18)	33.8(14)	5.2(13)	-0.1(10)	-6.3(12)
O4	31.0(13)	72(2)	18.4(11)	3.7(12)	-3.5(10)	-9.7(14)
O5	20.2(11)	69(2)	28.3(13)	3.7(13)	-0.7(10)	-3.9(12)
O6	19.8(11)	48.9(16)	31.2(12)	-6.9(12)	2.8(9)	3.5(11)
O7	60.7(19)	28.4(13)	32.6(13)	0.3(11)	-6.1(14)	-3.7(13)
O8	68(2)	26.5(13)	33.7(14)	1.7(11)	16.5(14)	9.4(13)
N1	19.4(12)	46.0(18)	22.8(13)	13.4(13)	-0.8(10)	-3.6(12)
N2	19.2(12)	41.6(16)	18.9(12)	-0.1(12)	1.4(10)	3.4(12)
N3	52.1(19)	24.7(14)	26.4(14)	2.7(12)	-17.3(14)	-7.6(14)
N4	42.7(16)	24.5(14)	20.6(13)	0.9(11)	8.5(12)	4.4(13)
C1	22.0(14)	45(2)	16.2(14)	4.8(13)	-1.0(11)	-4.7(14)
C2	21.0(15)	39.3(19)	21.5(15)	4.9(14)	1.3(12)	1.7(13)

C3	15.4(13)	40.2(19)	21.7(15)	7.9(14)	0.7(11)	-0.3(13)
C4	17.7(13)	42.0(19)	17.1(14)	4.7(13)	0.7(11)	1.9(13)
C5	18.6(14)	39.3(19)	19.5(14)	4.2(13)	-0.5(11)	-2.0(13)
C6	24.5(15)	39.6(19)	14.8(14)	5.4(13)	-3.3(11)	-5.4(13)
C7	30.3(16)	33.5(17)	15.6(13)	4.3(12)	-1.1(12)	-2.4(13)
C12	26.2(15)	28.1(16)	26.2(16)	2.2(13)	-4.0(13)	-2.9(13)
C11	34.9(17)	22.0(15)	20.8(14)	0.1(12)	-8.5(13)	-0.2(13)
C10	40.2(18)	20.3(14)	17.4(13)	0.1(12)	-2.5(13)	-0.7(13)
C9	32.1(16)	24.1(16)	17.8(14)	3.2(12)	-0.8(12)	-1.5(12)
C8	31.6(17)	38(2)	18.0(15)	3.9(14)	-1.4(13)	-7.0(14)
C13A	38(3)	43(3)	35(3)	-5(2)	5(2)	-12(3)
C14A	46(3)	34(3)	25(3)	3(2)	4(2)	-8(2)
C13B	43(6)	33(6)	26(5)	-8(5)	1(4)	8(5)
C14B	27(5)	38(6)	29(5)	5(5)	0(4)	7(5)
C15A	33(3)	74(5)	34(3)	-7(3)	0(2)	15(3)
C16A	36(3)	37(3)	26(2)	3(2)	-6(2)	1(2)
C15B	35(6)	65(10)	44(7)	-16(7)	4(5)	-20(6)
C16B	19(5)	33(5)	26(5)	-5(4)	-2(3)	-5(4)
C17	30.1(16)	42(2)	17.5(14)	3.8(14)	0.4(13)	6.5(15)
C18	20.3(14)	30.2(16)	23.7(15)	0.5(13)	1.3(12)	3.6(13)
C19	23.0(14)	37.3(18)	22.5(15)	3.7(13)	-0.4(12)	1.5(13)
C20	26.4(15)	37.2(19)	22.0(15)	-0.6(13)	0.3(12)	1.8(14)
C21	25.3(16)	50(2)	23.6(16)	-6.1(15)	-2.1(13)	1.5(15)

C22	28.3(18)	63(3)	23.8(17)	-9.4(17)	-4.0(14)	3.9(18)
C23	25.9(19)	85(4)	41(2)	-10(2)	1.1(17)	1(2)
C24	28.5(16)	39(2)	23.5(16)	8.8(14)	4.0(13)	-0.7(14)
C25	22.7(15)	40.6(19)	24.2(15)	12.3(14)	-0.9(12)	-5.3(14)
C26	27.5(17)	58(2)	23.9(16)	11.8(16)	0.8(13)	-9.1(16)
C27	103(5)	58(3)	40(2)	4(2)	7(3)	-21(3)
C28A	102(8)	50(7)	56(3)	-7(3)	13(4)	-23(6)
C29A	77(5)	74(5)	57(4)	-20(4)	2(4)	-22(4)
C30A	73(5)	71(5)	70(5)	-10(4)	-15(4)	5(4)
C28B	102(8)	50(7)	56(3)	-7(3)	13(4)	-23(6)
C29B	77(5)	74(5)	57(4)	-20(4)	2(4)	-22(4)
C30B	73(5)	71(5)	70(5)	-10(4)	-15(4)	5(4)
C31	40(2)	32.5(18)	26.3(17)	-1.5(15)	-11.2(14)	-3.3(15)
C32	45(2)	30.4(17)	25.4(16)	1.1(14)	-12.4(15)	-5.6(16)
C33	66(3)	48(2)	24.5(18)	0.8(17)	-12.5(18)	-20(2)
C34	65(3)	122(6)	39(3)	-7(3)	1(3)	-10(4)
C35A	49(7)	98(11)	48(4)	-8(6)	6(5)	-2(5)
C35B	49(7)	98(11)	48(4)	-8(6)	6(5)	-2(5)
C38	36.7(18)	34.2(17)	20.0(15)	0.9(13)	3.9(14)	1.6(15)
C39	37.0(18)	26.7(16)	26.1(16)	1.9(13)	7.3(14)	4.9(14)
C40	44(2)	33.2(19)	22.4(16)	3.9(14)	7.0(14)	4.5(15)
C41	46(2)	30.1(17)	22.9(16)	-0.1(14)	5.3(15)	-0.7(16)
C42	50(2)	28.2(17)	23.9(16)	2.2(14)	8.9(15)	-1.1(16)

C43	50(2)	31.1(18)	23.9(16)	2.5(14)	8.9(15)	0.7(17)
C44	59(3)	29.3(19)	39(2)	-1.9(16)	9(2)	2.1(19)

Table 4 Bond Lengths for WINIK22.

Atom	Atom	Length/Å	Atom	Atom	Length/Å
O1	C2	1.387(5)	C7	C8	1.398(5)
O1	C13A	1.468(6)	C12	C11	1.389(5)
O1	C13B	1.398(13)	C11	C10	1.387(5)
O2	C6	1.387(4)	C11	C31	1.526(5)
O2	C14A	1.492(7)	C10	C9	1.391(5)
O2	C14B	1.550(11)	C9	C8	1.392(4)
O3	C12	1.399(4)	C9	C38	1.516(5)
O3	C15A	1.377(8)	C18	C19	1.516(4)
O3	C15B	1.389(15)	C19	C20	1.519(5)
O4	C8	1.393(4)	C20	C21	1.527(5)
O4	C16A	1.546(7)	C21	C22	1.471(5)
O4	C16B	1.706(11)	C22	C23	1.185(6)
O5	C25	1.234(4)	C25	C26	1.510(5)
O6	C18	1.237(4)	C26	C27	1.514(8)
O7	C32	1.235(5)	C27	C28A	1.544(9)
O8	C39	1.242(5)	C27	C28B	1.550(10)
N1	C24	1.453(4)	C28A	C29A	1.457(5)

N1	C25	1.333(4)	C29A	C30A	1.188(5)
N2	C17	1.455(4)	C28B	C29B	1.457(5)
N2	C18	1.343(4)	C29B	C30B	1.188(5)
N3	C31	1.447(5)	C32	C33	1.510(5)
N3	C32	1.337(5)	C33	C34	1.498(8)
N4	C38	1.451(4)	C34	C35A	1.555(15)
N4	C39	1.329(5)	C34	C35B	1.548(16)
C1	C2	1.393(5)	C35A	C36A	1.457(5)
C1	C6	1.389(5)	C36A	C37A	1.188(5)
C1	C7	1.506(4)	C35B	C36B	1.457(5)
C2	C3	1.399(5)	C36B	C37B	1.188(5)
C3	C4	1.385(5)	C36C	C37C	1.11(3)
C3	C24	1.522(5)	C39	C40	1.512(5)
C4	C5	1.387(5)	C40	C41	1.525(6)
C5	C6	1.404(4)	C41	C42	1.542(5)
C5	C17	1.511(5)	C42	C43	1.457(5)
C7	C12	1.398(5)	C43	C44	1.188(5)

Table 5 Bond Angles for WINIK22.

