HAL
open science

Synthèse contrôlée et auto-organisation de glycopolymères amphiphiles à greffons polymères mésogènes, destinés à la vectorisation de principes actifs

Khalid Ferji

To cite this version:

Khalid Ferji. Synthèse contrôlée et auto-organisation de glycopolymères amphiphiles à greffons polymères mésogènes, destinés à la vectorisation de principes actifs. Autre. Université de Lorraine, 2013. Français. NNT : 2013LORR0118 . tel-01750371

HAL Id: tel-01750371

https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01750371v1

Submitted on 29 Mar 2018

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

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

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

THESE

Présentée publiquement pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE LORRAINE

Spécialité : Génie des procédés et des produits

Par **Khalid FERJI**

« Synthèse contrôlée et auto-organisation de glycopolymères amphiphiles à greffons polymères mésogènes, destinés à la vectorisation de principes actifs »

Soutenue publiquement le 8 octobre 2013

Devant le jury :

Pr. Mathias DESTARAC	Rapporteur
Pr. Patrice WOISEL	Rapporteur
Dr. Min-Hui LI	Examinateur
Dr. Jérome BABIN	Examinateur
Pr. Jean-Luc Six	Directeur de thèse
Dr. Cécile Nouvel	Co-Directeur de thèse

Le travail présenté dans ce mémoire a été effectué au sein du groupe « Polymères et Matériaux de spécialité » du Laboratoire de Chimie Physique Macromoléculaire (LCPM, FRE 3564, Nancy F-54000). Je remercie en premier lieu Monsieur Alain Durand, Directeur du laboratoire de m'y avoir accueilli.

J'adresse ma plus vive reconnaissance à Monsieur Jean-Luc SIX, Professeur à l'Ecole Européenne d'Ingénieurs en Génie des Matériaux (EEIGM), Madame Cécile Nouvel, Maître de conférence à l'Ecole Nationale Supérieure des Industries Chimiques (ENSIC) et Monsieur Jérome Babin, Maître de conférence à l'Ecole Nationale Supérieure des Industries Chimiques (ENSIC) pour m'avoir encadré et avoir rendu ce travail si passionnant. Je les remercie pour la confiance qu'ils m'ont donnée au cours de ces années, leur patience immuable, leur disponibilité, et la qualité scientifique de leurs nombreux conseils qui m'ont permis d'aboutir à la réalisation de ce travail. Néanmoins, ces quelques mots ne sont pas suffisants pour exprimer toute ma gratitude.

Que Monsieur Mathias Destarac, Professeur au Laboratoire Hétérochimie Fondamentale et Appliquée à l'Université Paul Sabatier (CNRS UMR-5069), et Monsieur Patrice Woisel, Professeur à l'Unité Matériaux et Transformations à l'Université Lille 1 (CNRS UMR-8207) trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de juger ce travail et d'en être rapporteur.

Je voudrais remercier Madame Min-Hui Li, Directeur de recherche à l'Institut Curie (CNRS UMR 168), d'avoir accepté de participer à ce jury de thèse.

Un grand merci à Madame Jamart-Grégoire Brigitte, Professeur à l'ENSIC et directrice de l'Ecole Européenne d'Ingénieurs en Génie des Matériaux (EEIGM), Madame Anne Jonquières, Professeur à l'ENSIC, Madame Michelle Léonard, Chargée de Recherche au CNRS, Madame Carole Arnal-Herault, Maître de conférence à l'ENSIC, Madame Axelle Arrault, Maître de conférence à l'ENSIC, Madame Marie-Christine Averlant-Petit, Chargée de Recherche au CNRS, Monsieur Régis Vanderesse, Chargée de Recherche au CNRS, Monsieur Guillaume Pickaert, Maître de conférence à l'ENSIC, Monsieur Jacques

Bodiguel, Maître de conférence à L'UHP et Monsieur Acherar Samir, Maître de conférence à L'UHP pour leur appui scientifique et leur gentillesse.

J'adresse mes remerciements à Madame Chrystel Beaufils, Ingénieur d'étude au LCPM, à Messieurs Olivier Fabre, Ingénieur d'étude au LCPM pour les analyses RMN et à Monsieur Jaafar GHANBAJA, Ingénieur de recherche à l'Université de Lorraine pour les caractérisations par MET et pour leur disponibilité dont ils ont fait preuve.

Je tiens également à remercier Madame Marie-Christine Grassiot pour les analyses SEC, Madame Mathilde Achard, Monsieur Jean-Claude Silvaut et Monsieur Henri Lenda pour leur aide et leur appui technique tout au long de ces années. Je remercie Mesdames Jeanine Fourier et Amélie Trottman pour leur aide administrative et leur habituelle gentillesse.

Un grand merci à tous mes anciens et actuels collègues avec qui j'ai passé de très bons moments et qui ont su mettre une bonne ambiance conviviale au laboratoire : Dr. Charlotte Duval, Dr. Ancuta Rusu (et ses délicieux gâteaux), Dr. Rudy Covis, Dr. Ralf Olivier Moussodia, Dr. Maxime Laville, Dr. Hervé Zille, Dr. Ludovic Colombeau, Dr. Ismail Ben Youssef, Dr. Pasquale Curcio, Hicham (bientôt fini), Maxime (tu es le prochain), Zhou (zumzum), Soulimane (courage pour le petit bout de chemin restant), Asma, Laura, Katarzyna, Lucie, Eugénie (courage mesdemoiselles), Seb, Mimi, Cheng.

Enfin, un grand merci à toute ma famille, mes parents, mes frères (Youssef, Hicham et Zakaria) pour leur soutien, et à toi Amale pour tout ce que tu présentes pour moi.

Signature
Ferji Khalid

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE

PARTIE I
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. INTRODUCTION 5
II. LES VECTEURS DE PRINCIPES ACTIFS 6
II.1 INTERETS DES VECTEURS 6
II.2 LES DIFFERENTS VECTEURS DE PRINCIPE ACTIF 6
II.2.1 Les prodrogues 7
II.2.2 Les microparticules 8
II.2.3 Les nano-objets 9
II.2.4 Les vecteurs obtenus par auto-assemblage des molécules amphiphiles 16
III. LES COPOLYMERES A CARACTERE CRISTAL-LIQUIDE 24
III.1 GENERALITES SUR LES CRISTAUX LIQUIDES 25
III.1.1 Les mésophases 25
III.1.2 Techniques de caractérisation des cristaux-liquides 30
III.2 LE CHOLESTEROL 33
III.3 COPOLYMERES AMPHIPHILES CONTENANT DES UNITES CHOLESTERIQUES 34
III.3.1 Polymères fonctionnalisés par des groupements cholestérol terminaux 34
III.3.2 Copolymères à blocs porteurs de groupements cholestérol latéraux 36
IV. LES POLYSACCHARIDES ET LES GLYCOPOLYMERES 43
IV.1 LES POLYSACHARIDES 43
IV.1.1 Généralités 43
IV.1.2 Le dextrane 45
IV.2 LES GLYCOPOLYMERES 49
IV.2.1 Notion de glycopolymères 49
IV.2.2 Synthèse de glycopolymères 51
IV.2.3 Glycopolymères à base de polysaccharides naturels 54
IV.2.4 Auto-assemblage des glycopolymères amphiphiles 69
V. CONCLUSION DE L'ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE 76
REFERENCES 73

PARTIE II
ELABORATION DE GLYCOPOLYMERES DEX-g-PADEGCHOL

OBJECTIFS ET STRATEGIE DE SYNTHESE

CHAPITRE I
SYNTHESE ET HOMOPOLYMERISATION DE L'ADEGCHOL PAR ATRP

I. SYNTHESE DU MONOMERE ADEGCHOL 79

I.1 CHOIX DU MONOMERE 79

I.2 SYNTHESE DU MONOMERE ADEGCHOL 80

I.2.1 Choix des conditions opératoires 80
I.2.2 Première étape : synthèse du Chol-OTs 81
I.2.3 Deuxième étape : synthèse du DEGChol 83
I.2.4 Troisième étape : synthèse du ADEGChol 84

I.3 CARACTERISATION DES DIFFERENTS INTERMEDIAIRES DE LA SYNTHESE 84

I.3.1 Par RMN ^1H 84
I.3.2 Solubilité de l'ADEGChol 87

I.4 STABILITE DES MONOMERES ACHOL ET ADEGCHOL 88

II. HOMOPOLYMERISATION DE L'ADEGCHOL PAR ATRP 89

II.1 POLYMERISATIONS RADICALAIRES CONTROLEES (PRC) 90

II.1.1 Notion de polymérisation vivante et contrôlée 90
II.1.2 Principe d'une Polymérisation Radicalaire Contrôlée (PRC) 91
II.1.3 Polymérisation radicalaire par transfert d'atome (ATRP) 96

II.2 MISE AU POINT DES CONDITIONS D'ATRP DE L'ADEGCHOL 105

II.2.1 En présence du ligand PPMI 106
II.2.2 En présence du ligand OPMI 108
II.2.3 En présence du ligand PMDETA 116

III. CONCLUSION DU CHAPITRE 124

REFERENCES 126

CHAPITRE II
SYNTHESE DE GLYCOPOLYMERE DEX-G-PADEGCHOL

I. SYNTHESE DES MACROAMORCEURS A BASE DE DEXTRANE 127
I.1 PROTECTION PARTIELLE DU DEXTRANE (1ERE ETAPE)..... 127
I.1.1 Choix de la méthode de protection..... *128*
I.1.2 Conditions opératoires de l'acétylation..... *129*
I.1.3 Evaluation du taux d'acétylation du dextrane *130*
I.1.4 Stabilité du dextrane dans les conditions d'acétylation *133*
I.2 INTRODUCTION DES GROUPEMENTS AMORCEURS (2EME ETAPE) 134
I.2.1 Choix des composants du milieu réactionnel..... *134*
I.2.2 Estimation du τ_{Br} *135*
II. SYNTHESE DES GLYCOPOLYMERES DEX-G-PADEGCHOL 138
II.1 CROISSANCE DES GREFFONS A PARTIR DES DEXACBR (3EME ETAPE)....138
II.1.1 Calcul du taux de conversion *139*
II.1.2 Vérification de la croissance des greffons PADEGChol..... *140*
II.1.3 Synthèse de glycopolymères DexAc-g-PADEGChol *143*
II.2 HYDROLYSE DES FONCTIONS ACETATE DU DEXAC-G-PADEGCHOL (4EME ETAPE)..... 148
II.2.1 Mises au point des conditions opératoires de la déprotection 148
II.2.2 Déprotection des glycopolymères DexAc-g-PADEGChol..... *150*
II.2.3 Stabilité du glycopolymère Dex-g-PADEGChol *154*
III. CONCLUSIONS DU CHAPITRE 160
REFERENCES 162

CHAPITRE III
PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ET AUTO-ASSEMBLAGE DES DEX-g-PADEGCHOL

I. PROPRIETES MESOMORPHES 164
I.1 CALORIMETRIE DIFFERENTIELLE A BALAYAGE (DSC) 164
I.2 MICROSCOPE OPTIQUE A LUMIERE POLARISEE (MOP) 169
I.3 DIFFRACTION DES RAYONS X (DRX)..... 171
II. PROPRIETES TENSIOACTIVES 176
II.1 GENERALITES 176
II.2 CARACTERE AMPHIPHILE DES DEX-G-PADEGCHOL 178

III. AUTO-ORGANISATION DES DEX-G-PADEGCHOL EN PHASE AQUEUSE..... 181
III.1 MISE EN SOLUTION 182
III.2 MORPHOLOGIE DES AUTO-ORGANISATIONS APRES DIALYSE 184
III.2.1 A partir d'une solution de glycopolymère dans le THF 184
III.2.2 A partir d'une solution de copolymère dans le DMSO 186
IV. CONCLUSION DU CHAPITRE 190
REFERENCES 192

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

PARTIE
TECHNIQUES EXPERIMENTALES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES SCHEMAS

LISTE DES TABLEAUX

GLOSSAIRE

Monomères :

AA	acide acrylique
ABu	acrylate de n-butyle
AChol	acryloyloxyéthyl carbonate cholestéryle
ADEGChol	acrylate de diéthylène glycol cholestéryle
AM	acrylate de méthyle
AMPS	acide 2-(acrylamido) 2-méthylpropane sulfonique
BB	nitroxyde alcoxyamine blocbuilder
Chol-TEGA	acryloyloxy tétraéthylène glycol carbonate cholestéryle
DEAEMA	méthacrylate de N,N-diéthylaminoéthyle
DMAAm	N,N-diméthylacrylamide
DMAEMA	méthacrylate de N,N-diméthylaminoéthyle
EA	acrylate d'éthyle
G-1-P	α-D-glucose-1-phosphate
HEMA	méthacrylate de 2-hydroxyéthyle
HEA	acrylate de 2-hydroxyéthyle
MMA	méthacrylate de méthyle
MMAzo	méthacrylate de 6-[4-(4-méthoxyphénylazo)phénoxy] héxyle
MPC	méthacryloyloxyéthyl phosphorylcholine
NIPAAm	N-isopropylacrylamide
SS	styrène sulfonate de sodium
S	styrène
t-BuA	acrylate de tert-butyle
VAc	acétate de vinyle
EC	éthylcellulose

Polymères et copolymères :

C-PMMA	cellulose-g-PMMA
CS	chitosane
CS-g-PCL	chitosane-g-poly(ε-caprolactone)
CS-g-PDO	chitosane-g-poly(1,4-dioxan-2-one)
Dex	dextrane
Dex-b-PBLG	dextrane-b-poly(L-glutamate de γ-benzyle)
Dex-g-PHBHV	dextrane-g-poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalérate)

Dex-g-PLA	dextrane-g-poly(acide lactique)
EC-g-PDEAEMA	éthylcellulose-g-poly[méthacrylate de N,N-diéthylamino éthyle]
P(Chol-TEGA)	poly(acryloyloxy tétraéthylène glycol carbonate cholestéryle)
P(IPAAm-co-DMAAm)	poly(N-isopropylacrylamide-co-N,N-diméthylacrylamide)
P(MMA-co-HMA)-N3	α-azide poly(méthacrylate de méthyl-co- méthacrylate d'hostasol)
PAAA	poly(acrylate d'acide ascorbique)
PAA-co-PEGA	poly(acide acrylique)-co-poly(acrylate d'éthylène glycol)
PAChol	poly(acryloyloxyéthyl carbonate cholestéryle)
PADEGChol	poly(acrylate de diéthylène glycol cholestéryle)
PAMAM	poly(amidoamine)
PAMPS	poly[2-(acrylamido) 2-méthylpropane sulfonate de sodium]
PB	polybutadiène
PBA	poly(acrylate de n-butyle)
PBA	poly(p-benzamide)
PCL	poly(ε-caprolactone)
PDMAEMA	poly(méthacrylate de N,N-diméthylaminoéthyle)
PEG-g-PMHDO	poly(éthylène glycol)-g-poly(6-méthyl-1,2-heptadièn-4-ol)
PEO	poly(oxyde d'éthylène)
PEO-b-PE	poly(éthylène oxyde)-b-polyéthylène
PEPO	poly(éthylène glycol-co-propylène glycol)
PFO	polyfluorène
PGA	poly(L-acide glutamique)
PGA	poly(acide glycolique)
PHBHV	poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalérate)
PHEMA	poly(méthacrylate d'hydroxyéthyle)
PHPMA	poly(N-2-hydroxypropyl méthacrylamide)
PI	polyimide
PLA	poly(acide lactique)
PLGA	poly(acide lactique-co-glycolique)
PLL	poly(L- lysine)
$PMEO_2MA$	poly(méthacrylate de 2-(2-méthoxyéthoxy)éthyle)
PMMA	poly(méthacrylate de méthyle)
PMPC	poly(méthacryloyloxy éthyl phosphorylcholine)
PMPCS	poly(2,5-bis[(4 méthyl butoxy) phényl] styrène)

PNB	polynorborène
PNIPAAM	poly(N-isopropylacrylamide)
POEGMA	méthacrylate d'oligo(éthylène glycol)
PEGMA	α-méthoxy poly(méthacrylate d'oligoéthylène glycol)
PPI	poly(propylène imine)
PS	polystyrène
PVAc	poly(acétate de vinyle)

Techniques de polymérisation :

ATRP	polymérisation radicalaire par transfert d'atome
AGET	activateurs générés par transfert d'électrons
ARGET	activateurs régénérés par transfert d'électrons
SR/NI	amorçages simultanés normal et inverse
ICAR	ATRP en présence d'amorceur pour la régénération continue de l'activateur
MADIX	macromolecular design via the interchange of xanthates
NMP	polymérisation radicalaire contrôlée par les nitroxydes
PA	polymérisation anionique
PC	polymérisation cationique
POC	polymérisation par ouverture de cycle
PRDR	polymérisation radicalaire par désactivation réversible
RAFT	transfert dégénératif par addition-fragmentation
RITP	polymérisation radicalaire contrôlée par transfert d'iode
ROMP	polymérisation par ouverture de cycle par métathèse
SET	polymérisation radicalaire contrôlée par transfert d'électron
SFRP	polymérisation par radical libre stable

Amorceurs de polymérisation:

E*i*Br	2-bromoisobutanoate d'éthyle
Br*i*BBr	bromure de 2-bromoisobutanoyle
HOOC*i*PrBr	acide 2-bromoisobutanoïque
CPCl	chlorure de 2-chloropropanoyle
TEMPO	2,2,6,6-tétraméthyl-1-pipéridinyloxy
DEPN	N-tertbutyl-N-(1-diéthylphosphono-2,2-diméthylpropyl) nitroxyde

AIBN	Azobisisobutyronitrile

Ligands d'ATRP :

Cyclam-B	4,11-diméthyl-1,4,8,11-tétraazabicyclo[6.6.2]héxadécane
Me_6TREN	tris(2-(diméthylamino)éthyl)amine
TPMA	tris-[(2-pyridyl)méthyl]amine
PMDETA	N,N,N',N',N''-pentaméthyldiéthylènetriamine
MA_6TREN	tris(2-(di(2-méthoxycarbonyl)-éthyl)amino)éthyl)amine
dNdpy	4,4'-di(5-nonyl)-2,2'-bipyridine
bpy	2,2'-bipyridine
HMTETA	1,1,4,7,10,10-héxaméthyltriéthylènetétramine
PPMI	*N*-(*n*-propyl)-2-pyridylméthanimine

Cinétique de polymérisation :

X	atome d'halogène
$R^{\bullet}$	espèce radicalaire
RX	amorceur halogéné
Mt^n	métal de transition au degré d'oxydation *n* (ex. Cu^I)
Mt^n-Y	métal de transition au degré d'oxydation *n* et son contre-ion (ex. Cu^IX)
Mt^n-Y/L^m	métal de transition complexé par *m* ligand(s)
X-Mt^{n+1}-Y/L^m	complexe métallique au degré d'oxydation *n*+1 et porteur d'un atome d'halogène (ex. $Cu^{II}Br_2$)
k_p	constante de vitesse de propagation
k_t	constante de vitesse de terminaison
k_{tr}	constante de vitesse de transfert
k_{act}	constante de vitesse d'activation
$k_{désact}$	constante de vitesse de désactivation
K_{ATRP}	constante d'équilibre d'ATRP
k_{app}	constante de vitesse apparente
K_{eq}	constante d'équilibre d'une NMP
k_d	constante de vitesse de dissociation
k_{rec}	constante de vitesse de recombinaison
$k_{éch}$	constante de vitesse d'échange
k_a	constante de vitesse d'addition

k_f	constante de vitesse de fragmentation

Caractérisation des polymères :

DS	degré de substitution : nombre de substitution par unité glycopyranose (au maximum égal à 3 dans le cas du dextrane)
$\overline{M_n}$	masse molaire moyenne en nombre (g/mol)
$\overline{M_w}$	masse molaire moyenne en masse (g/mol)
Đ	dispersité ($=\overline{M_w}/\overline{M_n}$) (remplace désormais l'indice de polymolécularité)
τ_{Ac}	nombre moyen de groupements acétate pour 100 fonctions alcool du dextrane initial
τ_{Br}	nombre moyen de groupements amorceurs pour 100 fonctions hydroxyle du dextrane initial
X	taux de conversion (exprimé en %)
Eff	efficacité moyenne d'amorçage
$\overline{X_n}$	degré de polymérisation moyen en nombre
$\overline{N}$	nombre moyen de greffons PADEGChol pour 100 unités glucopyranose
dn/dc	incrément d'indice de réfraction
f	fraction massique des greffons PADEGChol dans le glycopolymère protégé DexAc-g-PADEGChol
F	fraction massique des greffons PADEGChol dans le glycopolymère déprotégé Dex-g-PADEGChol

Réactifs :

ACl	chlorure d'acryloyle
BSA	N,O-bis(triméthylsilyl)acétamide
DEG	diéthylène glycol
DMAP	4-diméthylamino-pyridine
Et_3N	triéthylamine
HCl	acide chlorhydrique
HMDS	hexaméthyldisilazane
KOH	hydroxyde de potassium

LiCl	chlorure de lithium
Me_3N-HCl	triméthylamine chlorohydrate
NaBH3CN	cyanoborohydrure de sodium
TEG	tétraéthylène glycol
TriEG	triéthylène glycol
TsCl	chlorure de p-toluènesulfonyle

Solvants :

AMIMCl	cholorure de 1-allyl-3-methylimidazolium (liquide ionique)
$CDCl_3$	chloroforme deutéré
DCM	dichlorométhane
DMAc	N,N'-diméthylacétamide
DMF	N,N'-diméthylformamide
DMSO	diméthylsulfoxyde
DMSO-d_6	diméthylsulfoxyde deutéré
EMIMAc	acétate de 1-éthyl-3-methylimidazolium (liquide ionique)
EtOH	éthanol
MeOH	méthanol
THF	tétrahydrofurane

Techniques de caractérisation et d'analyse :

AFM	microscopie à force atomique
DLS	diffusion dynamique de la lumière
DRX	diffraction des rayons X
DSC	calorimétrie différentielle à balayage
EPR	résonance paramagnétique électronique
GLC-MS	couplage chromatographie liquide-phase gazeuse/spectroscopie de masse
HSQC	heteronuclear single quantum coherence
IRTF	infra-rouge à transformée de fourrier
MDSC	calorimétrie différentielle à balayage à température modulée
MEB	microscopie électronique à balayage
MET	microscopie électronique à transmission
MOP	microscopie optique à lumière polarisée

RMN	résonance magnétique nucléaire
SEC	chromatographie d'exclusion stérique
SEC-MALLS	chromatographie d'exclusion stérique couplée à un diffusiomètre laser multiangles (multi angle laser light scattering)
SEM	microscopie électronique à balayage

Propriétés mésomorphes

T_g	transition vitreuse
T_f	température de fusion
T_{cr}	température de cristallisation
Tc	température claire
T_M	température de transition de l'état solide à un état cristal-liquide
T_{CL-I}	températures de transition de l'état cristal-liquide à l'état liquide isotropique
SmA	mésophase smectique A
SmA_d	mésophase smectique A interdigitée
SmC	mésophase smectique C
SmA_1	mésophase smectique A_1
L_α	mésophase lamellaire (mésogène lyotropique)

Propriétés physico-chimiques des polymères : tensiométrie

σ	tension interfaciale (mN/m)
CMC	concentration micellaire critique
CAC	concentration d'agrégation critique (mol/L)
C_{crit}	concentration critique (mol/L)

Divers :

EPR	effet de la perméabilité et de rétention.
SLN	nanoparticules lipidiques solides.
ATRA	addition radicalaire par transfert d'atome
CTA	agent de transfert de chaînes
PRE	effet du radical persistant (Persistant Radical Effect)

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

La recherche thérapeutique est l'un des domaines qui demande une innovation permanente et un renouvellement constant des principes actifs afin d'éradiquer les nouvelles pathologies de notre siècle. Cependant, et malgré l'efficacité attestée de plusieurs composés pharmacologiques *in vitro*, celle-ci chute dans certains cas lorsqu'ils sont utilisés *in vivo*. Cela est dû d'une part aux différentes barrières présentes en milieu biologique que le principe actif doit franchir, de sa capture par le système immunitaire, et d'autre part de sa nature chimique elle-même puisqu'il peut se dégrader ou être éliminé du corps humain avant même d'atteindre le site d'action désiré. Afin de pallier à ses inconvénients, les « vecteurs de principes actifs » offrent non seulement une protection et un acheminement du médicament jusqu'à la cible spécifique, mais ils permettent de plus d'atténuer la toxicité de certains d'entre eux, d'augmenter leur temps de circulation dans le sang et d'offrir une libération contrôlée de la molécule médicamenteuse.

Il existe plusieurs systèmes de vectorisation de principes actifs, comme nous allons l'évoquer dans l'étude bibliographique de ce manuscrit. Les premiers systèmes commercialisés ont été les « liposomes » élaborés par auto-organisation de phospholipides sous forme de bicouche enfermant un milieu aqueux. Grâce à leur morphologie vésiculaire, les liposomes possèdent la faculté de transporter à la fois les principes actifs hydrosolubles dans leur cavité hydrophile et les principes actifs lipophiles dans la bicouche hydrophobe. Quelques liposomes commerciaux sont évoqués dans le tableau suivant ; la formule des principes actifs encapsulés est représentée dans la figure ci-dessous:

Tableau : Quelques liposomes commerciaux (D'après Chang, H.-I.; Yeh, M.-K. Clinical development of liposome-based drugs: formulation, characterization, and therapeutic efficacy. International Journal of Nanomedicine 2012, 7, 49–60).

Nom commercial	Composition de la partie lipide	Principe actif administré (action)	Voie d'introduction du principe actif
Abelcet	DMPC et DMPG	Amphotéricine B (antibiotique, antifongique)	Intraveineuse
Doxil	HSPC, cholestérol et PEG 2000-DSPE	Doxorubicine (anticancéreux)	Intraveineuse
Visudyne	EPG et DMPC	Vertéporfine (photothérapie, ophtalmique)	Intraveineuse
DepoDur	Cholestérol, Trioléine, DOPC et DPPG	Sulfate de morphine (antalgique)	Epidurale

DMPC :1,2-dimyristoyl-sn-glycéro-3-phosphocholine. **DMPG** : 1,2-dimyristoyl-sn-glycéro-3-phosphoglycérol. **HSPC** : Phosphatidylcholines de soja hydrogénée. **DSPE** : 1,2-distéaroyl-sn-glycéro-3-phosphoéthanolamine **DOPC** : 1,2-dioléoyl-*sn*-glycéro-3-phosphocholine. **DPPG** : 1,2-dipalmitoyl-sn-glycéro-3-phosphoglycérol. **EPG** : phosphatidylglycérol d'œuf.

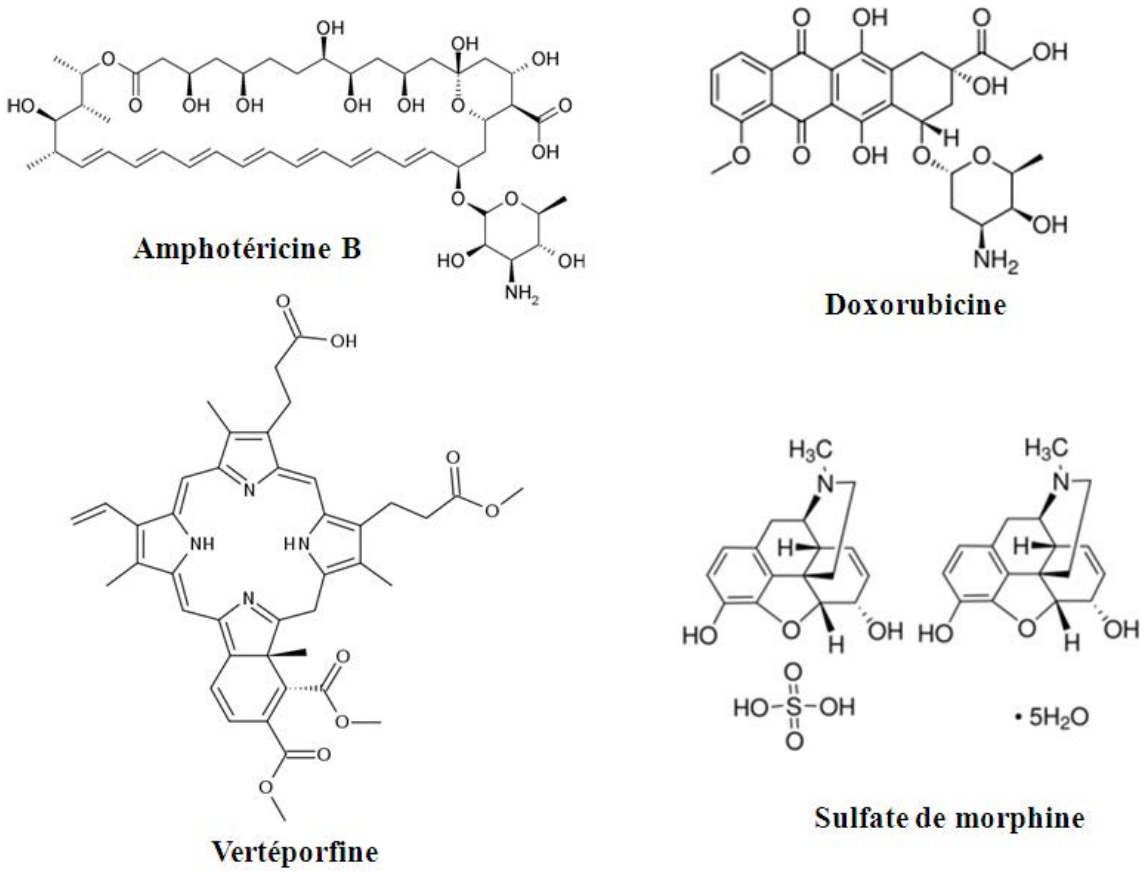


Figure : Structures chimiques de quelques principes actifs vectorisés via des liposomes

Malheureusement, l'instabilité chimique et la fragilité mécanique de la bicouche des liposomes peuvent être des paramètres limitant leur efficacité pour ce type de traitements. Depuis une dizaine d'années, les chercheurs s'intéressent de plus en plus à une nouvelle catégorie de vésicules, appelées « polymersomes », obtenues par auto-organisation des copolymères amphiphiles. Grâce à leur membrane dont l'épaisseur est reliée à la masse molaire des copolymères utilisés, les « polymersomes » se sont avérés plus robustes et chimiquement plus stables que leurs homologues « liposomes». Il existe un très grand nombre de copolymères amphiphiles permettant l'obtention des polymersomes comme nous le décrirons dans la partie bibliographique. La plupart d'entre eux sont de nature flexible et de type copolymères dibloc. Cependant, depuis quelques années, un certain nombre de publications relatent l'intérêt d'élaborer des polymersomes à partir de copolymères possédant un bloc rigide à caractère mésomorphe. La rigidité de ce bloc apporte alors un ordre supplémentaire à l'auto-organisation des copolymères, ce qui permet de renforcer la stabilité de la bicouche formée et par conséquent d'accroître l'efficacité du transport de principes actifs.

Les copolymères amphiphiles greffés pourraient également être des candidats potentiels pour l'élaboration des polymersomes. En effet, dans cette architecture, les greffons polymères auront une mobilité réduite comparée à celle des copolymères à blocs, ce qui pourrait apporter un ordre supplémentaire à l'auto-organisation des copolymères et permettre d'améliorer la stabilité de la bicouche. Cependant, la littérature ne relate que très peu d'exemples de polymersomes élaborés à partir de copolymères greffés. De plus, les rares exemples de cette catégorie sont exclusivement obtenus à partir de copolymères constitués de parties flexibles. Le défi que nous avons tenté de relever au cours de ce doctorat était donc de tenter de formuler les premiers polymersomes à partir d'un nouveau type de copolymères greffés, formés d'une dorsale polysaccharide et porteurs de greffons polymères rigides.

Dans la suite des travaux jusqu'alors menés au LCPM et qui portent sur l'élaboration de glycopolymères amphiphiles, nous avons pensé que cette famille de composés pouvait nous apporter une solution à ce défi. Cependant, et malgré les nombreux avantages des glycopolymères que nous détaillerons dans ce manuscrit, il existe très peu de glycopolymères amphiphiles qui adoptent une morphologie vésiculaire en solution aqueuse. Les rares exemples décrits dans la littérature possèdent une architecture à blocs, leurs homologues greffés ne formant que des micelles ou de simples nanoparticules en milieu aqueux.

Le challenge de ce doctorat a donc été tout d'abord centré sur la synthèse du premier exemple de glycopolymères amphiphiles greffés combinant la biodégradabilité et la biocompatibilité d'un polysaccharide hydrophile et le caractère cristal-liquide des greffons hydrophobes à base de cholestérol. L'étude de l'auto-organisation de ces glycopolymères en milieu aqueux et l'élaboration des «polymersomes» correspondants a constitué la deuxième phase de ce défi.

Le présent manuscrit sera composé de deux grandes parties :

Dans la 1ère partie, nous exposerons l'intérêt de la vectorisation des principes actifs et nous ferons l'inventaire des différents types de vecteurs présents dans la littérature. Nous nous intéresserons plus particulièrement aux vecteurs de morphologie vésiculaire obtenus par auto-organisation des copolymères porteurs de groupements à caractère mésomorphe. Par la suite, nous présenterons un aperçu sur les polysaccharides et nous rappelons les différentes stratégies de synthèse pour élaborer leurs dérivés particuliers que sont les glycopolymères.

Après avoir explicité la stratégie de synthèse employée (pour obtenir les glycopolymères envisagés), la deuxième partie de ce manuscrit sera consacrée à la synthèse des glycopolymères et à l'étude de leurs propriétés. La synthèse du monomère acrylate de diéthylène glycol cholestéryle (ADEGChol) employé dans cette étude et l'optimisation des conditions opératoires de son homopolymérisation par ATRP à partir d'un amorceur modèle seront exposées dans le 1er chapitre de cette 2ème partie. Le 2ème chapitre sera l'objet quant à lui de la synthèse des glycopolymères par croissance des greffons PADEGChol à partir de différents macroamorceurs dérivés du dextrane. Le caractère amphiphile, les propriétés mésogènes et la faculté d'auto-organisation d'une sélection de glycopolymères produits seront abordés dans le troisième chapitre de cette 2ème partie.

Enfin, ce manuscrit se clôturera par une conclusion générale et par l'énumération de quelques perspectives. Les protocoles expérimentaux et les techniques de caractérisation des composés obtenus lors de ce doctorat seront présentés à la fin de ce manuscrit.

PARTIE I

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. INTRODUCTION 5

II. LES VECTEURS DE PRINCIPES ACTIFS 6

II.1 INTERETS DES VECTEURS 6

II.2 LES DIFFERENTS VECTEURS DE PRINCIPE ACTIF 6

II.2.1 Les prodrogues 7

II.2.2 Les microparticules 8

II.2.3 Les nano-objets 9

II.2.3.1 Nanoparticules de principes actifs 10

II.2.3.2 Nanosphères polymères 11

II.2.3.3 Nanocapsules polymères 11

II.2.3.4 Nanogels 12

II.2.3.5 Nanoparticules lipidiques 13

II.2.3.6 Nanoparticules inorganiques 14

II.2.3.7 Dendrimères 15

II.2.4 Les vecteurs obtenus par auto-assemblage des molécules amphiphiles 16

II.2.4.1 Notion d'auto-assemblage 16

II.2.4.2 Les micelles 17

II.2.4.3 Les liposomes 18

II.2.4.4 Les polymersomes 20

III. LES COPOLYMERES A CARACTERE CRISTAL-LIQUIDE 24

III.1 GENERALITES SUR LES CRISTAUX LIQUIDES 25

III.1.1 Les mésophases 25

III.1.1.1 Mésophase thermotropique 25

III.1.1.2 Mésophase lyotropique 26

III.1.1.3 Les structures des mésophases 27

a) Phase nématique 27

b) Phase smectique/ lamellaire : 28

c) Phase colonnaire 29

III.1.2 Techniques de caractérisation des cristaux-liquides 30

III.1.2.1 La calorimétrie différentielle à balayage 30

III.1.2.2 La microscopie optique à lumière polarisante 31

III.1.2.3 La diffraction des rayons X 32

III.2 LE CHOLESTEROL 33

III.3 COPOLYMERES AMPHIPHILES CONTENANT DES UNITES CHOLESTERIQUES 34

III.3.1 Polymères fonctionnalisés par des groupements cholestérol terminaux 34

III.3.2 Copolymères à blocs porteurs de groupements cholestérol latéraux 36

III.3.2.1 Influence de l'ordre cristal-liquide et du ratio hydrophile/ hydrophobe 37

III.3.2.2 Influence de la technique de préparation 40

IV. LES POLYSACCHARIDES ET LES GLYCOPOLYMERES 43

IV.1 LES POLYSACHARIDES 43

IV.1.1 Généralités 43

IV.1.2 Le dextrane 45

IV.1.2.1 Structure et biosynthèse 45

IV.1.2.2 Propriétés physico-chimiques 47

IV.1.2.3 Applications biomédicales 47

IV.2 LES GLYCOPOLYMERES 49

IV.2.1 Notion de glycopolymères 49
IV.2.2 Synthèse de glycopolymères 51
IV.2.3 Glycopolymères à base de polysaccharides naturels 54
IV.2.3.1 Glycopolymères à blocs 54
IV.2.3.2 Glycopolymères greffés 58
a) Synthèse dans un milieu hétérogène 59
b) Synthèse dans un milieu homogène 62
IV.2.4 Auto-assemblage des glycopolymères amphiphiles 69

V. CONCLUSION DE L'ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE 72

REFERENCES 73

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.INTRODUCTION

Le développement de nouveaux systèmes protégeant des molécules thérapeutiques et les délivrant spécifiquement vers un organe, un tissu ou une cellule est un axe de recherche qui intéresse un nombre de plus en plus important de chercheurs issus de domaines scientifiques divers et variés. Au cours de ce chapitre bibliographique, dans un premier temps, la notion de vectorisation de principe actif sera introduite suivie d'une énumération des principaux systèmes décrits dans la littérature. Dans un deuxième temps, nous nous intéresserons à une catégorie spécifique de composés chimiques ayant des propriétés mésomorphes et qui possèdent la faculté de s'auto-assembler sous forme de vésicules susceptibles d'être utilisées pour la délivrance de principe actif. L'association de certains de ces composés avec des polymères naturels tels que les polysaccharides peut donner naissance à des copolymères présentant des parties polysaccharides et polymères cristal-liquide qui, à notre connaissance, n'ont jamais été reportés dans la littérature. Si de plus, ces copolymères s'avèrent être amphiphiles, ils permettent de préparer des vecteurs dont les propriétés biologiques, physico-chimiques et mécaniques peuvent être très intéressantes. Dans cette optique, la troisième partie de ce chapitre traitera des polysaccharides puis de la synthèse et de l'auto-assemblage de glycopolymères amphiphiles.

II.LES VECTEURS DE PRINCIPES ACTIFS

II.1 INTERETS DES VECTEURS

Un nombre considérable de composés pharmacologiques se sont avérés insuffisamment efficaces à cause de leurs caractéristiques physico-chimiques (hydrophilie, poids moléculaire, toxicité, insolubilité,…) peu favorables à leur passage à travers les différentes barrières biologiques. Ces principes actifs étaient alors mal absorbés, très rapidement dégradés, métabolisés ou éliminés avant même d'atteindre leurs sites d'action. Par exemple, les premières utilisations de propofol (2,6-diisopropylphénol) [1,2], qui est sans doute l'agent anesthésique intraveineux le plus utilisé à nos jours se sont avérées incertaines. En effet, après sa formulation avec de l'huile de ricin (Cremophor EL) en 1977, le propofol a rapidement été retiré du marché à cause des réactions anaphylactiques au Cremaphor EL [3]. Ce n'est qu'après sa reformulation dans une macroémulsion de soja que le propofol a, à nouveau, été autorisé au Royaume-Uni en 1980 puis en 1989 aux Etats unis [4,5]. Ce simple exemple montre le rôle crucial des systèmes de vectorisation et de leur formulation dans les thérapies modernes.

La vectorisation d'un principe actif consiste à le véhiculer au sein d'un « vecteur » qui permet de le protéger, mais aussi de diminuer sa toxicité et donc de contribuer à la réduction des effets secondaires. Dans le cas d'un principe actif hydrophobe, cela permet également d'augmenter virtuellement sa solubilité dans le milieu physiologique et de le transporter vers un organe, un tissu ou une cellule cible [6]. Cette technique fait partie des nouvelles stratégies de prévention et de traitement des différentes maladies humaines infectieuses, cancéreuses ou d'origine génétique [7]. Si le choix du matériau constitutif de ces vecteurs est un des facteurs primordiaux pour la solubilisation et la protection des principes actifs, les propriétés de surface des vecteurs en sont un autre. En effet, selon la nature de sa surface notamment (pour une taille donnée) le vecteur pourra ou non acheminer le principe actif, lui faire traverser les différentes barrières immunitaires et par la suite le libérer près ou à l'intérieur des zones cibles à traiter [8].

II.2 LES DIFFERENTS VECTEURS DE PRINCIPE ACTIF

Il existe de nombreux systèmes inorganiques et organiques qui permettent de transporter les principes actifs. Ces derniers peuvent être simplement attachés de façon covalente sur des chaînes de polymères (conjugués polymère-principes actifs encore appelés prodrogues) ; ou encore être encapsulés à l'intérieur de vecteurs (particules, micelles, émulsions, liposomes, polymersomes, …).

Après avoir introduit les prodrogues, les micro- et nano-objets seront décrits. Puis, cette partie de l'étude bibliographique sera focalisée sur les vecteurs obtenus par auto-organisation de molécules amphiphiles qui permettent d'obtenir certains objets comme les micelles, les liposomes ou les polymersomes.

II.2.1 Les prodrogues

La découverte des conjugués polymère- principes actifs par F. Ringsdorf en 1975 [9] a permis de faire progresser le domaine du transport des médicaments [10], notamment dans le cadre des traitements anticancéreux [11–13]. Le principe de cette technique consiste à lier par voie covalente la substance active à un polymère hydrosoluble, avant son administration. Après injection, la prodrogue est métabolisée pour reformer le principe actif sous sa forme active initiale [14]. Il est important de préciser que ce type de vectorisation n'offre aucune protection physique ou chimique du principe actif. Par conséquent, les prodrogues ne peuvent pas transporter les substances fragiles telles que certains peptides par exemple.

Plusieurs polymères hydrophiles synthétiques comme le poly(N-2-(hydroxypropyl) méthacrylamide) (PHPMA)[15], le poly(L-acide glutamique) (PGA) [16,17], le poly(méthacryloyloxy éthyl phosphorylcholine) (PMPC) [13] ou naturels comme le dextrane [18–20] ont été utilisés pour transporter de nombreux principes actifs anticancéreux via ce système « prodrogue ». Mais le poly(éthylène glycol) (PEG) reste le polymère le plus utilisé dans ce domaine car il est non toxique, biocompatible, non antigénique et très hydrophile [14]. La figure I-1 montre un schéma représentatif d'une prodrogue. Notons qu'une même chaîne polymère peut porter plusieurs molécules (identiques ou non) de principes actifs.

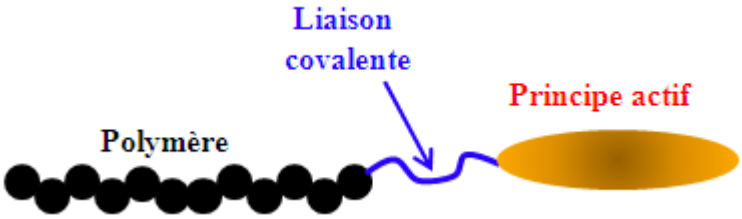


Figure I- 1 Schéma représentatif d'une prodrogue.

II.2.2 Les microparticules

Depuis leur découverte dans les années 1930, les microparticules constituent une importante méthode d'encapsulation et de transport des substances actives. Ce sont des particules solides sphériques de taille comprise entre 1 et 250 µm. Les microparticules peuvent être de morphologies variées, pleines ou creuses. Dans les deux cas, le principe actif sera soit dispersé, soit solubilisé dans une matrice polymère. Il existe plusieurs techniques pour préparer les microparticules mais les méthodes d'émulsion simple ou double, directe ou inverse, suivie d'une évaporation ou d'une extraction du solvant organique sont les techniques les plus couramment employées [21–23].

En raison de leur biodégradabilité et de leur biocompatibilité, les polyesters des acides lactique (PLA) et glycolique (PGA), ainsi que leurs copolymères correspondants, sont couramment employés pour la préparation des microparticules. Initialement conçues pour protéger certaines vitamines des réactions d'oxydation, les microparticules ont été progressivement adaptées au fur et à mesure du développement de nouveaux principes actifs (anticancéreux, hormones,...). Il existe sur le marché de nombreux produits commerciaux permettant la libération prolongée de principes actifs employant des microparticules de poly(acide lactique-co-glycolique) (PLGA). Le tableau I-1 regroupe quelques exemples [22].

Tableau I-1 Exemples de produits commerciaux à base de microparticules polyesters à libération prolongée pour l'administration parentérale

Produit	Laboratoire	Principe actif
Lupron Depot ®	TAP	Acétate de leuprolide
Nutropin Depot ®	Genetech	Hormone humaine de croissance
Suprecur ® MP	Aventis	Acétate de Buserelin
Decapeptyl ®	Ferring	Triptoreline
Risperidal ®	Risperidone	Janssen-Cilag
Arestin ®	Orapharma	Minocycline

L'administration des microparticules dans le corps humain peut être effectuée à l'aide de simples seringues équipées d'aiguilles conventionnelles. Le transport et la libération

contrôlée des principes actifs représentent certainement une alternative importante aux problèmes liés à l'administration des implants à libération prolongée qui font eux appel à des procédures chirurgicales pour permettre leur mise en place dans le corps humain. Malheureusement, l'utilisation des microparticules reste limitée à cause de leur coût élevé et de leur procédé de fabrication qui nécessite généralement l'utilisation de solvants toxiques tels que le dichlorométhane ou l'acétate d'éthyle [24].

II.2.3 Les nano-objets

Les nano-objets sont des objets solides de forme sphérique et de taille nanométrique (le plus souvent proche ou inférieur à 200 nm) [25]. Grace à leur petite taille, relativement proche de celle des protéines, ces nano-objets franchissent facilement les différentes barrières immunitaires. De plus, selon leur composition chimique, ces nano-objets ont la capacité d'encapsuler et de protéger des principes actifs hydrophiles ou hydrophobes contre toute dégradation chimique ou physique, tout le long de leur transport jusqu'à la cellule cible [26–28]. Les nano-objets utilisés actuellement dans le domaine biomédical sont des systèmes complexes pouvant être composés de divers agents selon l'application souhaitée [29,30] (figure I-2):

- Agent de furtivité : il permet d'éviter la capture du vecteur par le système immunitaire et augmente le temps de circulation des vecteurs dans l'organisme.
- Agent de perméation : il facilite le passage des barrières biologiques.
- Agent de ciblage (anticorps par exemple): il favorise un ciblage actif et par conséquent une accumulation du vecteur autour ou à l'intérieur de la cellule ou du tissu ciblé.
- Agent de contraste : il permet de localiser les vecteurs dans l'organisme après injection.

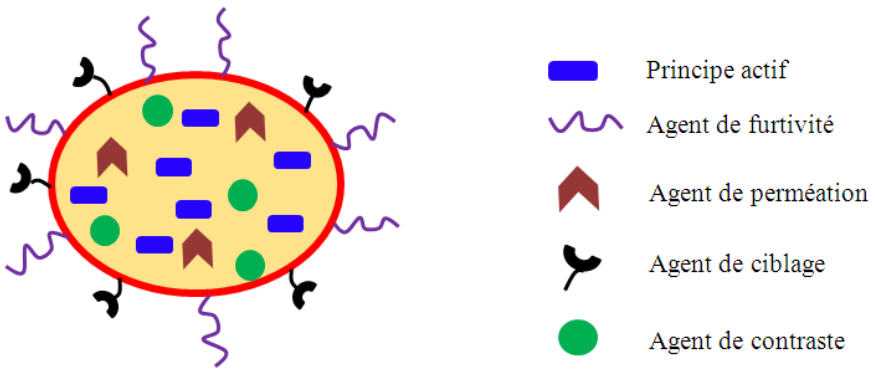


Figure I- 2 Composition d'un vecteur multifonctionnel [30].

On distingue plusieurs types de nano-objets selon leurs compositions chimiques et leurs structures. Elles sont décrites dans les paragraphes suivants.

II.2.3.1 Nanoparticules de principes actifs

Ce sont des nanoparticules formées de monocristaux de principes actifs, nano-dispersés dans un milieu aqueux en présence d'un tensioactif approprié comme le *Tween 80* par exemple [31–33]. La taille de ces nanoparticules varie entre 50 et 400 nm.

La vectorisation des principes actifs sous forme de nanocristaux est intéressante pour les principes actifs hydrophobes, et plus particulièrement pour les principes actifs insolubles à la fois dans les solutions aqueuses et organiques. De plus, ces nano-objets possèdent une forte densité en principe actif, ce qui rend leur utilisation intéressante dans le cas des thérapies qui nécessitent une forte dose en médicaments. Ces nanoparticules sont faciles à mettre au point et elles peuvent être administrées dans l'organisme par plusieurs voies : parentérale, orale, pulmonaire et topique [34]. Plusieurs principes actifs ont aussi été administrés par cette technique comme l'amphotéricine B (antibiotique, antifongique) [33,35], l'étoposide (anticancéreux), le camptothécine (molécule de base de certains anticancéreux) et le paclitaxel (anticancéreux) [36] (figure I-3). Cependant, cette voie d'administration n'offre aucune protection au principe actif ce qui limite son utilisation.

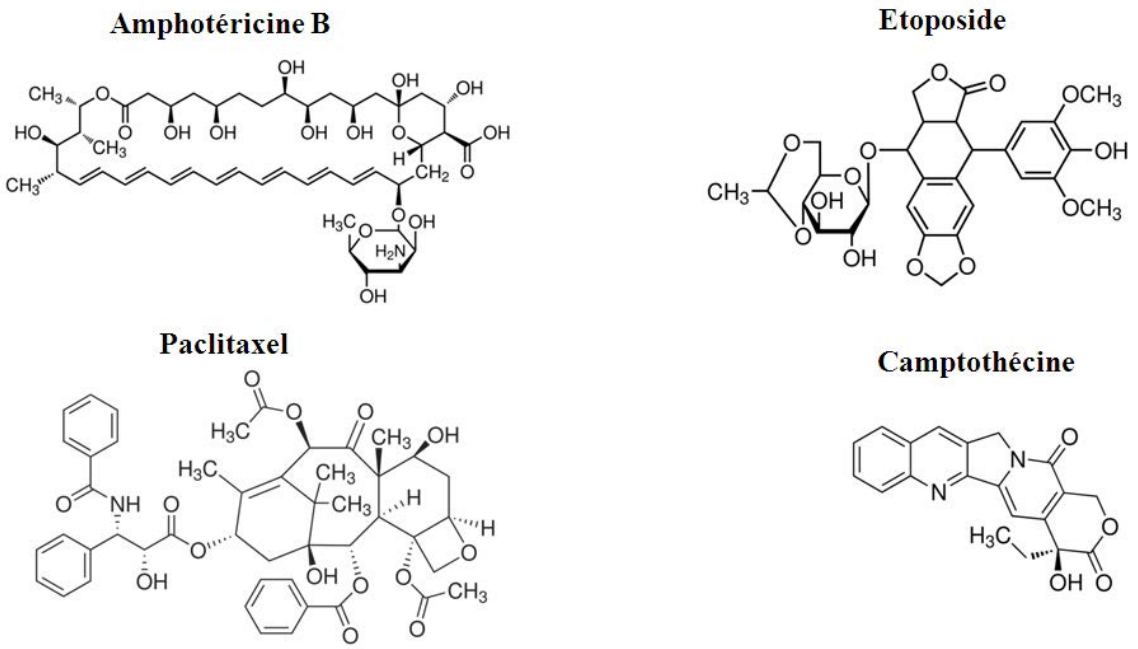


Figure I-3. Formules chimiques de quelques principes actifs transportés sous forme de nanocristaux.