Atom	Atom	Atom	Angle/°	Atom	Atom	Atom	Angle/°
C2	O1	C13A	116.8(3)	C8	C9	C38	118.9(3)
C2	O1	C13B	109.8(5)	O4	C8	C7	119.7(3)

C13B	O1	C13A	133.2(6)	C9	C8	O4	118.2(3)
C6	O2	C14A	109.5(3)	C9	C8	C7	122.1(3)
C6	O2	C14B	110.8(5)	N2	C17	C5	114.6(3)
C15A	O3	C12	113.9(4)	O6	C18	N2	122.7(3)
C15A	O3	C15B	125.9(7)	O6	C18	C19	121.1(3)
C15B	O3	C12	120.2(7)	N2	C18	C19	116.1(3)
C8	O4	C16A	109.4(3)	C18	C19	C20	109.0(3)
C8	O4	C16B	106.4(4)	C19	C20	C21	113.2(3)
C25	N1	C24	122.1(3)	C22	C21	C20	113.1(3)
C18	N2	C17	121.1(3)	C23	C22	C21	178.4(4)
C32	N3	C31	122.2(3)	N1	C24	C3	113.6(3)
C39	N4	C38	121.6(3)	O5	C25	N1	123.1(3)
C2	C1	C7	121.1(3)	O5	C25	C26	121.4(3)
C6	C1	C2	118.4(3)	N1	C25	C26	115.5(3)
C6	C1	C7	120.6(3)	C25	C26	C27	109.5(4)
O1	C2	C1	119.4(3)	C26	C27	C28B	102.2(12)
O1	C2	C3	119.3(3)	C28A	C27	C26	119.2(6)
C1	C2	C3	121.3(3)	C29A	C28A	C27	105.3(7)
C2	C3	C24	120.0(3)	C30A	C29A	C28A	171.8(12)
C4	C3	C2	118.6(3)	C29B	C28B	C27	118.6(12)
C4	C3	C24	121.4(3)	C30B	C29B	C28B	163(2)
C3	C4	C5	122.1(3)	N3	C31	C11	113.9(3)
C4	C5	C6	117.8(3)	O7	C32	N3	122.1(3)

C4	C5	C17	123.1(3)	O7	C32	C33	122.2(4)
C6	C5	C17	119.1(3)	N3	C32	C33	115.7(3)
O2	C6	C1	120.0(3)	C34	C33	C32	111.0(4)
O2	C6	C5	118.1(3)	C33	C34	C35A	120.9(6)
C1	C6	C5	121.9(3)	C33	C34	C35B	105.4(7)
C12	C7	C1	121.3(3)	C36A	C35A	C34	117.5(11)
C8	C7	C1	121.2(3)	C37A	C36A	C35A	169.1(15)
C8	C7	C12	117.5(3)	C36B	C35B	C34	124.4(14)
O3	C12	C7	118.9(3)	C37B	C36B	C35B	176(3)
C11	C12	O3	119.1(3)	N4	C38	C9	113.9(3)
C11	C12	C7	121.9(3)	O8	C39	N4	122.5(3)
C12	C11	C31	119.7(3)	O8	C39	C40	121.1(3)
C10	C11	C12	118.6(3)	N4	C39	C40	116.3(3)
C10	C11	C31	121.7(3)	C39	C40	C41	108.9(3)
C11	C10	C9	121.8(3)	C40	C41	C42	112.9(3)
C10	C9	C38	122.9(3)	C43	C42	C41	112.1(3)
C8	C9	C10	118.2(3)	C44	C43	C42	177.2(4)

Table 6 Hydrogen Bonds for WINIK22.

D	H	A	d(D-H)/Å	d(H-A)/Å	d(D-A)/Å	D-H-A/°
N1	H1	O6 ¹	0.88	2.03	2.898(4)	170.2
N2	H2	O5 ²	0.88	1.98	2.853(4)	173.1

N3 H3 O8³ 0.88 2.00 2.872(4) 172.0

N4 H4 O7⁴ 0.88 1.96 2.834(4) 174.5

¹1-X,1/2+Y,1/2-Z; ²2-X,-1/2+Y,1/2-Z; ³1/2+X,1/2-Y,1-Z; ⁴-1/2+X,3/2-Y,1-Z

Table 7 Hydrogen Atom Coordinates ($\text{\AA}\times 10^4$) and Isotropic Displacement Parameters ($\text{\AA}^2\times 10^3$) for WINIK22.

Atom	x	y	z	U(eq)
H1	6610	6400	2543	35
H2	8410	1407	2673	32
H3	8465	4257	4985	41
H4	3455	5757	4822	35
H4A	7648	4060	2811	31
H10	6128	5117	4706	31
H13A	8841	7245	3765	58
H13B	8164	8731	3674	58
H13C	9006	7803	3442	58
H14A	4944	2367	3764	52
H14B	5411	751	3801	52
H14C	5109	1377	3487	52
H13D	5303	7563	3325	51
H13E	5534	8404	3620	51
H13F	5037	6787	3626	51

H14D	9069	1246	3582	47
H14E	8399	678	3877	47
H14F	8981	2264	3856	47
H15A	9900	3111	4189	71
H15B	10898	3615	3930	71
H15C	9384	2914	3863	71
H16A	3533	6713	3926	49
H16B	2907	6096	3632	49
H16C	4524	6619	3647	49
H15D	9310	6635	3797	72
H15E	10839	5911	3830	72
H15F	10112	6670	4100	72
H16D	4744	2379	3773	39
H16E	3211	2759	3644	39
H16F	3410	2550	3984	39
H17A	8344	1058	3153	36
H17B	6651	950	3135	36
H19A	7628	1219	2227	33
H19B	6012	1666	2163	33
H20A	5273	-691	2277	34
H20B	6900	-1124	2324	34
H21A	6069	-1856	1864	39
H21B	5744	-247	1782	39

H23	9969	-464	1631	61
H24A	6763	7507	2977	36
H24B	8449	7293	2969	36
H26A	8951	6526	2024	44
H26B	7341	6121	2102	44
H27A	9686	4248	2177	81
H27B	8074	3850	2243	81
H27C	8168	3798	2251	81
H27D	9727	4217	2133	81
H28A	9151	4253	1669	83
H28B	8851	2732	1812	83
H30A	4833	3728	1643	86
H28C	8340	3111	1757	83
H28D	7153	4299	1793	83
H30B	10328	6052	1305	86
H31A	9652	4427	4560	39
H31B	9398	6098	4565	39
H33A	8399	5066	5441	56
H33B	8428	6734	5501	56
H34A	6078	5074	5335	91
H34B	6050	6734	5283	91
H34C	5989	5267	5285	91
H34D	6029	6925	5362	91

H35A	4802	6672	5682	78
H35B	5537	5258	5794	78
H37A	7421	8529	6213	89
H35C	6559	6425	5844	78
H35D	5112	5673	5759	78
H37B	7447	2454	6064	89
H37C	7286	4043	6234	65
H38A	3081	5644	4341	36
H38B	3153	3959	4360	36
H40A	3330	4995	5268	40
H40B	3787	3389	5330	40
H41A	1404	2646	5230	40
H41B	957	4258	5178	40
H42A	265	3478	5647	41
H42B	1894	3164	5724	41
H44	1622	7401	5838	51

Table 8 Atomic Occupancy for WINIK22.

Atom	Occupancy	Atom	Occupancy	Atom	Occupancy
C13A	0.672(7)	H13A	0.672(7)	H13B	0.672(7)
H13C	0.672(7)	C14A	0.672(7)	H14A	0.672(7)
H14B	0.672(7)	H14C	0.672(7)	C13B	0.328(7)

H13D	0.328(7) H13E	0.328(7) H13F	0.328(7)
C14B	0.328(7) H14D	0.328(7) H14E	0.328(7)
H14F	0.328(7) C15A	0.672(7) H15A	0.672(7)
H15B	0.672(7) H15C	0.672(7) C16A	0.672(7)
H16A	0.672(7) H16B	0.672(7) H16C	0.672(7)
C15B	0.328(7) H15D	0.328(7) H15E	0.328(7)
H15F	0.328(7) C16B	0.328(7) H16D	0.328(7)
H16E	0.328(7) H16F	0.328(7) H27A	0.333(7)
H27B	0.333(7) H27C	0.667(7) H27D	0.667(7)
C28A	0.667(7) H28A	0.667(7) H28B	0.667(7)
C29A	0.667(7) C30A	0.667(7) H30A	0.667(7)
C28B	0.333(7) H28C	0.333(7) H28D	0.333(7)
C29B	0.333(7) C30B	0.333(7) H30B	0.333(7)
H34A	0.5 H34B	0.5 H34C	0.5
H34D	0.5 C35A	0.5 H35A	0.5
H35B	0.5 C36A	0.5 C37A	0.5
H37A	0.5 C35B	0.5 H35C	0.5
H35D	0.5 C36B	0.25 C37B	0.25
H37B	0.25 C36C	0.25 C37C	0.25
H37C	0.25		

Experimental

Single crystals of $C_{44}H_{54}N_4O_8$ WINIK22 were crystallized in MeOH/DCM. A suitable crystal was selected and mounted on a Cryoloop on a Bruker Venture Metaljet diffractometer. The crystal

was kept at 100 K during data collection. Using Olex2 [1], the structure was solved with the ShelXT [2] structure solution program using Direct Methods and refined with the XL [3] refinement package using Least Squares minimisation.

1. Dolomanov, O.V., Bourhis, L.J., Gildea, R.J, Howard, J.A.K. & Puschmann, H. (2009), J. Appl. Cryst. 42, 339-341.
2. Sheldrick, G.M. (2015). Acta Cryst. A71, 3-8.
3. Sheldrick, G.M. (2008). Acta Cryst. A64, 112-122.