II.2.3.2 Nanosphères polymères

Ce sont des matrices sphériques solides à base de polymère, dans lesquelles les principes actifs de nature hydrophile ou hydrophobe peuvent être incorporés puis transportés jusqu'à la cellule cible [37] (figure I-4). Plusieurs polymères ont été étudiés pour formuler ce type de vecteurs. Les plus courants sont le PLGA [25,35] ou encore la poly(ε-caprolactone) (PCL) [38]. La biodégradabilité et la biocompatibilité des polymères utilisés dans la formulation de ces nanoparticules permettent de transporter les principes actifs et de les relarguer progressivement par diffusion à travers le matériau matriciel et/ou par une dégradation de la nanosphère.

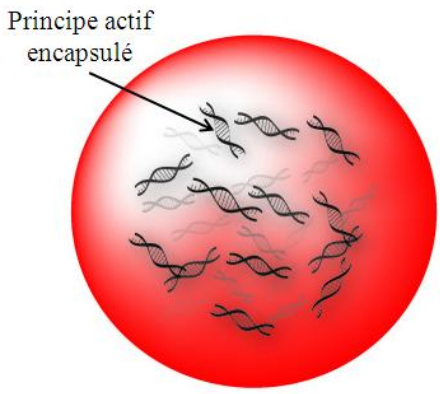


Figure I-4. Nanosphère polymère.

Ces nanoparticules polymères sont essentiellement préparées par deux grands types de procédés:

- *In situ* au cours d'une polymérisation de nano-émulsion [34,39,40].
- Par l'utilisation de procédés physico-chimiques basés sur la séparation de phases de polymères préformés : émulsion-évaporation de solvant, diffusion du solvant ou nanoprécipitation ,...[41].

II.2.3.3 Nanocapsules polymères

Les nanocapsules sont des systèmes colloïdaux vésiculaires de type cœur liquide-écorce solide, de taille nanométrique. Le cœur de la nanocapsule peut contenir des substances lipophiles [42] ou hydrophiles [43] selon l'application envisagée, et est entouré par une écorce de polymère protectrice [23,44]. Grâce à cette morphologie vésiculaire, les principes actifs peuvent être transportés dans le cœur liquide de la nanocapsule sous forme dissoute, liquide ou

dispersée. Dans le cas de principes actifs hydrophobes, ils peuvent également être localisés dans l'écorce polymère (figure I-5).

Il existe de nombreux procédés de préparation des nanocapsules [45] dont: i) utilisation d'un corps sacrificiel («template » dur ou mou) à la surface duquel l'écorce du polymère peut être formée par déposition couche par couche de polyélectrolytes de charges opposées [46,47] ou par polymérisation à partir de la surface [48]. ii) Précipitation d'un polymère à une interface liquide/liquide au cours d'un procédé tel que la nanoprécipitation [49], l'émulsion-évaporation du solvant [23,50], l'émulsion-diffusion du solvant [51]. iii) Utilisation de polymérisations interfaciales en miniémulsion telles que les polycondensations ou polymérisations en chaînes amorcées à l'aide de tensioactifs réactifs (tensioactifs et amorceurs –inisurfs [52,53] ou tensioactifs et agent de transfert- transurfs [54,55]). Cependant, la polymérisation interfaciale reste une des techniques de préparation la plus étudiée actuellement car elle a l'avantage de permettre la fabrication de la nanocapsule et l'incorporation du principe actif en une seule étape avec une grande efficacité d'encapsulation et un certain contrôle de la morphologie des nano-objets [45,54].

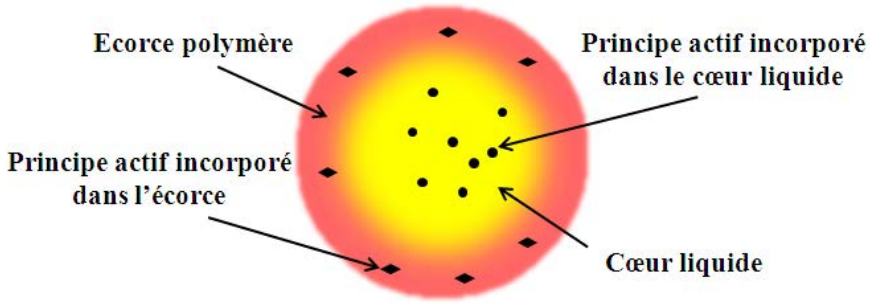


Figure I-5. Nanocapsule polymère.

II.2.3.4 Nanogels

Les nanogels sont des équivalents des hydrogels à l'échelle nanométrique [56,57]. Ils sont formés d'un réseau tridimensionnel flexible de polymères hydrophiles faiblement réticulés [58,59] synthétiques tel que le poly(éthylène glycol) [60] ou bien naturels comme le dextrane [61] et les dérivés du chitosane [62]. Ces nano-objets gonflés d'eau offrent une importante capacité d'encapsulation de principes actifs hydrophiles, cependant, il est possible d'encapsuler certains principes actifs hydrophobes.

La réticulation des chaînes polymères hydrophiles qu'elle soit physique ou chimique est essentielle pour maintenir la stabilité du nano-objet en milieu aqueux [58]. La réticulation physique peut être le résultat d'interactions physiques (liaisons hydrogène, interaction de type

Van der Waals, interactions électrostatiques) qui existent entre les chaînes des polymères. La réticulation chimique, quant à elle, implique la formation de liaisons chimiques covalentes entre les chaînes de polymères.

La polymérisation en émulsion directe ou inverse ainsi que la polymérisation à l'intérieur de liposomes [63] (figure I-6a) sont des techniques classiques pour préparer des nanogels de polymères synthétiques de taille contrôlée. La polymérisation à la surface des nanoparticules d'or [61] ou de silice [64] est une technique récemment développée qui permet à la fois de contrôler la taille des objets et d'obtenir des capsules de nanogels par templating après avoir dissous la nanoparticule d'or initiale (figure I-6b).

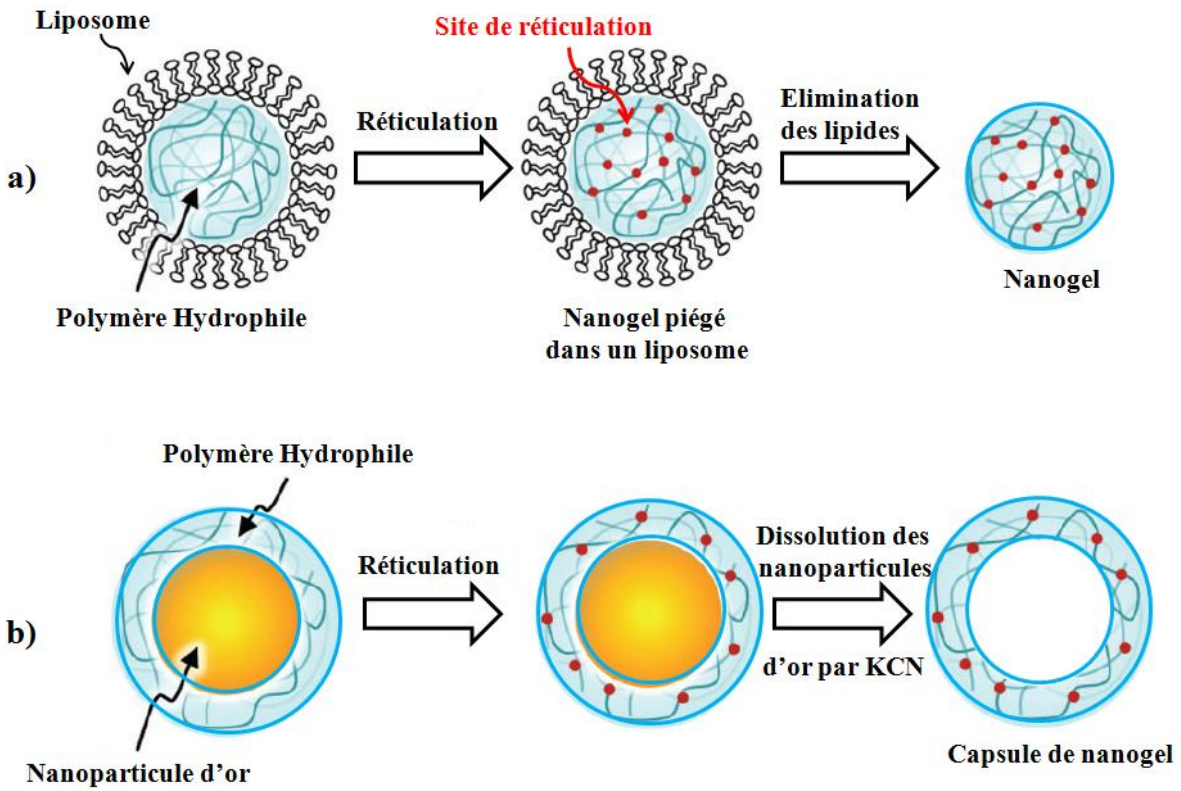


Figure I-6. Exemples de techniques de préparation des nanogels : a) au sein d'un liposome [63], b) à la surface d'une nanoparticule d'or [61].

II.2.3.5 Nanoparticules lipidiques

Les nanoparticules lipidiques solides (Solid lipid nanoparticles (SLN)) sont constituées d'un cœur lipidique solide, généralement constitué de lipides triglycériques (tricaprine, trilaurine, trimiristine, tripalmitine, tristearine) ou d'acides gras, stabilisé par une couronne de tensioactif (figure I-7). Elles conservent leur état solide cristallin à température ambiante ainsi qu'à la température du corps humain [31,65]. Elles peuvent être préparées selon plusieurs

procédés [65–68]: homogénéisation sous pression à haute ou basse température, émulsion-évaporation de solvant, microémulsion ou utilisation d'ultrasons.

L'avantage majeur de ces nanoparticules réside dans l'utilisation de lipides de nature physiologiques (biodégradables, bioassimilables et non toxiques) pouvant solubiliser et transporter les principes actifs hydrophobes sans avoir recours aux solvants organiques toxiques. Ces lipides forment un cristal parfait avec quelques défauts dans lesquels les principes actifs vont se loger, ce qui augmente la stabilité de ces derniers. Malheureusement ces nanoparticules lipidiques offrent une faible capacité d'encapsulation [65,69].

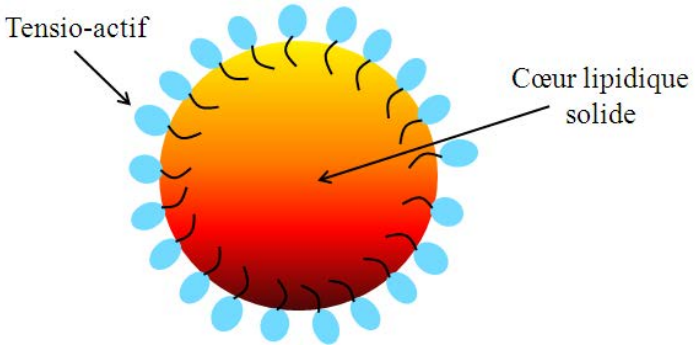


Figure I-7. Schéma représentatif d'une nanoparticule lipidique solide (SLN).

II.2.3.6 Nanoparticules inorganiques

Ce sont des nanoparticules à base de matériaux métalliques (Au, Ag, Pt, Ti, Fe,…), ou céramiques (SiO_2, Fe_3O_4, Fe_2O_3, Gd_2O_3, graphite, nanotubes de carbone,…). Leur taille n'excède pas 50 nm [70–72]. Ces nanoparticules présentent plusieurs avantages : (i) procédé de synthèse facile et comparable au procédé « sol-gel » [73], (ii) biocompatibilité des matériaux utilisés, (iii) modification facile de leur surface par différents groupements fonctionnels, (iv) contrôle facile de la morphologie des nanoparticules (forme, taille, porosité,…).

Les principes actifs peuvent être transportés soit par encapsulation à l'intérieur de la nanoparticules [74] ou par conjugaison du principe actif à la surface de l'objet [75]. Ainsi, grâce à leurs excellentes propriétés optiques et magnétiques, les nanoparticules métalliques sont plutôt utilisées comme des agents de contraste en imagerie de résonnance magnétique (IRM) [76].

II.2.3.7 Dendrimères

Les dendrimères sont des polymères fortement branchés, avec des paramètres macromoléculaires bien contrôlés ($M_w/M_n \sim 1,005$) (figure I-8). Leurs tailles varient entre 1 et 10 nm [31,77]. Ces nano-objets sont obtenus par réactions successives entre des monomères ayant au moins trois sites réactifs. Deux procédés majeurs sont utilisés : le premier procédé est appelé *« méthode divergente »* car la croissance des dendrimères se fait du cœur vers la surface. Le deuxième procédé suit au contraire une stratégie *« convergente »* puisque la croissance se fait de la surface vers le cœur du dendrimère. La méthode convergente est la plus utilisée car elle nécessite un nombre plus faible de sites actifs, ce qui réduit les réactions parasites et augmente l'efficacité de la réaction [78].

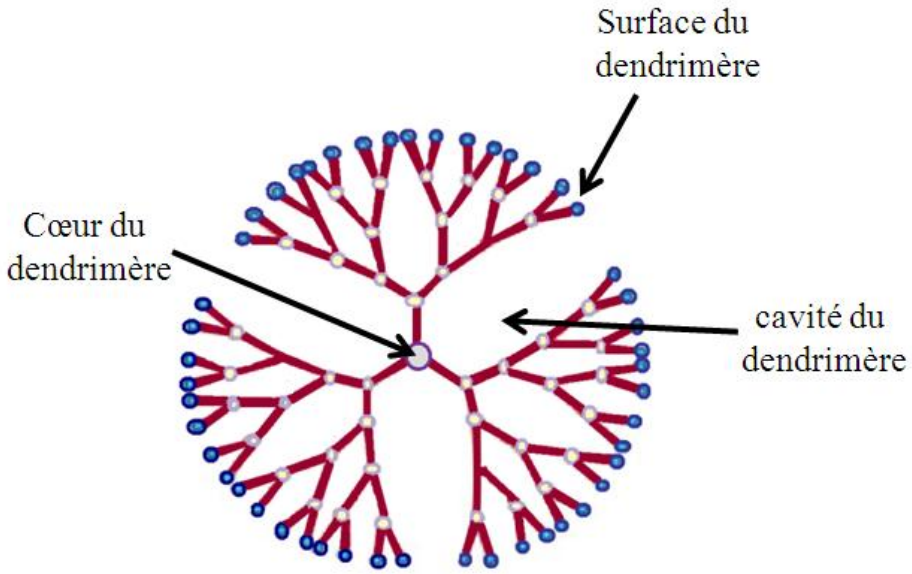


Figure I-8. Schéma représentatif d'un dendrimère.

Le premier dendrimère synthétisé en 1978 par Vögtle et al. était constitué de poly(propylène imine) (PPI) [79]. Depuis, plusieurs dendrimères ont été élaborés : les plus connus d'entre eux sont en poly(amidoamine) (PAMAM) [80] et poly(L- lysine) (PLL) [81]. Ces dendrimères sont constitués de branches « monomère » (composées d'une seule unité monomère). Des recherches ont également été menées pour synthétiser des dendrimères à branches « macromoléculaires » composées de PEG notamment [82,83].

L'avantage des dendrimères réside dans leur capacité à transporter les principes actifs par encapsulation dans leur cœur ou après formation d'une liaison covalente avec le principe actif à la surface du dendrimère. A cause de leur faible taille, les dendrimères ne peuvent pas échapper à la filtration glomérulaire, ce qui réduit leur temps de circulation et celui du

principe actif dans l'organisme. De même, ils sont capables de traverser sélectivement l'endothélium vasculaire des cellules tumorales (qui possèdent des pores plus larges que les cellules saines) et y délivrer des médicaments anticancéreux. Ce processus est connu sous le nom « Enhanced and Permeability Retention Effect » [77,84,85]. Certains dendrimères ont des propriétés pharmaceutiques intéressantes et sont utilisés également comme des substances antimicrobiennes et antivirales [86–88].