Crystal structure determination of WINIK22

Crystal Data for $C_{44}H_{54}N_4O_8$ ($M = 766.91$ g/mol): orthorhombic, space group $P2_12_12_1$ (no. 19), $a = 9.4048(3)$ Å, $b = 9.4619(3)$ Å, $c = 46.5065(13)$ Å, $V = 4138.5(2)$ Å³, $Z = 4$, $T = 100$ K, $\mu(\text{GaK}\alpha) = 0.442$ mm⁻¹, $D_{\text{calc}} = 1.231$ g/cm³, 134128 reflections measured ($3.306^\circ \leq 2\theta \leq 121.276^\circ$), 9513 unique ($R_{\text{int}} = 0.0783$, $R_{\text{sigma}} = 0.0326$) which were used in all calculations. The final R_1 was 0.0581 ($I > 2\sigma(I)$) and wR_2 was 0.1657 (all data).

CHAPITRE 5. Discussion générale, conclusion et perspectives

«The more difficult the victory, the greater the happiness in winning.»

Par Pelé

Une analogie peut si facilement être faite après avoir réalisée de si longues études...

5.1 Discussion générale

5.1.1 Discussion autour de la copolymérisation de lactide et d'éther de propargyle et de glycidyle («*Glycidyl Propargyl Ether*»)

- Synthèse et modifications des PLA-co-GPE

L'ajout de fonctionnalité le long de la chaîne d'acide polylactique représente un vrai défi premièrement de par le caractère hydrophobe du polymère qui limite les réactions qu'à l'utilisation de solvants organiques et deuxièmement de par la fragilité de la chaîne aliphatique. En effet, la chaîne aliphatique est sensible à la fois aux bases et aux acides.

Nous avons vu dans l'introduction, deux grandes voies d'introduction de fonctionnalité le long de la chaîne aliphatique. La première utilise la polymérisation de lactides fonctionnalisées. Bien qu'intéressante, cette voie nécessite toutefois l'emploi de synthèses qui peuvent s'avérer fastidieuses pour obtenir le monomère désiré. La deuxième voie est basée sur la fonctionnalisation directe du polymère par abstraction du proton en α du carbonyle de l'ester par une base forte non-nucléophile suivi de la désactivation du carbanion formé par un électrophile. Cette voie est beaucoup plus simple du point de vue de la mise en œuvre mais souffre toutefois de réactions de transestérifications concurrentes élargissant la dispersité du polymère.

Une alternative à la première voie consiste à copolymériser les lactides (ou les lactones de façon généralisée) et un époxyde pour obtenir des polyester-co-éther. Nous avons donc proposé l'utilisation de l'éther de propargyle et de glycidyle (GPE) comme époxyde afin de générer des chaînes de polyesters avec des groupements pendants propargyles le long de la chaîne aliphatique. Les groupements propargyles permettaient de fonctionnaliser le polymère via l'utilisation de la CuAAC et de composés portant des azotures. Cette approche proposait donc une alternative à la méthode précédemment développée et employée par Hildgen *et al.* reposant sur la copolymérisation en masse de lactide et d'éther d'allyle et de glycidyle («*Allyl Glycidyl Ether*»: AGE) et dont la modification souffrait de clivages non négligeables de la chaîne aliphatique [1]. Ces clivages résultent des conditions drastiques utilisées lors des modifications post-polymérisation pour former des chaînes de PLA portant des groupements acides carboxyliques pendants (cf. Schéma 1.8).

La CuACC donne d'abord accès à une plus large gamme des fonctionnalisations orthogonales de par la facilité d'obtention des composés portant un azoture qui est d'ailleurs en général, l'un des points essentiels de la force motrice de la CuACC. D'autre part, cette approche

ne nécessite pas de modification post-polymérisation du polymère obtenu. Par conséquent, la CuAAC permet de réduire le nombre d'étapes nécessaires à la fonctionnalisation de la chaîne de PLA-co-GPE qu'à une seule étape contre quatre pour la méthode conventionnellement employée pour modifier et fonctionnaliser le PLA-co-AGE. La réduction du nombre d'étape réactionnelle est un facteur important si on prend en compte non seulement la mise en œuvre mais aussi les avantages économiques. Nous avons démontré que la CuAAC était une voie de fonctionnalisation inoffensive pour la chaîne de polyester via l'insertion du 9-azidoanthracène comme molécule modèle. Toutefois, la fonctionnalisation via la CuAAC ne se limite pas qu'aux molécules de faibles masses molaires. Elle peut être appliquée aussi aux macromolécules. D'ailleurs, le greffage de chaînes PEG fut aussi réalisé par cette méthode (Rabanel *et al.* – manuscrit en cours).

- Avantages de l'approche synthétique

Cette approche présente l'avantage d'utiliser en plus du PLA, des glycidyles qui après ouverture de cycle génèrent des dérivés du glycérol (une des molécules les plus représentées dans le monde du vivant). Les époxydes sont des composés facilement accessibles par la synthèse et dont il existe aussi une très grande variété disponible sur le commerce (l'éther de propargyle et de glycidyle est lui-même disponible sur le commerce). En outre, un avantage non négligeable réside dans l'affranchissement de solvants organiques, via la polymérisation en masse, pour obtenir le PLA-co-GPE.

- Désavantages de l'approche synthétique

Le désavantage majeur de cette copolymérisation réside dans l'incapacité d'obtenir non seulement des polymères de masses molaires élevées mais aussi avec plus ou moins le pourcentage molaire de groupements pendants (pourcentage égal au taux d'époxyde inséré au début de la polymérisation) attendu au sein du polymère final. Ceci serait vraisemblablement dû à la différence de mécanisme d'ouverture de cycle des deux monomères. L'ouverture de l'époxyde contrairement au lactide, nécessite deux centres métalliques (deux molécules de Sn(Oct)₂) induisant des réactions de transfert (départ d'une chaîne croissante présente sur un des centres métalliques). Ce postulat est soutenu par le fait que la diminution de chaîne est observée avec l'augmentation de la quantité de GPE introduite au début de la polymérisation. Par ailleurs, la dispersité \bar{D} obtenue pour cette copolymérisation ($1.7 < \bar{D} < 2$) n'est pas idéale pour des applications biomédicales. Les propriétés des matériaux (surtout pour de la formulation)

dépendent grandement de la dispersité du matériau. Il serait donc préférable d'avoir une dispersité plus étroite pour avoir des résultats plus répétables.

Un deuxième désavantage de cette méthode est l'emploi de cuivre pour effectuer les fonctionnalisations post-polymérisation qui n'est pas compatible aux études nécessitant de la culture cellulaire à cause de la toxicité du cuivre. Il est donc nécessaire de réaliser des étapes de purifications rigoureuses pour s'assurer de son élimination.

5.1.2 Discussion autour des polymères en étoile à base de poly(2-isopropyl-2-oxazoline)s (S-PIPOZ)

- Voies de synthèse des S-PIPOZ

Dans l'étude des polymères en étoile, nous sommes d'abord focalisés sur la synthèse des S-PIPOZ pour obtenir des étoiles avec une grande fidélité de structure. Deux approches ont été utilisées lors de cette étude : l'approche divergente «*core-first*» et l'approche convergente «*coupling-onto*». L'approche «*core-first*» est celle qui est la plus utilisée dans la littérature pour deux raisons. La première est la simplicité des procédures expérimentales. En effet, le polymère en étoile est réalisé en une étape par polymérisation à partir du cœur plurifonctionnel (amorceur). La deuxième est la simplicité de la procédure de purification qui se limite à l'élimination du monomère par précipitation ou par dialyse. Toutefois, cette approche s'est révélée infructueuse quel que soit l'amorceur utilisé. Des analyses GPC sur des essais réalisés aussi bien avec l'amorceur **Core-4-OTs** (cf. Schéma 3.1, chapitre 2) qu'avec un amorceur **Core -4-Br** ont révélé une population bimodale au-delà de 30% de conversion (cf. Figure 5.1 ci-après). Ces deux populations se sont avérées de nature différente. La première population vient de la polymérisation à partir du cœur amorceur et la deuxième vraisemblablement de réactions de transfert de chaîne au monomère (cf. Schéma 1.11, chapitre 1). En plus de ces réactions secondaires, le polymère issu de la polymérisation à partir du cœur amorceur présente des incohérences structurales (des bras-polymères de tailles différentes) résultant d'un amorçage séquentiel.

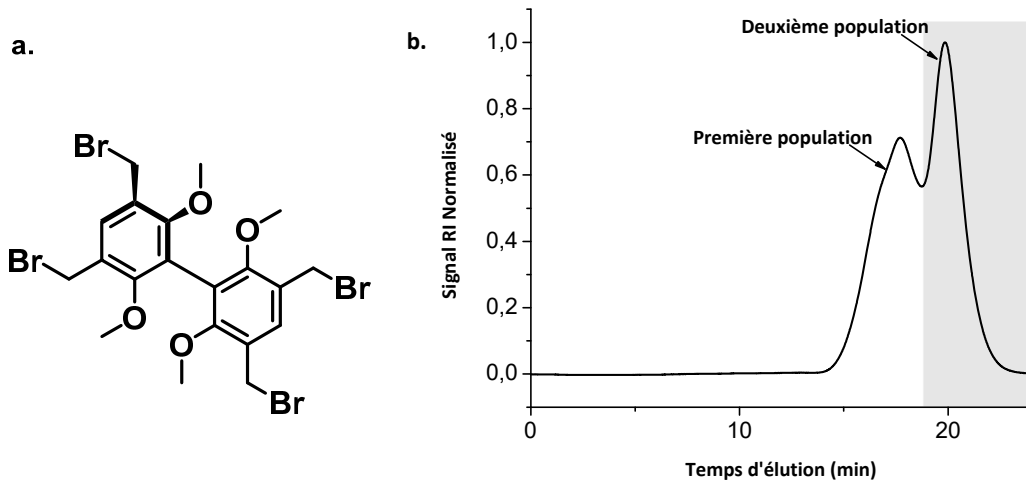


Figure 5. 1 a. Représentation du cœur Core-4-Br; **b.** Chromatogramme d'un S-PIPOZ-12K obtenu à partir du cœur Core-4. L'analyse a été réalisée dans le DMF avec une concentration en polymère de 5 g/L et un débit de 0,3 mL/min. Le taux de conversion pour cet échantillon est de 80%.

Malgré le développement de méthodes de couplage efficaces telles que la CuACC, l'utilisation de l'approche convergente «*coupling-onto*» reste encore modérée et ce à cause de la purification rigoureuse et nécessaire pour enlever les bras-polymères libres (ceux-ci sont généralement ajoutés en excès afin de maximiser les rendements réactionnels). Dans notre cas, cette étape de purification fut facilitée en prenant compte de la différence de température de transition de phase du S-PIPOZ et de la chaîne linéaire de PIPOZ (L-PIPOZ). Les L-PIPOZs de faibles masses molaires ont généralement une température de transition de phase supérieure à celle des S-PIPOZ. Les S-PIPOZs peuvent donc être facilement isolées par fractionnement centrifuge isotherme (cf. Figure 3.4). Cette méthode d'isolement présente toutefois deux désavantages. Premièrement, elle nécessite que les deux fractions possèdent des températures bien distinctes (plus 3 °C entre les deux transitions). Ensuite, il faut qu'au moins une fraction possède une température de transition de phase inférieure à 40°C qui est la limite maximale de chauffe de la plupart des centrifugeuses de laboratoire. Cependant, le couplage de cette méthode de purification à l'ultrafiltration en solution aqueuse ou méthanolique afin d'éliminer les ions tels que le cuivre permet d'obtenir des S-PIPOZs d'une très grande pureté et d'excellents rendements (80-90% de rendement).

La méthode «*coupling-onto*» contrairement à la méthode «*core-first*», nous a permis d'avoir une estimation directe du nombre de bras de polymère présent sur le cœur, par un simple rapport entre la masse molaire du polymère en étoile et la masse molaire des bras-polymères utilisés. Cette méthode a une très bonne reproductibilité et les S-PIPOZ obtenus ont une structure bien définie (très bonne cohérence entre les résultats obtenus entre les analyses UV, GPC et RMN ^1H).

- Fonctionnalisation des S-PIPOZs

Dans la deuxième partie de l'étude, nous avons synthétisé des S-PIPOZs possédant des groupements nitro en position- α . Ce groupement peut facilement être réduit en amine par hydrogénation catalytique ou par des sels métalliques. L'amine formée, couplé à la solubilité de la PIPOZ, permet de faire des fonctionnalisations du polymère à la fois dans les solvants organiques et dans les phases aqueuses contrairement au PLA-co-GPE donc la fonctionnalisation ne se limite qu'aux solvants organiques. Nous avons pu fonctionnaliser efficacement les S-PIPOZ 2 avec des chaînes de polyéthylène glycol PEG en utilisant l'amination réductrice comme technique de couplage. Cette technique permet de coupler un aldéhyde à une amine pour former une amine secondaire et est donc adapté au couplage de macromolécules telles que les dextrans ou encore l'acide hyaluronique. L'acide hyaluronique (HA) possède un très fort pouvoir hydratant et est biocompatible, biodégradable et approuvé par la FDA (cf. Figure 5.2).

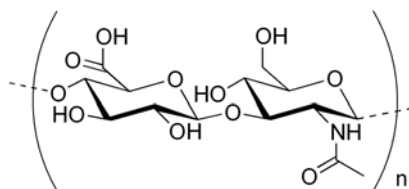


Figure 5. 2 Structure de l'acide hyaluronique

L'acide hyaluronique se présente comme une alternative au PEG, dont l'utilisation dans les nanotransporteurs et en pharmaceutique commence à être sujette à controverse [2]. Des S-PIPOZ-*b*-HA ont été réalisés entre les S-PIPOZ2 et des acides hyaluroniques de 6 kDa via l'amination réductrice et purifiés par ultrafiltration sur une membrane de cellulose régénérée de 30 kDa MWCO. Ils n'ont pas été présentés dans cette thèse car les analyses sont toujours en cours. Toutefois, le spectre RMN ^1H du polymère est illustré sur la Figure 5.3 ci-dessous. Ce spectre atteste du succès du couplage par la présence de l'acide hyaluronique. Cependant l'efficacité du couplage doit être résolue par la détermination de la masse molaire du polymère obtenu.

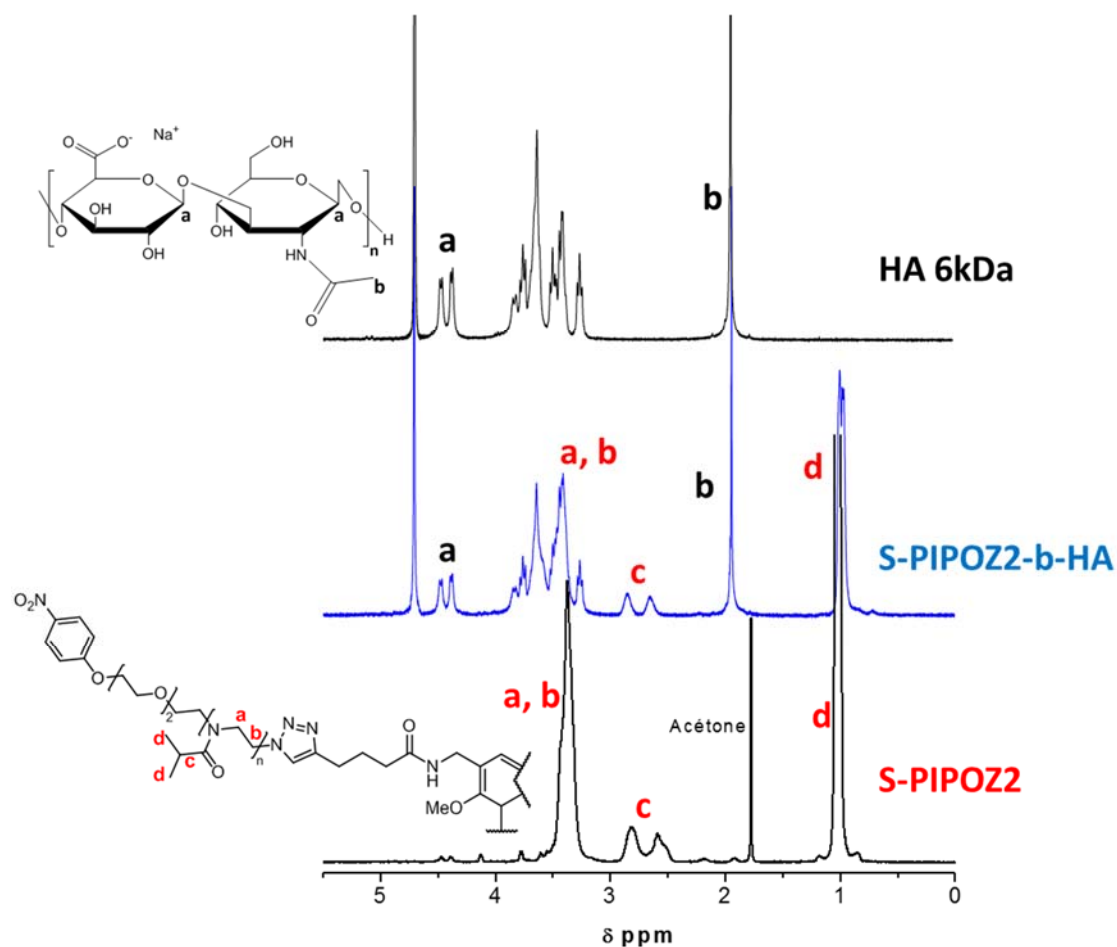


Figure 5. 3 Spectres RMN 1H de l'acide hyaluronique (HA; en noir), de l'étoile à bloc **S-PIPOZ2-b-HA** (en bleu) et de la **S-PIPOZ2** (en rouge). Les spectres du HA et de la S-PIPOZ-b-HA ont été réalisés dans le D₂O tandis que le spectre de la S-PIPOZ dans le CDCl₃. Tous les spectres ont été réalisés à température ambiante.