II.2.4 Les vecteurs obtenus par auto-assemblage des molécules amphiphiles

II.2.4.1 Notion d'auto-assemblage

Par définition, une substance amphiphile est constituée d'une partie hydrophile (ayant une forte affinité pour l'eau) et une autre apolaire hydrophobe (ayant une forte affinité pour les solvants organiques). La solubilisation d'une telle substance dans un solvant sélectif pour l'une des deux parties provoque un phénomène de microséparation de phases. Ce phénomène ne provient pas seulement de l'incompatibilité chimique de deux parties de la molécule amphiphile mais c'est le résultat de deux forces compétitives : d'un coté les interactions répulsives à longue distance entre les deux parties incompatibles et d'un autre coté les interactions attractives à courte distance à cause de la liaison covalente reliant ces deux parties. A l'équilibre thermodynamique, et au-delà d'une concentration dite « concentration micellaire critique (CMC) », les molécules amphiphiles adoptent plusieurs morphologies (micellaire, cylindrique, vésiculaire,…) afin de minimiser l'interface entre la partie hydrophobe et la phase aqueuse. On parle alors d'auto-organisation ou d'auto-assemblage. La morphologie de l'auto-assemblage dépend de paramètres intrinsèques à la substance amphiphile considérée tels que la nature chimique et la masse molaire des parties et de l'architecture globale de la molécule amphiphile, ainsi que de paramètres extrinsèques comme la concentration, la température, la qualité du solvant utilisé, le pH et les forces ioniques [89–91].

Plusieurs théories ont été développées afin de prédire la morphologie des objets susceptibles d'être formés. La théorie la plus utilisée est appelée « Théorie de la relation géométrie/courbure interfaciale» développée par Israelachvili et co [92]. Elle prend en considération les paramètres géométriques de la molécule amphiphile pour prévoir le type d'assemblage le plus compact, et donc la morphologie la plus probable en solution. Géométriquement, une molécule amphiphile est définie par la surface occupée à l'interface liquide/liquide (aire interfaciale a), par la longueur l de la chaîne hydrophobe et son volume v correspondant. A partir de ces paramètres, on définit un paramètre d'empilement p (équation

I-1). La valeur de ce paramètre p influence la morphologie de l'auto-assemblage susceptible d'être formé préférentiellement : micelle, cylindre, vésicule... (Figure I-9).

$$p = \frac{v}{a \times l}$$ ***Equation I- 1***

p, v, a et l désignent respectivement le paramètre d'empilement, l'aire interfaciale de la molécule amphiphile, le volume et la longueur de la chaîne hydrophobe.

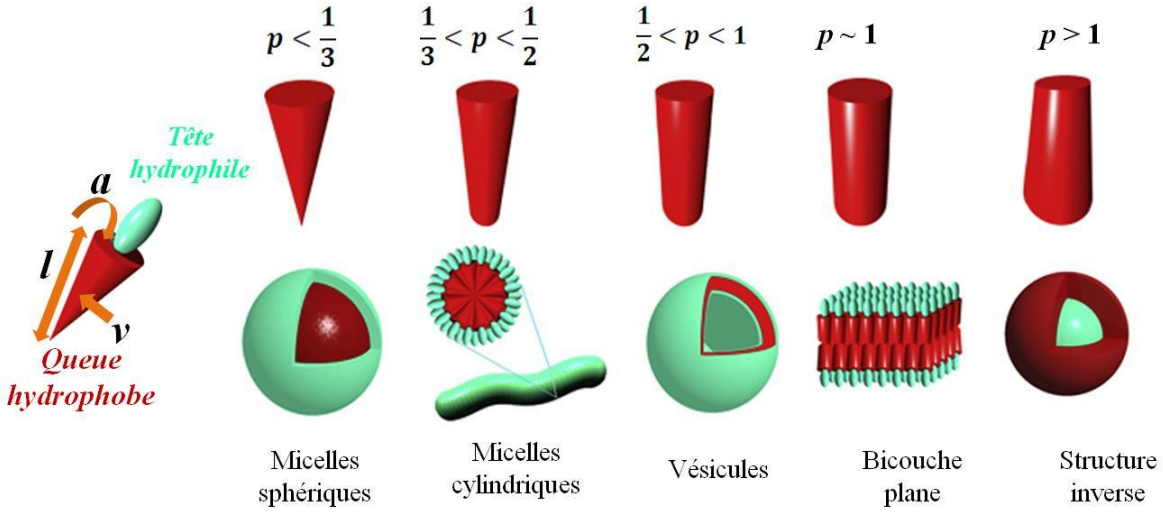


Figure I-9. Influence des paramètres géométriques de la molécule amphiphile sur la morphologie de l'auto-organisation [93].

Une loi empirique plus pratique a été établie par Discher et Eisenberg [94]. Elle permet de prévoir la morphologie de l'auto-assemblage susceptible d'être formé en solution en fonction de la fraction massique de la partie hydrophile ($f_{hydrophile}$) dans la substance amphiphile. Cette loi prévoit que lorsque $f_{hydrophile}$ est supérieure à 45% la morphologie micellaire sphérique sera la plus probable, alors que lorsque $f_{hydrophile}$ est proche de 35% c'est la morphologie vésiculaire (liposomes ou polymersomes) qui sera favorisée. En revanche pour $f_{hydrophile}$ inférieure à 25% des microstructures inversées seront obtenues. Cependant, les prévisions de cette loi restent valables uniquement dans le cas des petites molécules amphiphiles (ex. phospholipides) ou dans le cas des copolymères amphiphiles « coil » qui ne présentent aucune rigidité ou ordre supplémentaire pouvant influencer l'auto-organisation, comme nous verrons par la suite.

II.2.4.2 Les micelles

Les micelles sont des agrégats de molécules amphiphiles formant spontanément, en milieu aqueux, un système de type cœur-écorce (sphérique ou tubulaire). Leur taille moyenne

varie généralement entre 1 et 100 nm [95,96]. Les micelles se forment lorsque la concentration des molécules amphiphiles présentes dans le milieu aqueux dépasse la CMC. Dans ce cas, les molécules amphiphiles s'auto-organisent en regroupant leurs parties hydrophobes dans le cœur de la micelle, alors que leurs parties hydrophiles sont exposées en surface (figure I-10).

Il existe plusieurs types de micelles selon la nature du tensioactif utilisé (phospholipide, copolymère amphiphile). En toute rigueur, on parle plus de « pseudo-micelles » ou d'agrégats micellaires lorsque ces micelles sont obtenues par auto-assemblage de copolymères amphiphiles. Ce sont d'ailleurs ces dernières qui sont actuellement les plus étudiées [97–100]. L'avantage des nano-objets micellaires réside dans leur temps de circulation prolongé dans le sang (leur petite taille limite leur reconnaissance par le système immunitaire), et surtout dans leur capacité à solubiliser et transporter les principes actifs hydrophobes [95]. Malheureusement, ils sont fragiles, peu stables et ont une faible capacité d'encapsulation, ce qui limite leur utilisation pour le transport de principes actifs [101]. C'est pourquoi les études visent actuellement à les réticuler de manière réversible pour accroître leur stabilité [102].

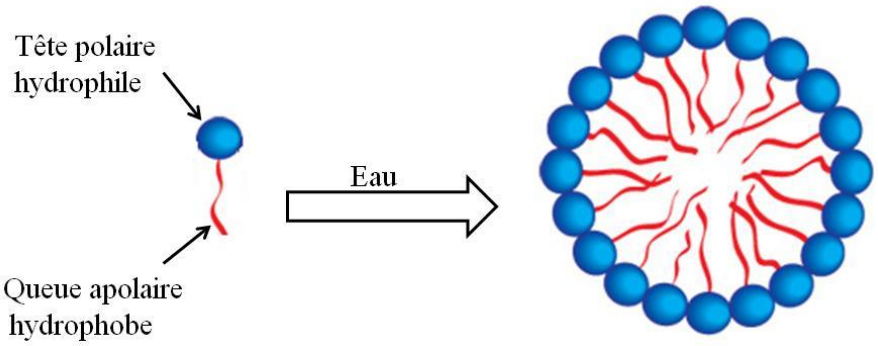


Figure I-10. Représentation d'une micelle formée par auto-organisation de molécules amphiphiles.

II.2.4.3 Les liposomes

Les liposomes sont des vésicules sphériques fermées de quelques dizaines à quelques milliers de nanomètres de diamètre. Elles sont obtenues par auto-organisation de phospholipides (figure I-11a) sous forme d'une ou plusieurs bicouches enfermant un compartiment aqueux [103,104] (figure I-11b). A.D. Bangham [105] a été le premier à avoir volontairement fabriqué des liposomes en 1965. Depuis, et grâce à une structure similaire à celles de la membrane des cellules vivantes, ces objets ont suscité l'attention de nombreux groupes de recherche dans différents domaines (physico-chimique, biophysique, pharmaceutique…). Mais l'intérêt réel des liposomes réside dans leur capacité

d'encapsulation et de transport à la fois de principes actifs hydrophiles dans le cœur de la vésicule, et de principes actifs hydrophobes dans la bicouche hydrophobe.

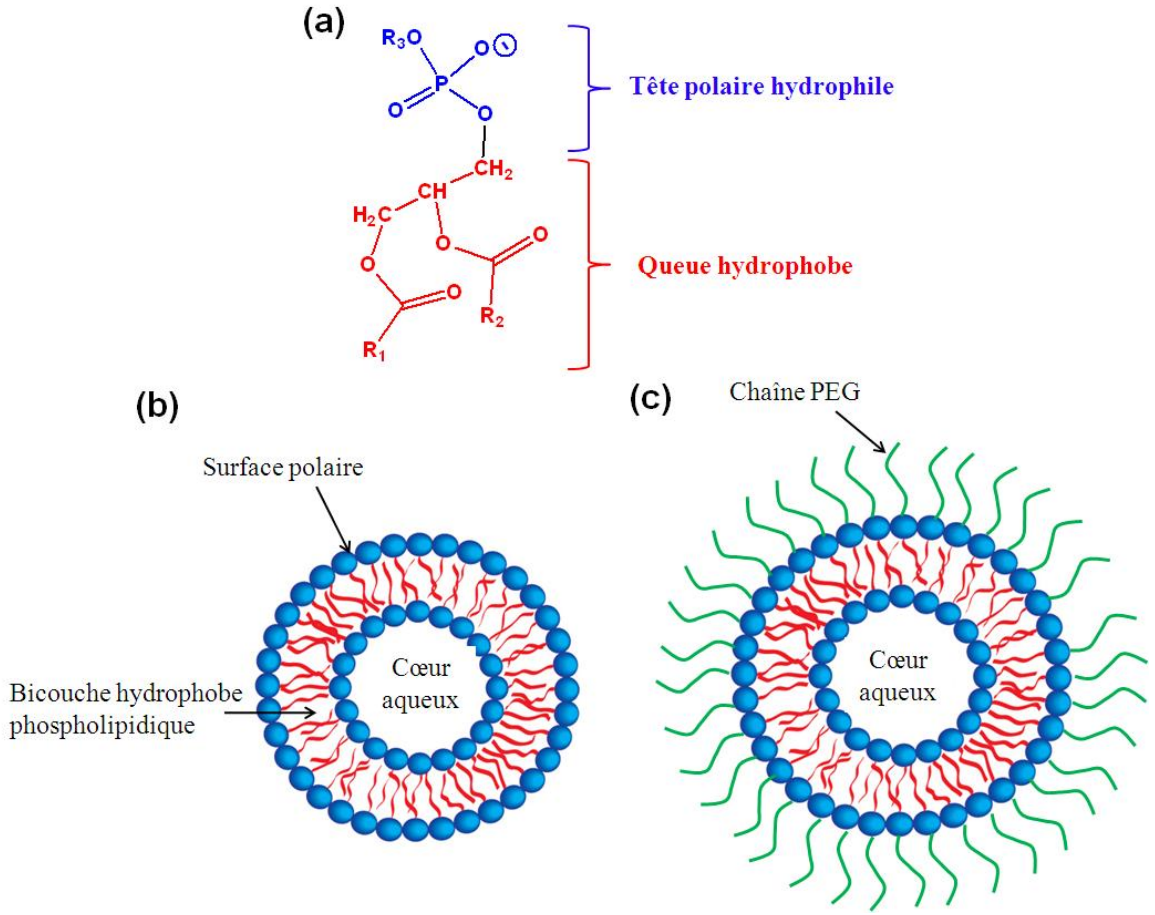


Figure I-11. Auto-organisation des phospholipides sous forme de bicouche. (a) Formule générale des phospholipides. R1 et R2 sont des chaînes hydrocarbonées, dites grasses. (b) liposome conventionnel, (c) liposome furtif.

Cependant, les liposomes présentent quelques limitations chimiques et physiques. Chimiquement, leur instabilité peut être provoquée par l'hydrolyse des liaisons ester des phospholipides. Physiquement, une agrégation ou une fusion de plusieurs liposomes peut conduire à la formation d'objets de tailles très importantes et donc inutilisables en vectorisation. Enfin, ces liposomes sont mécaniquement fragiles : ils ont alors une durée de vie réduite à cause de l'effet de cisaillement imposé par le flux sanguin. Un autre inconvénient est que ces objets sont rapidement éliminés *in vivo* par les macrophages (cellules du système immunitaire dont la fonction principale est la capture et l'élimination des particules étrangères). Cette élimination se fait selon un processus appelé phagocytose. Dans le cas des liposomes, elle est accélérée par l'adsorption d'opsonines (protéines circulantes dans le système sanguin) à leur surface (polaire et chargée), ce qui les rend spécifiquement

reconnaissables par les macrophages [106,107]. Une des solutions proposées afin de réduire l'adsorption des protéines et donc prévenir leur capture par les macrophages est de concevoir des liposomes *« furtifs »* (figure I-11c). Les liposomes « furtifs » sont des liposomes conventionnels, décorés par des chaînes hydrophiles à leur surface telles que des chaînes de PEG [108,109]. L'introduction de cette nouvelle couche hydrophile en surface de la vésicule assure une répulsion d'origine stérique des opsonines, et par conséquent, limite leur adsorption et augmente le temps de vie du vecteur dans l'organisme [110].

II.2.4.4 Les polymersomes

Les polymersomes sont des vésicules artificielles de taille nano- à micrométrique, analogues aux liposomes. Ils sont obtenus par auto-organisation de copolymères amphiphiles sous forme de bicouches enfermant un milieu aqueux (figure I-12) [111,112]. L'équipe de Discher [113] a été la première à avoir baptisé ces vésicules «polymersomes » par analogie aux liposomes. En effet, la morphologie de la bicouche alors obtenue par auto-organisation des copolymères à blocs poly(éthylène oxyde)-b-polyéthylène (PEO-b-PE) était comparable à celles des «liposomes».

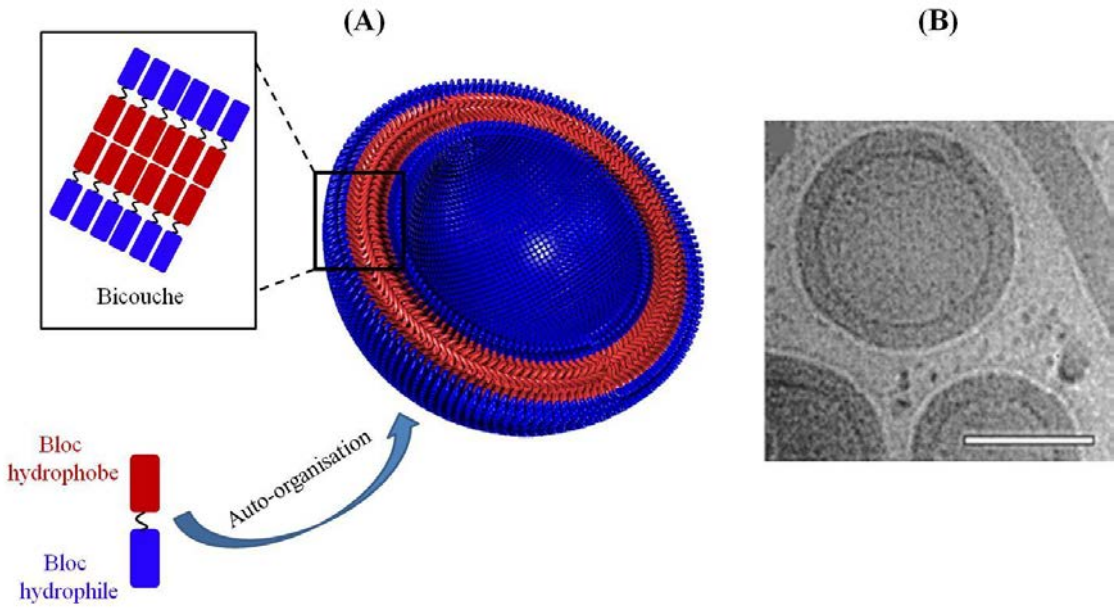


Figure I-12. (A) Schéma représentatif en 3D d'un demi- polymersome. Les blocs hydrophiles (bleu) forment les parois extérieure et intérieure de la vésicule, alors que l'épaisseur de la membrane est formée par rassemblement des blocs hydrophobes (rouge). (B) Image cryo-MET d'un polymersome obtenu par auto-organisation du copolymère poly(éthylène glycol)-b-polybutadiène (PEG-b-PB) [112].

En comparaison avec les liposomes, les polymersomes sont des vésicules plus robustes, plus stables chimiquement et mécaniquement, et aussi, moins perméables. Ces propriétés intéressantes proviennent essentiellement de la grande masse molaire des copolymères utilisés (> 100 000 g/mol) qui leur confère une membrane très épaisse (> 5 nm) par rapport à celle des liposomes [114]. Comme les liposomes, l'avantage des polymersomes sur les autres types de vecteurs de principes actifs réside dans leur capacité à encapsuler et transporter une grande variété de molécules thérapeutiques, à la fois hydrophiles et hydrophobes. En effet, les principes actifs hydrophiles peuvent être solubilisés dans le cœur hydrophile de la vésicule, les principes actifs hydrophobes seront encapsulés dans la bicouche hydrophobe [115].