- Applications potentielles des S-PIPOZs en tant que nanotransporteurs

Il existe une multitude de travaux dans la littérature portant sur les polymères thermosensibles pour des applications biomédicales. Pour la plupart d'entre eux, le PNIPAM est polymère le plus cité. Nous avons vu que le PNIPAM et la PIPOZ sont des isomères structuraux. Cependant, l'utilisation du PNIPAM fait encore débat au sein de la communauté scientifique pour des applications biomédicales à cause de la toxicité de son monomère, des possibles réactions de dépolymérisations et sa bioaccumulation chronique dans le corps [3]. À ce titre, la PIPOZ représenterait une alternative au PNIPAM. Jordan *et al.* se sont penchés sur la biodistribution et l'excrétion des poly(2-alkyl-2-oxazoline)s [4]. Ils ont montré que la poly(2-méthyl-2-oxazoline)

(PMEOZ) et la poly(2-éthyl-2-oxazoline) de faibles masses molaires étaient rapidement excrétés dans les urines. De plus, ils n'ont observé aucune accumulation des polymères mentionnés ci-dessus dans les tissus. Par ailleurs, Luxenhofer *et al.* ont étudié la cytotoxicité et l'absorption cellulaire d'une large gamme de poly(2-alkyl-2-oxazoline)s amphiphile à bloc dont la PMEZOZ-b-PIPOZ [5]. Ils ont montré que la PMEZOZ-b-PIPOZ n'était pas cytotoxique et ce jusqu'à 10 g/L. ces deux études montre l'inocuité des poly-(2-oxazoline)s. Les polymères en étoile S-PPOZ pourraient donc être utilisés comme transporteurs de médicaments hydrophobes. Pour cela, il faudrait tout d'abord abaisser la température de transition de phase à une valeur avoisinant la température ambiante (20-25°C) pour faciliter les étapes d'encapsulation et de formulation. Notre système amphiphile S-PIPOZ2-b-PEG présente actuellement une T_{max} de 45.8°C. En l'état, il ne se prête pas à l'encapsulation de molécules hydrophobes. Il a été démontré que la LCST des poly(2-alkyl-oxazoline)s hydrosoluble pouvait être ajustée à 21°C et moins par copolymérisation gradient avec une oxazoline hydrophobe telle que la 2-butyl-2-oxazoline ou la 2-nonyl-2-oxazoline [6]. Pour cela, il faudrait préparer un système similaire au S-PIPOZ-b-PEG composé d'un copolymère gradient à base de PIPOZ et de butyle ou de nonyle au lieu de la PIPOZ uniquement. Les PIPOZ en plus de leur caractère amphiphile sous induction thermique, possède une chaîne avec une grande polarité de par l'amide tertiaire. Cette polarité est un atout pour le transport de drogues hydrophobes. Beaucoup de drogues hydrophobes, telles que le paclitaxel ou encore la doxorubicine (cf. Figure 5.4), possèdent des groupements polaires qui peuvent donc interagir par des interactions dipolaires ou via des liaisons hydrogènes avec les amides tertiaires de la chaîne.

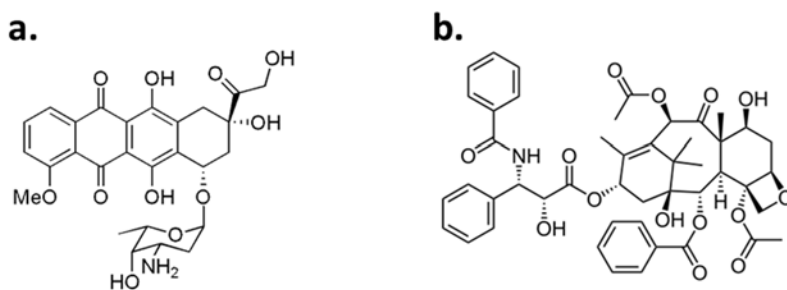


Figure 5. 4 Représentation de la doxorubicine (a) et du paclitaxel (b)

Luxenhofer *et al.* ont utilisé cette propriété pour encapsuler du paclitaxel (jusqu'à 45% en poids) au sein de micelles composés de tribloc de PMEZOZ-b-PBuOZ-PMEZOZ [7].

L'introduction chez un hôte, de corps cristallins biodégradables, induit sur le long terme des réactions d'inflammation [8]. Dans l'introduction et au cours de cette thèse nous avons vu que La

PIPOZ cristallisait sous un chauffage prolongé au-delà de sa température de transition de phase. Diehl *et al.* ont démontré que la PIPOZ, dont la T_{CP} est de 38°C, cristallisait à 40°C après 24 h de chauffe. Dans notre étude, les homopolymères de S-PIPOZ et le polymère linéaire L-PIPOZ-*b*-PEG se sont révélés cristallins après une chauffe supérieure de 20°C à leur température de transition de phase. Dans des conditions similaires, le S-PIPOZ-*b*-PEG n'a montré aucun signe de cristallisation et ce même après trois jours de chauffe. Le PEG, en plus de donner un caractère amphiphile au système et d'assurer la furtivité du système vis-à-vis des protéines plasmatiques, prévient les polymères en étoile de cristalliser. Ce phénomène constitue un atout de plus pour des applications biomédicales. Toutefois à cause scepticisme croissant à l'égard de l'utilisation du PEG, il serait mieux de le remplacer par l'acide hyaluronique pour assurer la furtivité du système.

5.2 Conclusion générale

Cette thèse avait deux objectifs principaux qui consistaient dans un premier temps à élaborer une stratégie de synthèse permettant d'apporter des fonctionnalités au sein de la chaîne aliphatique des acides polylactiques (PLA) et permettant une fonctionnalisation post-polymérisation sans clivage de la chaîne aliphatique.

L'apport de fonctionnalité le long de la chaîne aliphatique du PLA fut réalisé par copolymérisation aléatoire en masse entre le dilactide et un époxyde fonctionnalisé dérivant du glycérol, le glycidyl propargyl ether. Cette stratégie s'est avérée à la fois performante et problématique. Elle fut performante car l'introduction de fonctionnalité le long de la chaîne de PLA fut observée. Toutefois, le caractère problématique se définit par l'absence de contrôle sur les masses molaires lors de la copolymérisation en fonction du taux d'époxyde initialement introduit. Ce phénomène est vraisemblablement dû à des mécanismes de polymérisation différents entre les deux monomères.

Le second objectif consistait à étudier l'effet de l'architecture et de la composition de poly-2-isopropyl-2-oxazolines en étoile (S-PIPOZ) sur leurs propriétés physico-chimiques. Pour répondre à cet objectif, nous avons tout d'abord déterminé une voie de synthèse permettant l'obtention de S-PIPOZs avec une grande fidélité dans la microstructure. Il s'est avéré que la méthode convergente «*coupling-onto*» fut la méthode de choix. De plus, nous avons mis en exergue un système de purification basé sur le fractionnement centrifuge isotherme. Ce système de purification, dans le cas des polymères thermosensibles, s'avèrent être une méthode de choix

rapide et efficaces pour la purification des polymères en étoiles voir des polymères ramifiés en générale préparés par la méthode «*coupling-onto*».

Dans un deuxième temps, l'effet de l'architecture et de la composition des polymères en étoile sur la température de transition de phase et les propriétés du polymère a été exploré. L'étude a été réalisée via la comparaison d'homo PIPOZ linéaire, de PIPOZ-b-PEG, d'homo PIPOZ en étoile et d'un PIPOZ-b-PEG en étoile. Il s'avère que la température de transition de phase est indépendante de l'architecture. La diminution observée est plus une résultante conjointe de l'effet de la masse molaire et des bouts de chaînes. L'effet de la masse molaire est dans le cas des S-PIPOZs inverse à celui observé pour L-PIPOZs. La température de transition de phase augmente avec l'accroissement de la masse molaire. L'effet des bouts de chaînes est plus important dans le cas des S-PIPOZs à cause de l'architecture (plus grande densité de bout de chaînes).

5.3 Perspectives

Pour pallier le manque de contrôle sur le taux d'époxyde inséré et la masse molaire du polymère obtenu, il serait judicieux, dans le cas de la synthèse de PLA-co-GPE, de développer des catalyseurs capables de polymériser à la fois les lactones et les époxydes. Il a été exposé au sein du premier chapitre que l'ouverture des époxydes a lieu via un mécanisme impliquant deux centres métalliques. De surcroît, ces catalyseurs se doivent d'être pluri-métalliques et de répondre aux recommandations exposées par Coates *et al.* (à savoir une distance intermétalliques d'environ 6Å.)[9, 10]. Nous avons pensé à des catalyseurs avec trois (cf. Figure 5.5 b.) et quatre centres métalliques (cf. Figure 5.5 a.). Nous désirons opter pour des catalyseurs avec si possibles, des métaux biocompatibles tels que le calcium. La Figure ci-dessous illustre le type de catalyseurs visés.

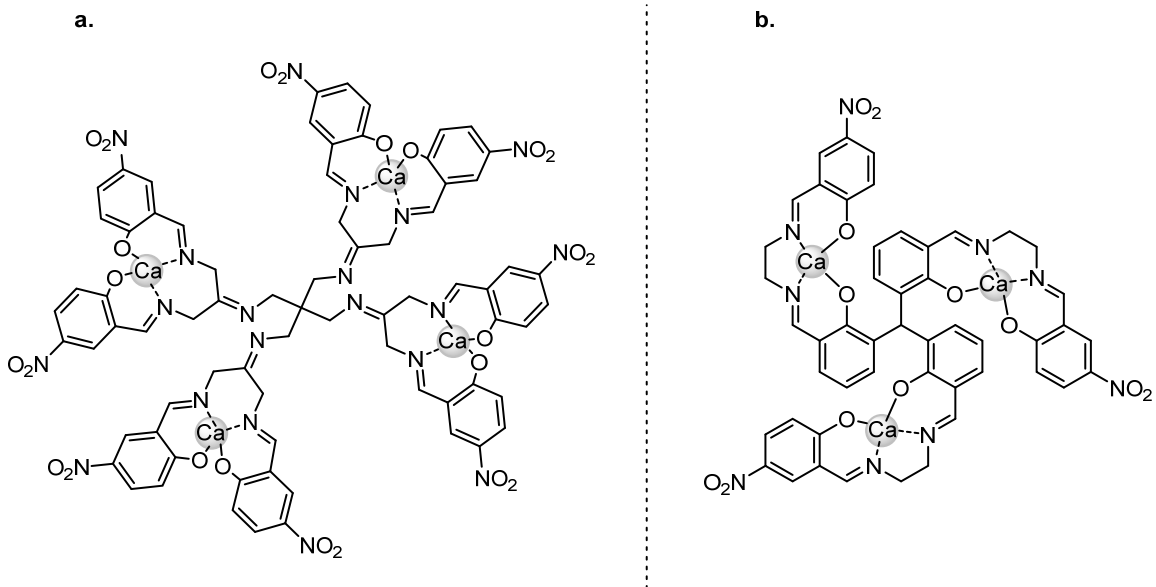


Figure 5.5 Illustration du type de catalyseurs visés pour la synthèse contrôlée de PLA-co-GPE. Les groupements nitro en *para* servent à augmenter l'acidité de Lewis de l'atome de calcium.

Afin de pallier la toxicité du cuivre, qui peut être présent sous forme de trace dans les polymères (PLA-co-GPE fonctionnalisé) et qui risque de gêner d'éventuelles études de cultures cellulaires, il serait préférable d'utiliser des époxydes composés d'alcynes encombrés au lieu d'alcynes vrais. Cette opération permettrait de s'affranchir de la CuAAC classique et d'opter pour une chimie clic libre de cuivre («*Copper Free Alkyne-Azide Cycloaddition*»)[11].

En ce qui concerne les S-PIPOZs, Il serait aussi envisageable de modéliser le cœur de tétratosylé utilisé dans l'approche «*core-first*» afin de visualiser l'agencement des groupements tosyloxy et des bras lors de l'amorçage dans le solvant de polymérisation (acétonitrile). Il se pourrait qu'il y ait un arrangement préférentiel favorisant les réactions de transfert de chaîne au détriment de la propagation de la chaîne de PIPOZ.

En outre, il serait aussi nécessaire, voir primordial, d'étudier l'effet de la concentration en sels sur la température de transition de phase de ces derniers. Comme décrit dans l'introduction, la LCST d'un polymère thermosensible est dépendante du type et de la concentration en sels de la solution. Cette étude permettra entre autres d'évaluer l'abaissement ou l'augmentation de la température de transition de phase des S-PIPOZs en présence de sels et de simuler leur comportement dans les systèmes biologiques où les sels sont omniprésents. Il se pourrait que la température de transition de phase des S-PIPOZ-PEG soit abaissée à des valeurs avoisinant les

conditions physiologiques. En outre, il est aussi important de vérifier l'innocuité des S-PIPOZs et des S-PIPOZ-PEG via des tests de cytotoxicités bien qu'il soit communément accepté que les poly(2-alkyl-2-oxazoline)s soient biocompatibles et non-toxique.

La présence de ramifications abaisse, elle aussi, la LCST du PIPOZ. Il serait intéressant d'étudier des systèmes globulaires à fortes ramifications tels que les polymères en étoile dendritique de deux à cinq générations (cf. Figure 5.6 a.). Les polymères en étoile dendritique (Dendrimer-like star polymer en anglais) sont des macromolécules couplant à la fois les propriétés tridimensionnelles des polymères en étoiles et des dendrimères. Wan et al. ont montré que la LCST du PNIPAM pouvaient être abaissé de 38°C à 26°C en passant de la génération G0 à G2 [12]. Les polymères en étoiles dendritique existent avec des polybutadiènes [13], des polycaprolactones [14] des PEOs [15, 16], des polystyrènes ou des mélanges de polystyrènes et de méthacrylates [17, 18], etc. Il n'existe pas à ce jour de tels systèmes à base de PIPOZ voire même d'oxazolines. De tels systèmes par modulation (par copolymérisation avec de la 2-butyl-2-oxazoline) ou pas de leurs températures de transition de phase, pourraient tout comme les dendrimères, internaliser un plus grand nombre de molécules hydrophobes entre les ramifications de leurs branches. De telles architectures peuvent être facilement accessibles par la méthode convergente (« coupling-onto »). Il serait aussi intéressant de synthétiser des polymères en étoile dendritique panachés et séquentiels (cf. Figure 5.6 b) à base de PIPOZ-PLA. De tels systèmes polymères se présentent comme des concurrents forts intéressants en tant que nano-transporteurs de médicament. Ils possèdent non seulement un plus grand nombre d'interstices entre chaque génération de bras, mais aussi une structure plus globulaire (ils se comporteront plus comme des micelles unimoléculaires) et un plus grand nombre de fonctionnalités à leur périphérie permettant ainsi l'accrochage de plus de molécules telles que des prodrogues.

Enfin, il serait aussi intéressant de synthétiser et d'explorer l'auto-assemblage en solution aqueuse sous induction thermique de polymères en étoiles panachés (« miktoarms ») à base de PIPOZ et de polyéthylène glycol (PEG), avec une variante du cœur pentaérythrite étudié dans le chapitre 2 et composés d'un, de deux ou de trois bras PIPOZ (cf. Figure 5.6 c, d, et e).

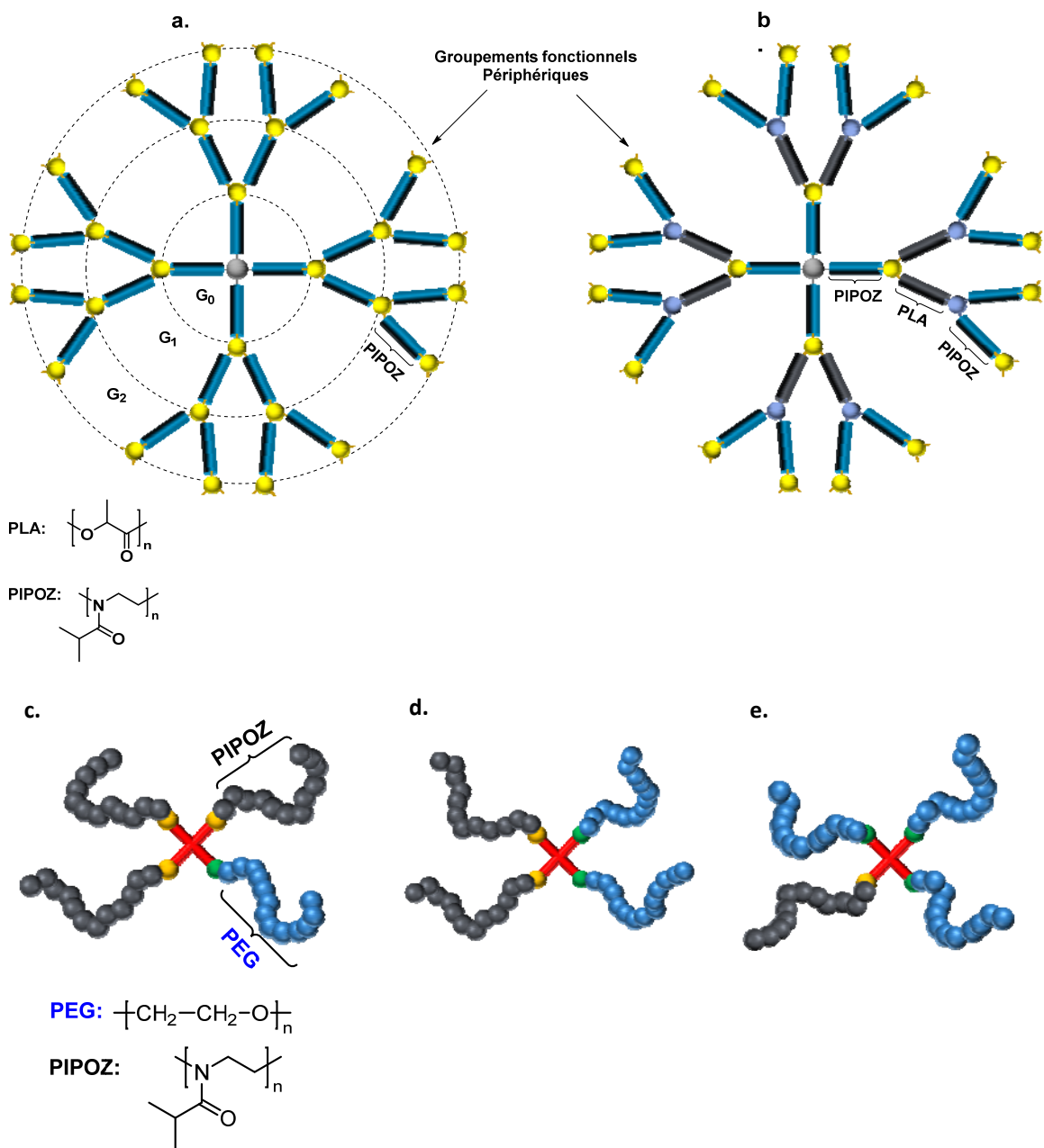


Figure 5. 6 Représentation de polymères en étoile dendritique (**a.** homopolymère de PIPOZ; **b.** polymère panaché séquentiel) à deux générations (G₂) et des polymères en étoile panachés composé de PIPOZ et de PEG (**c.**, **d.** et **e.**)