La méthode utilisée pour préparer les polymersomes est une étape clé, car si la morphologie de l'auto-organisation est principalement dictée par la fraction et la longueur de chaque partie comme déjà indiqué dans le paragraphe II.2.4.1, une méthode inadéquate de préparation peut conduire soit à un faible taux d'auto-assemblage, soit à des objets cinétiquement figés dans des morphologies hors équilibre. De plus, la méthodologie employée influence aussi la taille des objets formés [116]. Il existe principalement deux méthodes pour obtenir l'auto-assemblage de copolymères amphiphiles : la méthode du co-solvant et la réhydratation de films de copolymères.

- La méthode du co-solvant est la méthode la plus utilisée. Elle consiste à solubiliser le copolymère amphiphile, généralement insoluble dans l'eau, dans un solvant organique (bon solvant des deux blocs hydrophile et hydrophobe) et miscible à l'eau. La solution organique obtenue est ensuite progressivement hydratée par différentes techniques induisant l'auto-assemblage des copolymères amphiphiles et la formation des vésicules. L'hydratation de la phase organique se fait essentiellement soit par ajout lent de l'eau à la phase organique (par exemple par dialyse), soit au contraire par ajout rapide de la phase organique à l'eau (nano précipitation) tout en contrôlant la vitesse d'ajout et le ratio final des phases organique/eau. Finalement, le solvant organique est éliminé par évaporation s'il est volatil.

- La deuxième méthode est connue sous l'appellation de « réhydratation de films » (figure I-13). Cette technique est basée comme son nom l'indique sur l'hydratation d'un film mince de copolymère amphiphile préalablement préparé. La préparation du film commence d'abord par la solubilisation du copolymère dans un solvant organique (solvant commun pour les deux blocs), puis celui-ci est évaporé produisant un film mince et uniforme de copolymères. La phase aqueuse est alors ajoutée par la suite pour dissoudre le film et provoquer la formation des polymersomes [117].

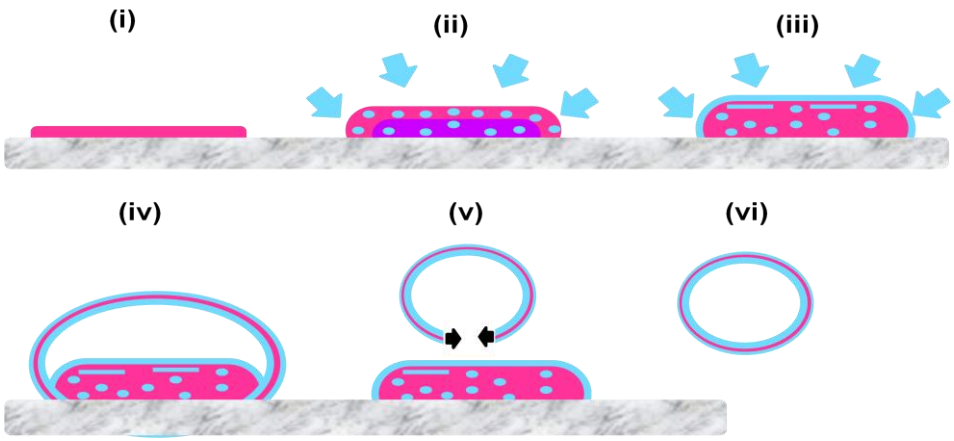


Figure I-13. Réhydratation d'un film de copolymères amphiphiles, (i) film, (ii) hydratation du film et séparation des phases, (iii) formation des lamelles par auto-assemblage des copolymères, (iv) expansion et formation de la bicouche, (v) détachement de la bicouche, (vi) minimisation de l'énergie par la formation de polymersomes [111].

La bicouche des polymersomes peut avoir différentes structures selon l'architecture du copolymère qui la constitue. Un schéma représentatif est proposé dans la figure I-14.

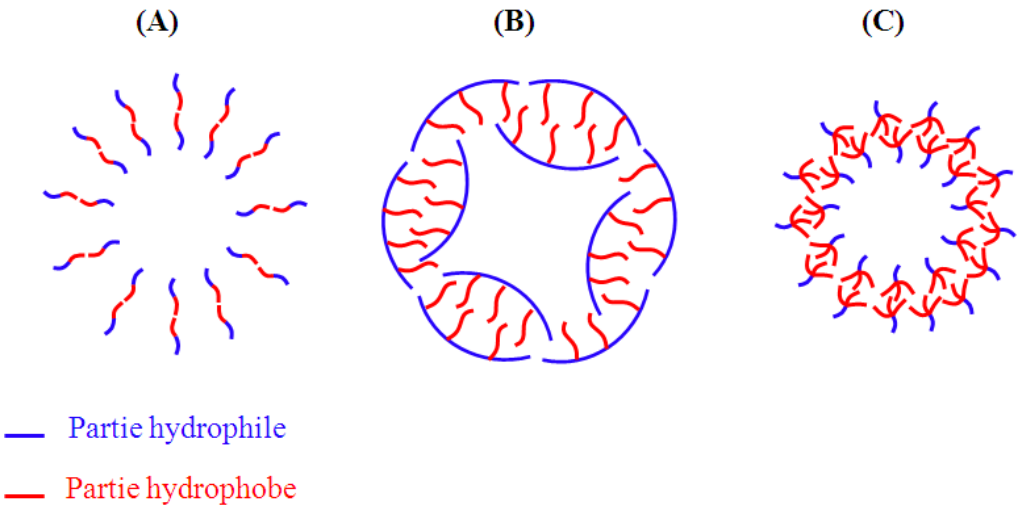


Figure I-14. Structures probables des bicouches de polymersomes obtenues à partir de copolymères (A) blocs, (B) greffés ou (C) en étoile.

Suite à la découverte des polymersomes, les chercheurs ont apporté une grande attention à la préparation de ces architectures fascinantes en étudiant l'auto-assemblage de divers copolymères amphiphiles. Dans un premier temps, et de façon courante, des copolymères dibloc composés de blocs hydrophile et hydrophobe « coil » (on parle dans ce cas de copolymères de type coil-coil) ont été étudiés [94,118,119]. On peut citer l'emploi de blocs

poly(oxyde d'éthylène) (PEO) [120], polybutadiène (PB) [121,122], polystyrène (PS) [123,124] ou poly(n-acrylate de butyle) (PBA) [125].

Des copolymères amphiphiles greffés pourraient apporter un ordre supplémentaire à l'auto-organisation sous forme de vésicules grâce à leurs structures complexes et confinées [91,126]. Cependant, très peu d'exemples de copolymères amphiphiles greffés ont été étudiés dans cet objectif. Ils sont alors composés d'une dorsale hydrophile « coil » et de greffons hydrophobes « coil » : poly(2-hydroxyéthyl aspartamide)-g-oligomères d'acide lactique (PHEA-g-LA) [127], poly(β-amino ester)-g-[poly(éthylène glycol)/poly(D,L-lactide)] PAE-g-(PEG/PLA) [128] et très récemment le poly(3-hydroxyoctanoate-co-3-hydroxyundécanoate)-g-poly(éthylène glycol) (PHOU-g-PEG) [129]. Les structures chimiques de ces copolymères greffés sont représentées dans la figure I-15 ci-dessous :

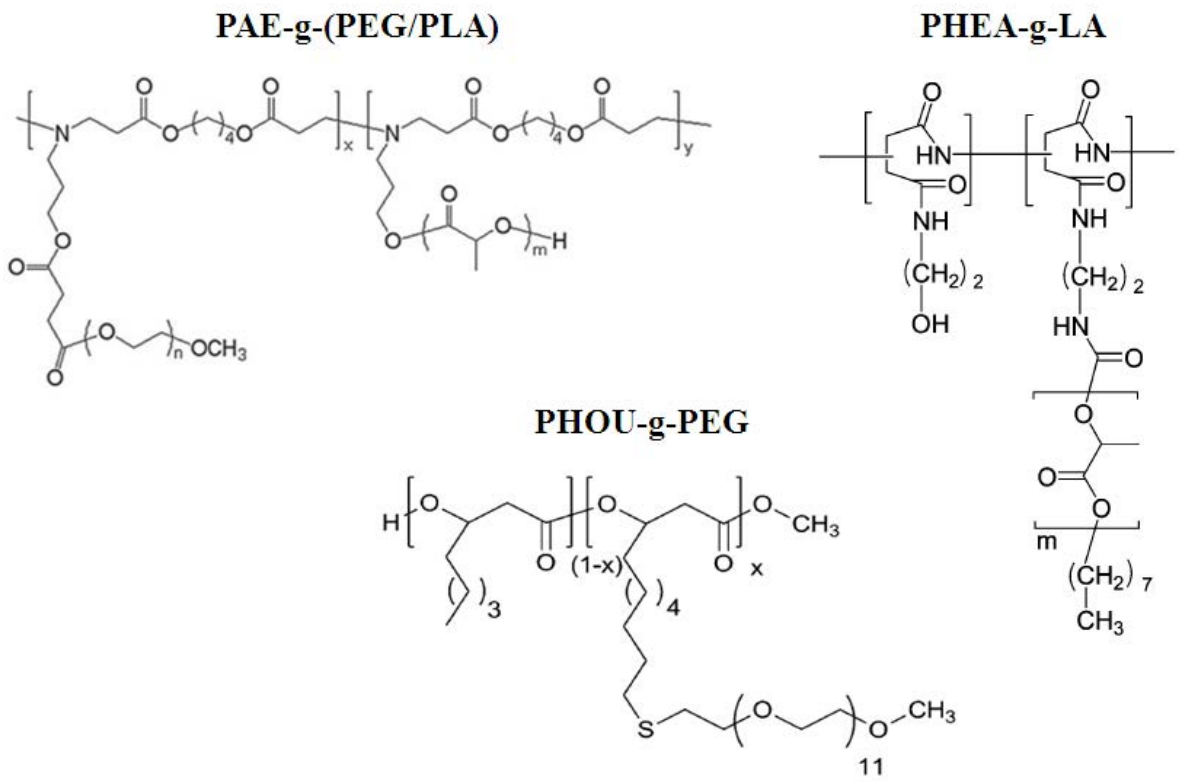


Figure I-15. Structures chimiques des copolymères greffés utilisés pour l'élaboration des polymersomes.

Depuis quelques années, les chercheurs se sont progressivement intéressés aux architectures obtenues à partir des copolymères diblocs amphiphiles de type « rod-coil » dont le bloc hydrophobe présente une certaine rigidité [130–132]. L'intérêt majeur de ce type de copolymères amphiphiles par rapport aux copolymères « coil-coil » réside dans l'anisotropie et l'ordre supplémentaire apportés par les blocs « rod », ou plus précisément grâce aux

interactions qui peuvent s'établir entre ces blocs hydrophobes. Cet ordre supplémentaire va contribuer au renforcement de l'auto-organisation obtenue et par conséquent à l'amélioration de la stabilité mécanique de la bicouche des polymersomes [130,132]. Il existe un très grand nombre de polymères hydrophobes « rod » capables d'engendrer cette anisotropie (voir quelques exemples figure I-16). Les polymères porteurs de groupements cristal-liquides sont d'excellents candidats capables de jouer efficacement ce rôle car, en plus de leur rigidité, ils ont le pouvoir de répondre dans certains cas à des stimuli extérieurs tels que la température, le pH, la lumière, les champs magnétique ou électrique. Ces stimulis permettent de perturber l'ordre créé et de « déstructurer » le polymersome qui libère alors les principes actifs encapsulés à l'endroit désiré [133–135].

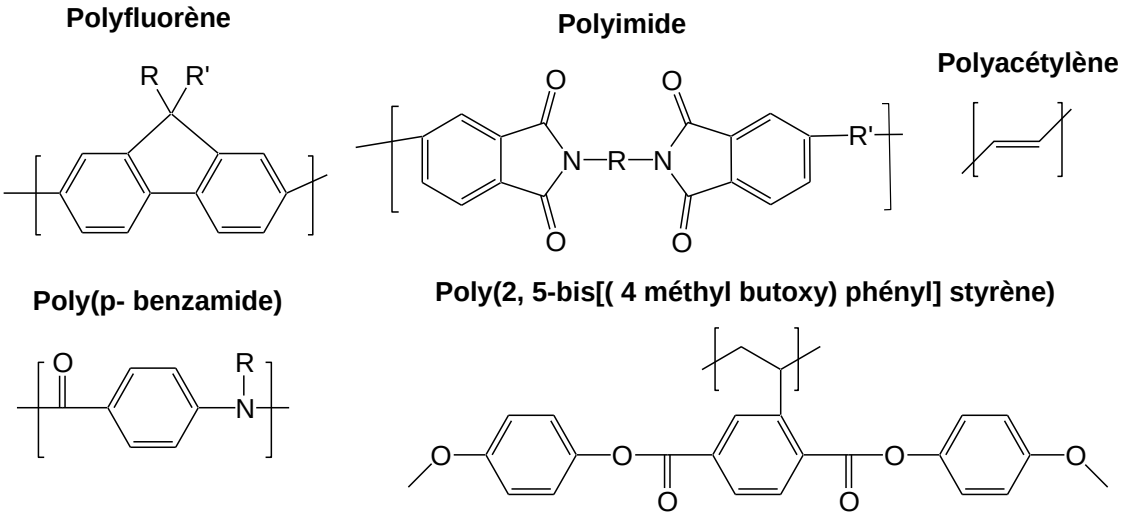


Figure I-16. Structures chimiques de quelques polymères « rod » [130] **.**

III.LES COPOLYMERES A CARACTERE CRISTAL-LIQUIDE

Dans ce chapitre, nous nous intéresserons à l'auto-assemblage de copolymères amphiphiles dont le bloc hydrophobe présente des propriétés cristal-liquide ; et plus particulièrement un bloc hydrophobe possédant des groupements cholestérol. Après avoir rappelé des généralités sur les cristaux-liquide, nous présenterons le cholestérol. Dans un deuxième temps, quelques études sur l'auto-assemblage de copolymères amphiphiles contenant des groupements cholestérol seront exposées. La plupart des systèmes étudiés sont de simples chaînes polymères modifiées par des groupements cholestérol ou des copolymères à blocs linéaires. A notre connaissance, les auto-organisations réalisées à partir de

copolymères greffés ou en étoile constitués de parties « rod » sont beaucoup plus rares dans la littérature [136,137].

III.1 GENERALITES SUR LES CRISTAUX LIQUIDES

Un cristal-liquide est un état de matière intermédiaire entre l'état solide cristallin et l'état liquide, combinant à la fois l'ordre d'orientation à longue distance du cristal et la fluidité isotropique d'un liquide. Cet état de matière a été découvert il y a 125 ans en 1888 par Friedrich Reinitzerl qui a observé le comportement thermique curieux du benzoate de cholestérol, possédant deux points de fusion. Les molécules capables de s'auto-organiser et de former une phase cristal-liquide sont appelées mésogènes. Elles ont des propriétés mésomorphes ou encore forment une mésophase [138]. On distingue deux types de mésogènes selon leur morphologie : *les mésogènes calamitiques* sous forme de bâtonnet et *les mésogènes discotiques* sous forme de disque (figure I-17) [139].

Figure I-17. Principales morphologies des mésogènes. (a) mésogènes calamitiques, (b) mésogènes discotiques.

III.1.1 Les mésophases

Les mésophases ou phases cristaux-liquides peuvent être classées en deux grandes familles selon leur mode d'obtention:

III.1.1.1 Mésophase thermotropique

La mésophase thermotropique est une phase cristal-liquide dont la température est le principal paramètre thermodynamique contrôlant les transitions de phases. Cette mésophase est caractérisée par deux températures caractéristiques T_m et T_c. T_m est la température de transition d'un état solide à une mésophase réfléchissante de la lumière blanche. T_c appelée température claire (clearing température) est la température de transition de la mésophase à un état liquide isotrope (figure I-18) [139]. Les mésogènes susceptibles de former les mésophases

thermotropiques sont des molécules anisotropiques ayant un ordre d'orientation à longue distance. Elles sont composées d'une partie « rod » (ex. cycle aromatique) et d'une partie « coil » (ex. chaîne aliphatique) (figures I-19a,b,c).

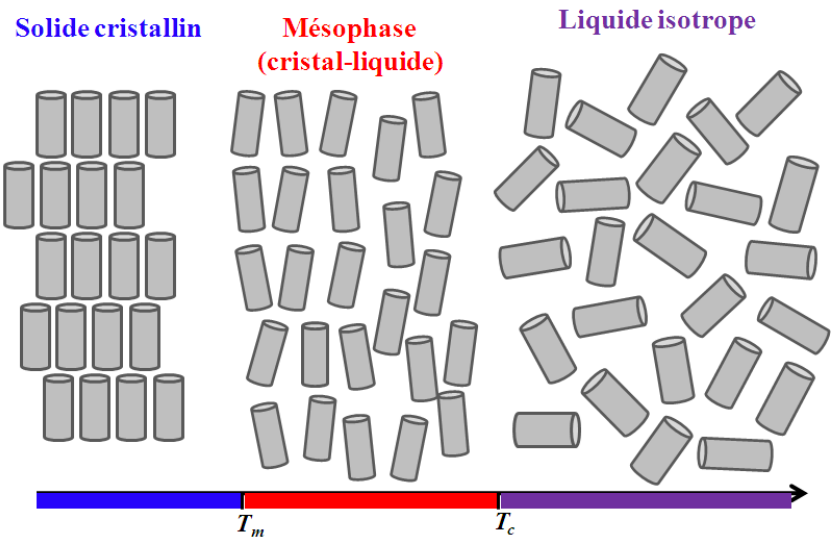


Figure I-18. Diagramme de phase des molécules cristaux-liquides. T_m : température de transition d'un état solide à une mésophase, T_c : température claire, température de transition de la mésophase à un état liquide isotrope. $T_m < T < T_c$: gamme de température de la mésophase cristal-liquide.