5.4 Références

- [1] V. Nadeau, G. Leclair, S. Sant, J.-M. Rabanel, R. Quesnel, P. Hildgen, Synthesis of new versatile functionalized polyesters for biomedical applications, *Polymer* 46(25) (2005) 11263-11272.
- [2] A. Mero, G. Pasut, L.D. Via, M.W.M. Fijten, U.S. Schubert, R. Hoogenboom, F.M. Veronese, Synthesis and characterization of poly(2-ethyl 2-oxazoline)-conjugates with proteins and drugs: Suitable alternatives to PEG-conjugates?, *Journal of Controlled Release* 125(2) (2008) 87-95.
- [3] M. Patenaude, T. Hoare, Injectable, degradable thermoresponsive poly(*N*-isopropylacrylamide) hydrogels, *ACS Macro Letters* 1(3) (2012) 409-413.
- [4] F.C. Gaertner, R. Luxenhofer, B. Blechert, R. Jordan, M. Essler, Synthesis, biodistribution and excretion of radiolabeled poly(2-alkyl-2-oxazoline)s, *Journal of Controlled Release* 119(3) (2007) 291-300.
- [5] R. Luxenhofer, G. Sahay, A. Schulz, D. Alakhova, T.K. Bronich, R. Jordan, A.V. Kabanov, Structure-property relationship in cytotoxicity and cell uptake of poly(2-oxazoline) amphiphiles, *Journal of Controlled Release* 153(1) (2011) 73-82.
- [6] S. Huber, R. Jordan, Modulation of the lower critical solution temperature of 2-Alkyl-2-oxazoline copolymers, *Colloid and Polymer Science* 286(4) (2008) 395-402.
- [7] R. Luxenhofer, A. Schulz, C. Roques, S. Li, T.K. Bronich, E.V. Batrakova, R. Jordan, A.V. Kabanov, Doubly amphiphilic poly(2-oxazoline)s as high-capacity delivery systems for hydrophobic drugs, *Biomaterials* 31(18) (2010) 4972-4979.
- [8] J.E. Bergsma, W.C. de Bruijn, F.R. Rozema, R.R.M. Bos, G. Boering, Late degradation tissue response to poly(l-lactide) bone plates and screws, *Biomaterials* 16(1) (1995) 25-31.
- [9] H. Ajiro, K.L. Peretti, E.B. Lobkovsky, G.W. Coates, On the mechanism of isospecific epoxide polymerization by salen cobalt(III) complexes: Evidence for solid-state catalysis, *Dalton Transactions* (41) (2009) 8828-8830.
- [10] R.M. Thomas, P.C.B. Widger, S.M. Ahmed, R.C. Jeske, W. Hirahata, E.B. Lobkovsky, G.W. Coates, Enantioselective epoxide polymerization using a bimetallic cobalt catalyst, *Journal of the American Chemical Society* 132(46) (2010) 16520-16525.
- [11] J.C. Jewett, C.R. Bertozzi, Cu-free click cycloaddition reactions in chemical biology, *Chemical Society reviews* 39(4) (2010) 1272-1279.

- [12] X. Wan, J. Xu, S. Liu, Facile synthesis of dendrimer-like star-branched poly(isopropylacrylamide) via combination of click chemistry and atom transfer radical polymerization, *Science China Chemistry* 53(12) (2010) 2520-2527.
- [13] K. Orfanou, H. Iatrou, D.J. Lohse, N. Hadjichristidis, Synthesis of well-defined second (G-2) and third (G-3) generation dendritic polybutadienes, *Macromolecules* 39(13) (2006) 4361-4365.
- [14] M. Trollsås, J.L. Hedrick, Dendrimer-like star polymers, *Journal of the American Chemical Society* 120(19) (1998) 4644-4651.
- [15] X. Feng, D. Taton, R. Borsali, E.L. Chaikof, Y. Gnanou, pH responsiveness of dendrimer-like poly(ethylene oxide)s, *Journal of the American Chemical Society* 128(35) (2006) 11551-11562.
- [16] X.-S. Feng, D. Taton, E.L. Chaikof, Y. Gnanou, Toward an easy access to dendrimer-like poly(ethylene oxide)s, *Journal of the American Chemical Society* 127(31) (2005) 10956-10966.
- [17] H.-S. Yoo, T. Watanabe, A. Hirao, Precise synthesis of dendrimer-like star-branched polystyrenes and block copolymers composed of polystyrene and poly(methyl methacrylate) segments by an iterative methodology using living anionic polymerization, *Macromolecules* 42(13) (2009) 4558-4570.
- [18] A. Hirao, A. Matsuo, T. Watanabe, Precise synthesis of dendrimer-like star-branched poly(methyl methacrylate)s up to seventh generation by an iterative divergent approach involving coupling and transformation reactions, *Macromolecules* 38(21) (2005) 8701-8711.

Annexe 1: Réactions secondaires et problèmes rencontrés dans la cycloaddition alcyne-azoture catalysée par le cuivre (CuAAC)

1. Les réactions d'homocouplage

La réaction secondaire la plus commune catalysée par le cuivre est la réaction d'homocouplage d'alcyne aboutissant à de faibles rendements de cycloaddition.

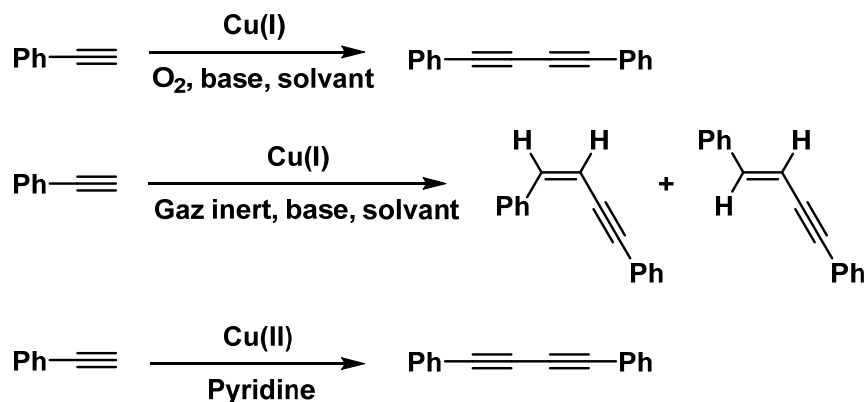


Schéma A. 1 Réaction d'homocouplage d'alcyne [1]

Ces réactions secondaires sont favorisées par des bases très peu encombrées comme le TMEDA, la pyridine ou la triéthylamine. Elles peuvent être évitées par ajout de bases stériquement encombrées [1, 2].

2. Problème lié au cuivre

2.1 Saturation du cuivre

Pour qu'il y ait formation du noyau triazole, il faut que l'acétylide-CuI soit en contact avec l'azide. Si le complexe est entouré d'acétylènes flexibles, ces derniers peuvent saturer celui-ci, l'empêchant de réagir avec l'azide. Un des plus fameux cas de saturation du cuivre est celui reporté par Zhao *et al.* lors de la synthèse du calixarène. Pour éviter ces réactions de saturation du cuivre, il faut faire la réaction en remplaçant l'acétylène par l'azide et faire la réaction de cycloaddition en apportant celui-ci [1, 2].

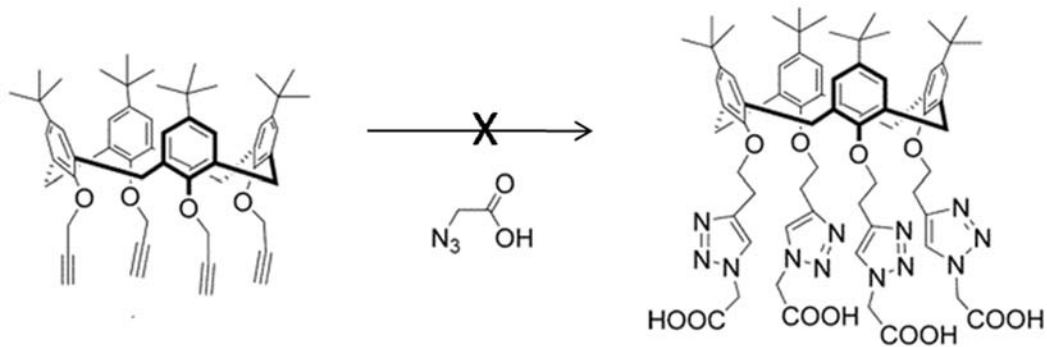


Schéma A. 2 Cas concret de saturation du cuivre. Reproduit avec permission de la Réf.[3]
Copyright © 2005, American Chemical Society.