III.1.1.2 Mésophase lyotropique

La mésophase lyotropique est une phase cristal-liquide obtenue par effet de dilution des mésogènes par un solvant, généralement de l'eau. Les molécules formant cette mésophase sont des molécules amphiphiles, généralement des phospholipides ou des tensioactifs anioniques, cationiques ou non-ioniques (figures I-19d,e). Lorsque la concentration de ces mésogènes dépasse la CMC ces mésogènes s'organisent en solution [139].

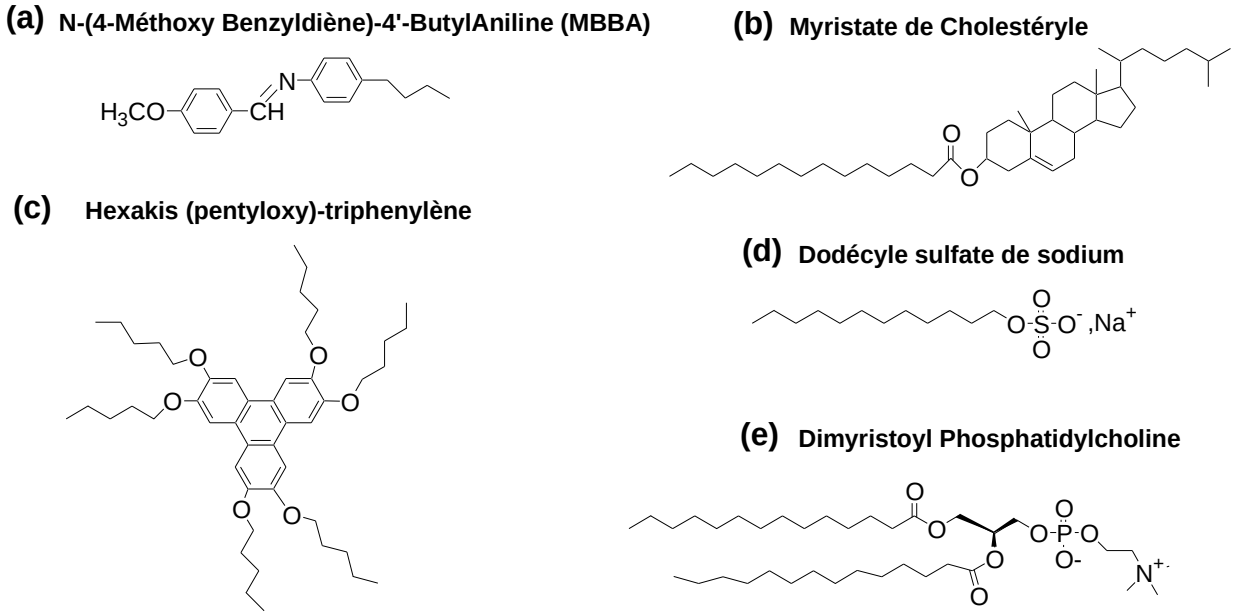


Figure I- 19 Exemples de mésogènes, (a, b) thermotropiques calamitiques et (c) thermotropique discotique, et (d, e) mésogènes lyotropiques.

III.1.1.3 Les structures des mésophases

Par analogie aux cristaux solides (minéraux ou métalliques) qui cristallisent en adoptant un système cristallin bien défini (triclinique, monoclinique, orthorhombique, quadratique, trigonal, hexagonal ou cubique), les mésophases peuvent également être classées selon l'ordre d'orientation et de position des mésogènes étudiés. Autrement dit, selon le degré de symétrie présent dans chaque système, on distingue trois principaux systèmes mésophasiques : nématique, smectique (ou lamellaire) et colonnaire :

a) <u>Phase nématique</u>

C'est la phase la plus simple dans la famille des cristaux liquides. Elle est obtenue à partir des mésogènes calamitiques ou discotiques possédant seulement un ordre orientationnel et ne présentent aucun ordre translationnel (ordre positionnel). C'est le cas des liquides anisotropiques par exemple. Dans ce cas, les molécules sont orientées parallèlement à une direction privilégiée définie par un vecteur $\vec{n}$, mais restent libres de se déplacer dans l'espace. Dans le cas de mésogènes calamitiques cette phase nématique est notée N, dans le cas de mésogènes discotiques on la note N_D. Si la phase nématique est formée à partir des molécules chirales, on parle d'une phase nématique chirale ou d'une phase cholestérique notée N*. Du fait des contraintes imposées par leur chiralité, ces molécules ne peuvent pas s'aligner côte à côte aussi facilement et l'axe moléculaire principal de chaque mésogène va se décaler selon

un mouvement de précession pour décrire une hélice gauche ou droite suivant la chiralité moléculaire du mésogène (figure I-20).

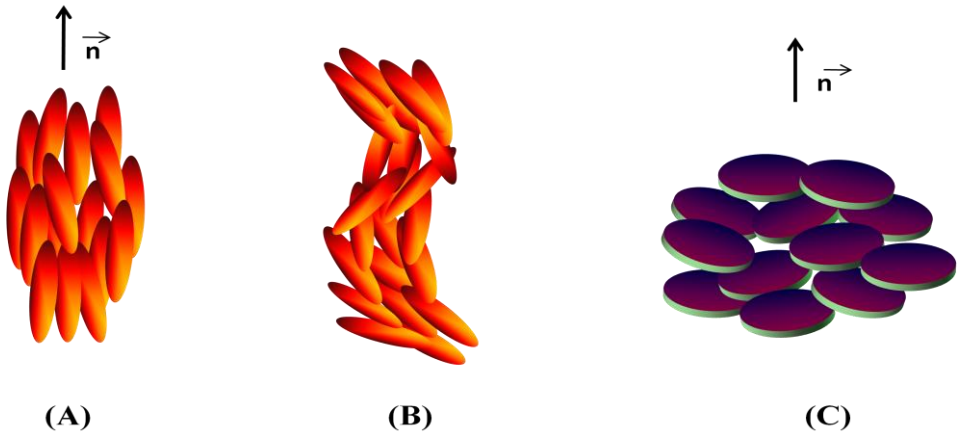


Figure I-20. Schéma représentatif des mésophases nématiques. (A) calamitiques N, (B) calamitiques obtenues par molécules chirales N*, (C) discotiques N_D.

b) Phase smectique/ lamellaire :

Si on rajoute un ordre de position unidimensionnel selon une direction spécifique, les molécules mésogènes seront organisées sous forme de couches parallèles, libres de glisser les unes sur les autres. Dans ce cas, on parle d'une phase ***smectique*** pour les mésogènes thermotropiques (cas de la molécule du cholestérol) et ***lamellaire*** dans le cas des mésogènes lyotropiques. Lorsque les mésogènes sont orientés parallèlement à la normale des couches, on parle d'une phase ***smectique A (SmA)*** pour les mésogènes thermotropiques (figure I-21A) et $\boldsymbol{L_\alpha}$ pour les mésogènes lyotropiques lamellaires. Si l'épaisseur moyenne (d) de deux couches successives est égale à la longueur (l) d'un mésogène, on parle d'une phase ***smectique A_1 (SmA_1)*** (figure I-21B), alors que si d est inférieure à deux fois la longueur ($2\times l$) de la molécule on nomme cette phase ***smectique interdigitée A_d (SmA_d)*** [139,140] (figure I-21C). Lorsque les mésogènes sont inclinés d'un angle θ à la normale des couches, on parle d'une phase ***smectique C (SmC)*** pour les mésogènes thermotropiques (figure I-21D) et $\boldsymbol{L_\beta}$ pour les mésogènes lyotropiques lamellaires. De plus, selon la présence ou non d'un ordre positionnel à courte distance des mésogènes de la même couche et selon leur orientation par rapport à la normale $\vec{n}$, on peut définir d'autres types de mésophases smectiques (***Smectique B, Smectique F, Smectique I***) [140].

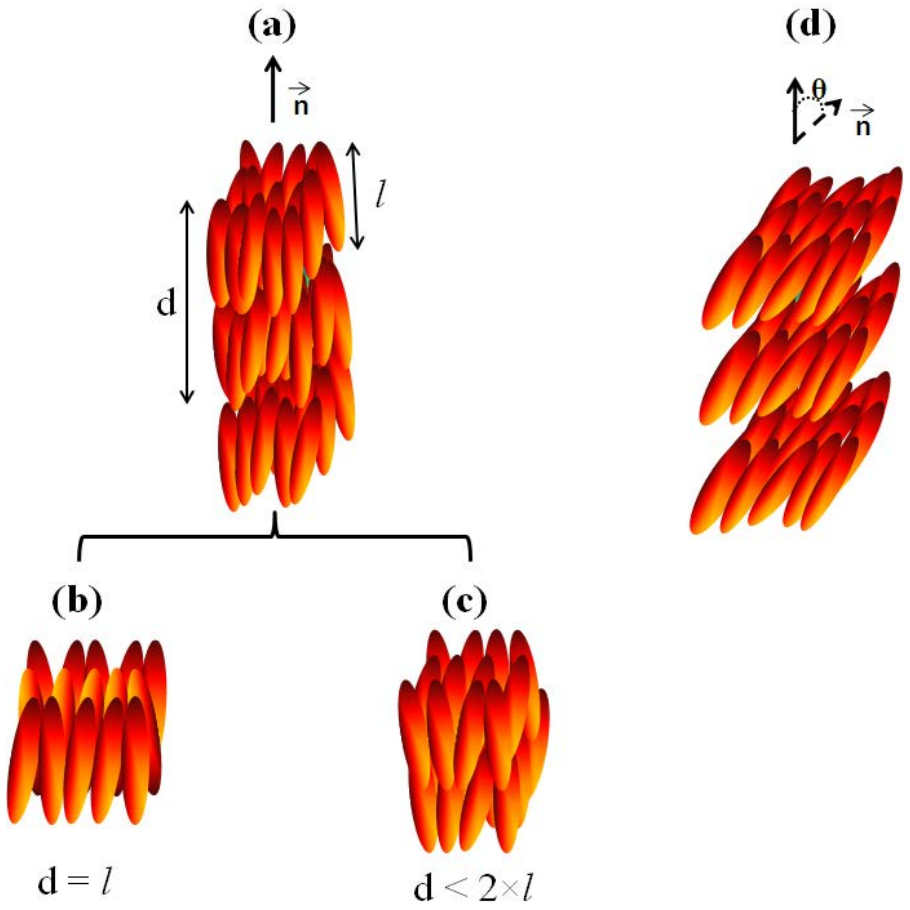


Figure I- 21. Schéma représentatif des mésophases smectiques. (a) Smectique A (SmA), (b) Smectique A_1 (SmA1) (c) Smectique A_d (SmA_d) et (d) Smectique C (SmC).

c) Phase colonnaire

C'est une phase obtenue uniquement à partir des mésogènes discotiques. Les molécules s'organisent sous forme de colonnes en conservant un ordre positionnel bidimensionnel à longue distance et un ordre à courte distance dans la troisième dimension (figure I-22). Le système hexagonal est le système le plus rencontré dans ce cas, bien que les systèmes rectangulaire et oblique ont également été observés [140].

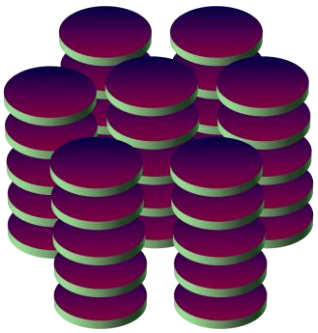


Figure I-22. Schéma représentatif d'une phase colonnaire obtenue à partir des mésogènes discotiques.

III.1.2 Techniques de caractérisation des cristaux-liquides

Il existe de nombreuses techniques expérimentales permettant de caractériser et d'identifier les différents systèmes mésophasiques. Trois techniques complémentaires sont les plus utilisées : l'analyse calorimétrique différentielle à balayage, la microscopie optique à lumière polarisante et la diffraction des rayons X.

III.1.2.1 La calorimétrie différentielle à balayage

C'est une technique d'analyse du comportement thermique des matériaux. Le principe de cette technique est basé sur la mesure des différences d'échanges de chaleur entre l'échantillon à analyser et une référence (creuset vide) dans une zone de température. Ceci permet de déterminer par exemple la température de transition vitreuse (T_g) des polymères et des verres métalliques, ainsi que les températures de fusion et de cristallisation.

Dans le cas des mésogènes, cette technique permet de définir la zone dans laquelle le matériau présente un comportement cristal-liquide. Par conséquent, on peut localiser la température de transition vitreuse ou de l'état cristal-liquide à l'état liquide isotropique (T_{CL-I}) par exemple. Ces transitions sont caractérisées par l'apparition d'un pic lors de la variation de l'enthalpie du système (ΔH) (figure I-23). Cependant, cette technique ne permet pas d'identifier le type de mésophases. L'utilisation d'une technique de caractérisation supplémentaire est donc indispensable.

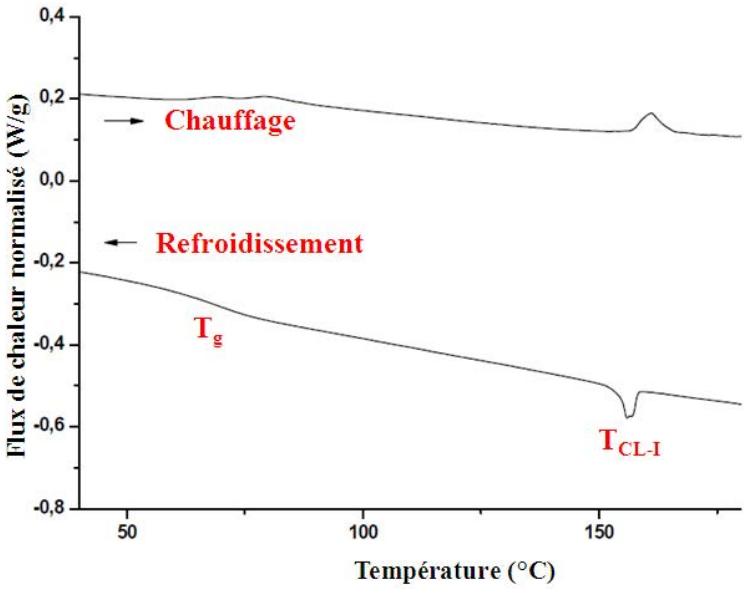


Figure I- 23. Thermogramme obtenu par calorimétrie différentielle à balayage d'une mésophase smectique. T_g : transition vitreuse (T_g), T_{CL-I} : transition cristal-liquide à un liquide isotropique [141].

III.1.2.2 La microscopie optique à lumière polarisante

Cette technique est la plus utilisée pour identifier la nature des mésophases (voir un schéma représentatif d'un microscope optique dans la partie techniques expérimentales). Les cristaux-liquides, comme leurs homologues les cristaux solides, ont des propriétés optiques caractéristiques très intéressantes grâce à leur biréfringence. La biréfringence est une propriété optique induite par un matériau lorsque la lumière se propage de manière anisotrope. En d'autres mots, en traversant le matériau, le rayon lumineux incident se divise en deux rayons réfractés déphasés (rayons se propageant avec des vitesses différentes selon l'indice de réfraction ordinaire n_0 ou extraordinaire n_e). A l'opposé, lorsque la lumière traverse un liquide isotropique, elle ne change pas de vitesse de propagation puisque le liquide isotrope ne possède qu'un seul indice de réfraction et par conséquent le rayon sortant apparaît noir.

Comme nous l'avons mentionné auparavant, les cristaux solides sont des réseaux tridimensionnels possédant un degré de symétrie donné selon le système cristallin adopté. Et il est connu qu'aucun cristal n'est parfait puisqu'il existe souvent des défauts dans l'arrangement des molécules. Cela est d'autant plus vrai pour les cristaux-liquides. En effet, ces derniers sont formés d'une association de molécules mésogènes juxtaposées, avec une orientation du vecteur $\vec{n}$ pouvant varier de l'une à l'autre. Ces variations de $\vec{n}$ peuvent être considérées également comme des défauts. Les défauts sont classés en deux catégories : i) ***les dislocations de translations***. Ce premier type de défaut est observé lorsqu'une zone du cristal-liquide est décalée linéairement par rapport à sa voisine, ii) ***les dislocations de rotation*** (appelée également desinclinaison) sont des discontinuités du vecteur d'orientation $\vec{n}$ d'une zone cristalline à l'autre. Ce dernier type de défaut est fréquemment observé dans les cristaux liquides contrairement aux cristaux solides. Grâce à ces défauts et à l'aide du microscope optique à lumière polarisante on peut observer des textures spécifiques à chaque système mésophasiques (figure I-24).