2.2 Toxicité du cuivre

Bien que le métabolisme utilise du cuivre pour catalyser des réactions biochimiques, une trop forte absorption de cuivre peut avoir de graves conséquences. Un fort taux d'eau d'absorption du cuivre est associé à des désordres neurodégénératifs, la maladie d'Alzheimer, les hépatites et les maladies des reins. Le cuivre dans le milieu physiologique peut facilement donner ou accepter des électrons changeant ainsi d'état d'oxydation. Ceci peut conduire à la réduction du peroxyde d'hydrogène engendrant des radicaux hydroxyles.

Si les polymères sont destinés à des applications biomédicales ou pharmaceutiques, il faut que la concentration en cuivre soit la plus basse possible. Il faut donc trouver des moyens de l'éliminer efficacement. Ce dernier peut être efficacement enlevé par des filtrations répétées. Liu *et al.* ont développé un système Click-PEG de vectorisation où 98% du cuivre a pu être enlevé par incubation en présence de l'EDTA suivi d'une étape de dialyse [1].

3. Caractère explosif des azotures

Les azotures ioniques comme l'azoture de sodium sont des composés organiques stables. Les azotures liés de façon covalente ou à des métaux lourds ont une décomposition thermique violente voire explosive. Pour une manipulation correcte des azotures, la règle est que le nombre d'azote ne doit pas dépasser le nombre d'atomes de carbone de telle sorte que $(N_c + N_o)/N_N \geq 3$ [4]. Toutefois l'azoture de sodium se décompose à 275°C et réagit violemment avec CS₂, l'acide nitrique, le diméthyle sulfate, et une série de métaux lourds incluant le cuivre et le plomb. Dans l'eau ou en présence d'acide de Brønsted, il se décompose en acide azohydrique, hautement toxique et explosif. Les polymères liés aux azotures forment des explosifs de di et triazidométhane avec le dichlorométhane et le chloroforme [4].

Références

- [1] C. Hein, X.-M. Liu, D. Wang, Click Chemistry, A powerful tool for pharmaceutical sciences, *Pharmaceutical Research* 25(10) (2008) 2216-2230.
- [2] H.H. Victoria D. Bock, Jan H. van Maarseveen,, Cu^I-catalyzed alkyne-azide ``click`` cycloadditions from a mechanistic and synthetic perspective, *European Journal of Organic Chemistry* 2006(1) (2006) 51-68.
- [3] E.-H. Ryu, Y. Zhao, Efficient synthesis of water-soluble calixarenes using click chemistry, *Org. Lett.* 7(6) (2005) 1035-1037.
- [4] C.G. Stefan Bräse, Kerstin Knepper, Viktor Zimmermann,, Organic azides: An exploding diversity of a unique class of compounds, *Angewandte Chemie International Edition* 44(33) (2005) 5188-5240.

Annexe 2 : Présentation des différentes voies de synthèse de dendrimères

Les dendrimères peuvent être synthétisés selon deux approches qui sont: la méthode divergente et la méthode convergente. Dans la **méthode divergente**, le dendrimère est construit de façon radiale couche par couche par un jeu de protection/déprotection à partir du cœur central multifonctionnel (cf. figure 1.13).

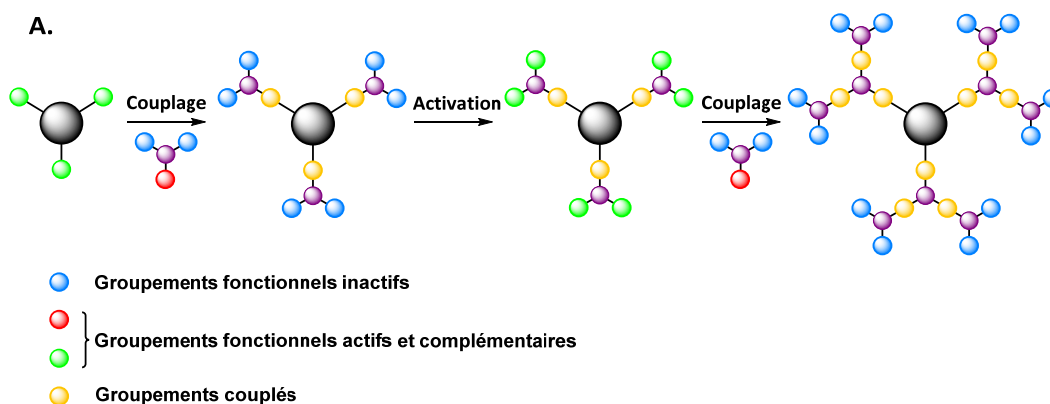


Figure A. 1 Synthèse de dendrimère par approche divergente. (Adapté de Sowinska et al., 2014)[1].

Fritz Vögtle et coll., en 1978, furent les premiers à en publier une synthèse contrôlée utilisant cette méthode (voir schéma 1.8 page suivante). Ils synthétisèrent une série de dendrimère polyamine par di-cyanoéthylsation de diamine primaire catalysée par l'acide acétique suivi de la réduction subséquente des nitriles formés en présence de sels de cobalt (II) et de borohydrure de sodium formant les nouveaux points de branchements[2].

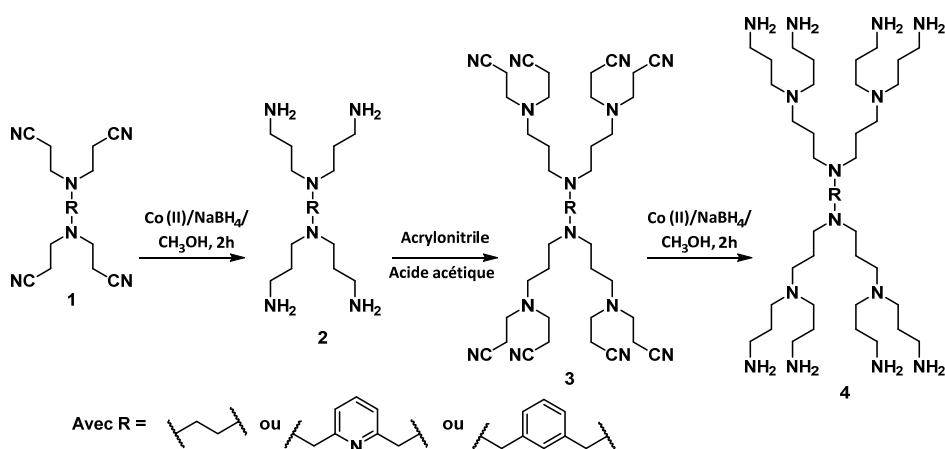


Schéma A. 3 Première voie de synthèse de dendrimère réalisée. (Adapté de Vögtle et al., 1978)[2]

Dans la méthode convergente, le dendrimère est synthétisé par étape en partant des extrémités extérieures jusqu'à l'obtention de branches appelées *dendrons*. Ces dendrons sont ensuite couplés au coeur afin d'obtenir le dendrimère.

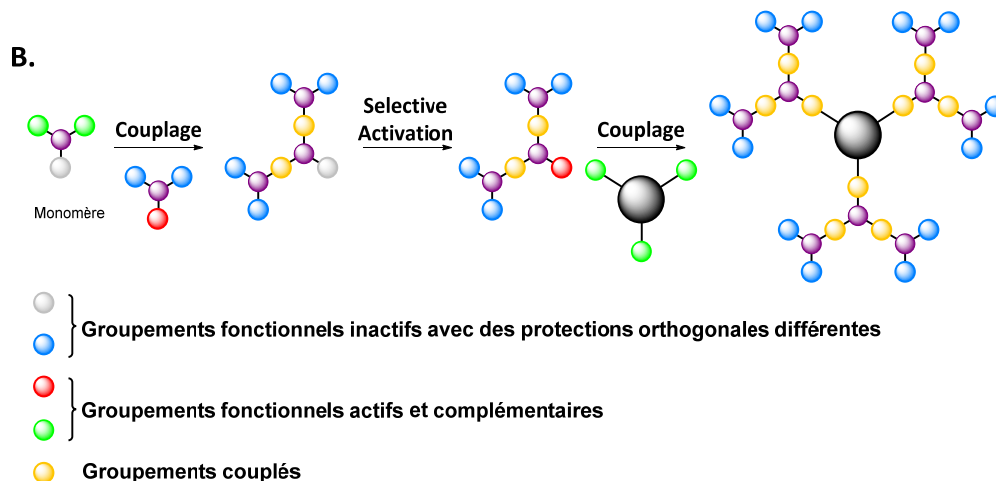


Figure A. 2 Synthèse de dendrimère par approche convergente. (Adapté de Sowinska et al., 2014)[1].

Références:

[1] M. Sowinska, Z. Urbanczyk-Lipkowska, Advances in the chemistry of dendrimers, New Journal of Chemistry 38(6) (2014) 2168-2203.

[2] E. Buhleier, W. Wehner, F. Vögtle, "Cascade"- and "nonskid-chain-like" syntheses of molecular cavity topologies, Synthesis 1978(02) (1978) 155-158.