Dans le cas des phases nématiques, les défauts observés sont caractérisés par des zones colorées séparées par des filaments noirs qui se croisent, formant un réseau semblable à un réseau de cellules nerveuses. Les anglo-saxons appellent cette texture : *Schlieren texture* (figure 24a). Dans le cas des phases smectiques A, les mésogènes sont organisés sous forme de couches formant ainsi des « coniques » afin de minimiser l'énergie du système. En microscope optique à lumière polarisante, on observe une texture en *éventails* « *fan-like* » (figure 24b). Dans le cas des mésophases colonnaires, la texture en éventail est également obtenue mais en forme sphérique (figure 24c).

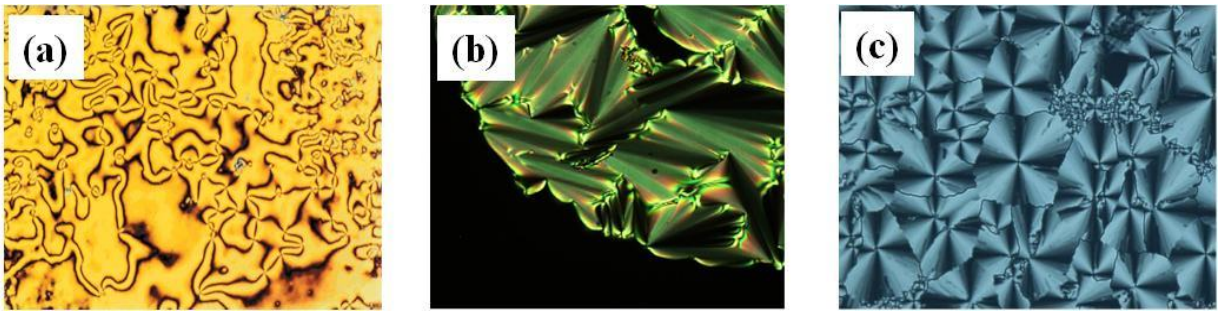


Figure I- 24. Exemples de textures d'une mésophase : (a) nématique [142], (b) smectique A [143] et (c) colonnaire [144] (observation par microscope optique à lumière polarisante).

III.1.2.3 La diffraction des rayons X

La diffraction des rayons X est parmi les toutes premières techniques à avoir été utilisées pour identifier les mésophases. Son principe consiste à soumettre l'échantillon à un faisceau de rayons X, puis à enregistrer l'intensité des rayons diffusés selon leur orientation dans l'espace. Les rayons X diffractés interfèrent entre eux et l'intensité mesurée présente des maxima (spots) dans certaines directions. A partir de la forme et de la position de ces spots on peut prédire la nature du cristal ou de la mésophase. La phase nématique est caractérisée par la présence d'un arc de diffusion aux petits angles (figure I-25a), alors que la phase smectique est caractérisée par la présence des spots de Bragg provenant de la périodicité des couches (figure I-25b).

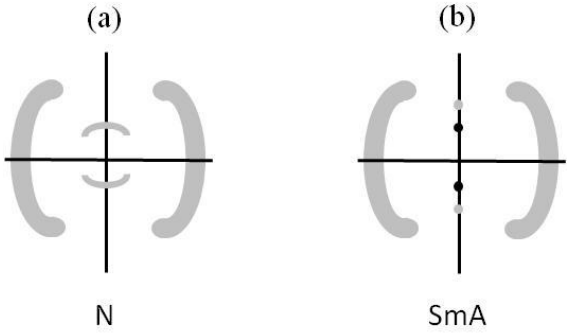


Figure I- 25. Schéma représentatif des clichés de la diffraction des rayons-X dans les cas des mésophases : (a) nématique et (b) smectique A.

Ainsi, pour les mésophases smectiques et grâce aux spots de Bragg, on peut déterminer les distances périodiques d en utilisant la loi de Bragg (équation I-2) où λ est la longueur d'onde du faisceau de rayons X, n l'ordre de diffraction (n = 1, 2, 3…) et θ le demi-angle de déviation (moitié de l'angle entre le faisceau incident et la direction du détecteur). Cette

distance *d* peut être comparée à la longueur *l* du mésogène afin de déterminer la nature exacte de la mésophase smectique (SmA, SmA_1 ou SmA_d).

$$n\lambda = 2\ d\ sin\theta$$ ***Equation I-2***

III.2 LE CHOLESTEROL

Le cholestérol a été découvert en 1789 par *François Poulletier de La Salle* sous forme d'un composé cristallin dans les calculs biliaires. Plusieurs années après sa découverte, les chimistes continuaient à croire que ce nouveau composé n'était qu'une sorte de graisse putréfiée faisant référence à l'adipocire. Quelques années plus tard, *Michel Chevreul* montra que ce composé cristallin est caractérisé par une température de fusion (137 °C) très différente de celle de l'adipocire (44 – 68 °C). Il nomma ce nouveau composé « cholestérine » en utilisant deux mots grecs : « chole » qui signifie « bile » et « stéreose » qui signifie « solide ». Le suffixe « ol » a été rajouté par la suite après identification d'une fonction alcool secondaire sur ce nouveau composé [145,146]. Cette molécule a été à l'origine de plusieurs prix Nobel pendant le XXème siècle (1964, 1965, 1981).

Le cholestérol est un composé naturel biocompatible et biodégradable issu des ressources alimentaires animales exogènes comme les fromages, le jaune d'œuf, les viandes bovine et porcine. Sa synthèse endogène se fait principalement dans le cytoplasme des cellules du foie et de l'intestin. Dans le corps humain, il est localisé principalement sous sa forme estérifiée dans le foie, le cerveau et la moelle épinière. Il fait partie des composants essentiels qui assurent la stabilité des membranes cellulaires animales et le maintien de leurs structures. En s'intercalant entre les phospholipides des membranes cellulaires, il diminue leur perméabilité aux molécules hydrosolubles. Il est également le précurseur de nombreuses réactions biochimiques de synthèse d'hormones surrénaliennes comme le cortisol ou l'aldostérone, d'hormones sexuelles (progestérone, œstradiol et testostérone) et d'acides biliaires ou encore de la vitamine D [147–150]. Grâce à sa biodégradabilité et sa biocompatibilité, le cholestérol est utilisé dans divers domaines et notamment dans la production de vecteurs de principes actifs.

Le cholestérol est l'un des dérivés les plus répandus et les plus connus de la famille des stéroïdes caractérisée par la présence de quatre cycles carbonés accolés (noyau cyclopentano-perhydro-phénanthrénique). Il comporte 27 carbones dont 8 carbones asymétriques (numérotés : 3, 8, 9, 10, 13, 14, 17 et 20) ; 46 hydrogènes, une fonction alcool secondaire et une double liaison. Son nom officiel selon la nomenclature IUPAC est le *10, 13-diméthyl-17-*

(6-méthylheptan-2-yl)-2, 3, 4, 7, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 16, 17-dodécahydro-1H-cyclopenta[a]phénanthrén-3-ol (figure I-26). C'est une molécule amphiphile insoluble dans l'eau et « rod » grâce à la présence de quatre cycles. Elle possède un caractère cristal-liquide thermotropique ce qui lui permet de s'organiser en solution ou en masse.

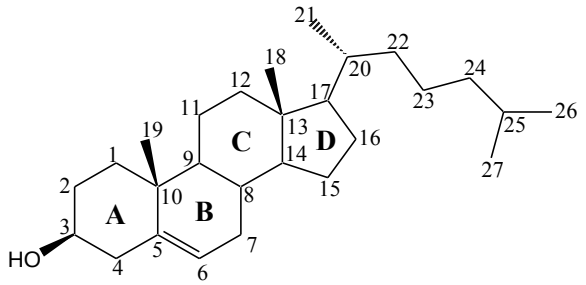


Figure I-26. Structure chimique du cholestérol. Les lettres A, B, C, D désignent les différents cycles constituant le noyau cyclopentano-perhydro-phénanthrénique.

Le cholestérol possède deux sites réactifs : la fonction hydroxyle sur le carbone 3 et la double liaison entre les carbones 5 et 6. Par exemple, ces sites permettent l'introduction de fonctions polymérisables (ex. (méth) acrylates)) par estérification [151–154] ou sa modification à l'aide d'agents de couplage par « chimie click » sur la double liaison [155]. Néanmoins, Zhang et al. ont montré que le cholestérol modifié au niveau de sa double liaison (C_5=C_6) perd toutes ses propriétés cristal-liquide : aucune transition de type cristal-liquide n'est alors détectée [156]. Ce changement de propriétés peut être expliqué par la destruction de la double liaison qui est l'une des sources de la rigidité de la molécule de cholestérol. Par la suite, nous nous intéresserons donc uniquement aux polymères ou copolymères possédant des substituants où le cholestérol est modifié au niveau de sa fonction hydroxyle afin de préserver ses propriétés mésomorphes.

III.3 COPOLYMERES AMPHIPHILES CONTENANT DES UNITES CHOLESTERIQUES

III.3.1 Polymères fonctionnalisés par des groupements cholestérol terminaux

Les premiers travaux réalisés sur l'auto-assemblage de macromolécules amphiphiles contenant des groupements cholestérol étaient basés sur de simples chaînes polymères hydrophiles fonctionnalisées à leur extrémité par une molécule de cholestérol. Hélas souvent, ce genre de macromolécules ne s'auto-organisent pas sous forme de polymersomes [157] mais sous forme de micelles, à cause de la faible proportion du bloc hydrophobe par rapport à la

chaîne hydrophile conformément aux théories développées sur l'auto-assemblage (paragraphe II.2.4.1) [158–173]. Ces polymères peuvent être obtenus selon deux voies : (i) polymérisation de monomères hydrophiles en utilisant un amorceur dérivé du cholestérol [157–168], (ii) introduction du cholestérol sur le polymère par une simple réaction d'estérification [131–135].

Le schéma I-1 illustre un exemple de la première voie de synthèse. Dans un premier temps, les fonctions acides du 4,4'-azobis(acide 4-cyanovalérique) ont été modifiées pour introduire le groupement cholestérol formant ainsi l'amorceur modifié 4,4'-Azobis(4-cyano-1-cholestéryl) pentanoate. Ce dernier se décompose pour amorcer la polymérisation radicalaire conventionnelle de l'acide 2-(acrylamido) 2-méthylpropane sulfonique [159].

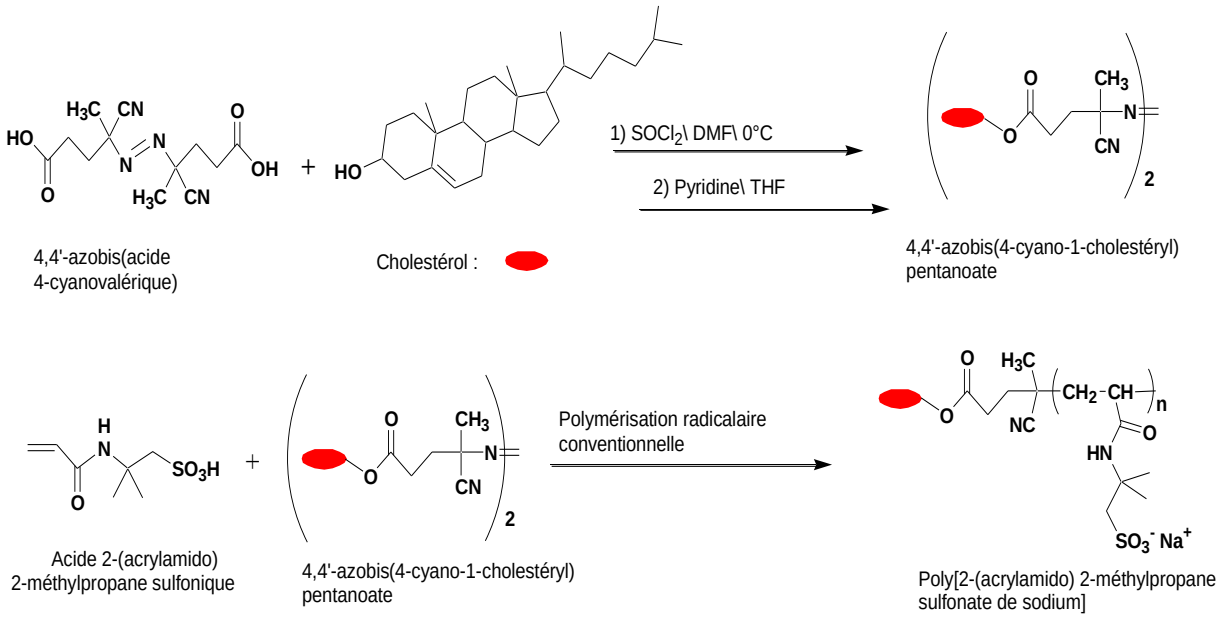


Schéma I-1. ***Synthèse d'un poly[2-(acrylamido) 2-méthylpropane sulfonate de sodium] fonctionnalisé à son extrémité.***

Le schéma I-2 décrit un exemple de synthèse d'un copolymère porteur d'un groupement cholestérol terminal obtenu selon la deuxième stratégie. Le poly(N-isopropylacrylamide-co-N,N-diméthylacrylamide) [169] a été synthétisé par polymérisation radicalaire conventionnelle en utilisant le peroxyde de benzoyle (BPO) comme amorceur et l'hydroxyéthanethiol comme agent de transfert. Le copolymère obtenu a ensuite été modifié par estérification de sa fonction hydroxyle terminale avec le choloroformate de cholestéryle.

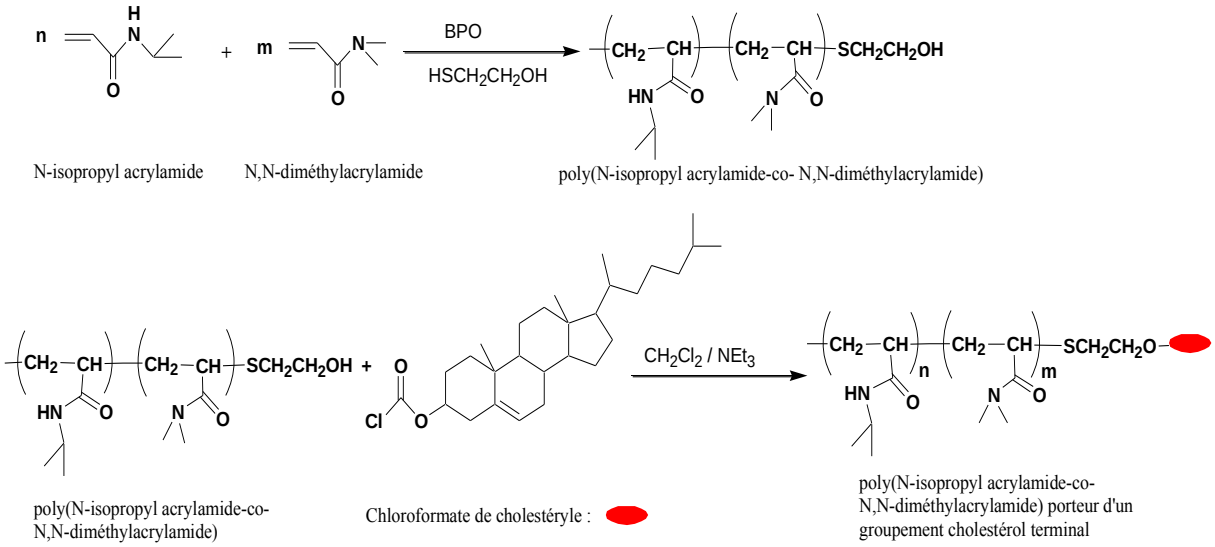


Schéma I- 2 Synthèse d'un poly(N-isopropylacrylamide-co-N,N-diméthylacrylamide) porteur d'un groupe cholestérol terminal.

III.3.2 Copolymères à blocs porteurs de groupements cholestérol latéraux

Depuis quelques années, de nombreuses équipes de recherche s'intéressent aux copolymères amphiphiles à blocs dont le bloc hydrophobe porte plusieurs groupements cholestérol latéraux. Ce bloc est associé à une grande variété de blocs hydrophiles (figure I-27) : poly(N-propargylamide) [174], poly(méthacrylate d'hydroxyéthyle) [175], polynorborène [176,177], poly(méthacrylate d'éthyle phosphorylcholine) [178], poly(acide acrylique)-co-poly(éthylène glycol) [179,180], poly(acrylate d'ascorbyle) [181] et poly(éthylène glycol) [141,182–186]. Ces copolymères ont été préparés principalement selon deux voies de synthèse : i) polymérisation de monomères porteurs du groupement cholestérol. Différents mécanismes de polymérisation ont été employés : Polymérisation Radicalaire par Transfert d'Atome (ATRP) [141,178,183,187], Transfert Réversible par Addition-Fragmentation (polymérisation RAFT) [175,179–181,185], Polymérisation par Ouverture de Cycle par Métathèse (ROMP) [176,177] ou Polymérisation par Ouverture de Cycle (ROP) [184,186] ; ii) post-introduction des groupements cholestérol sur le copolymère final par estérifications d'un des blocs [182]. Notons toutefois que la plupart de ces travaux ne sont pas focalisés sur l'étude de l'auto-organisation des copolymères, mais plutôt sur l'étude de leurs propriétés optiques, mécaniques ou électroniques.

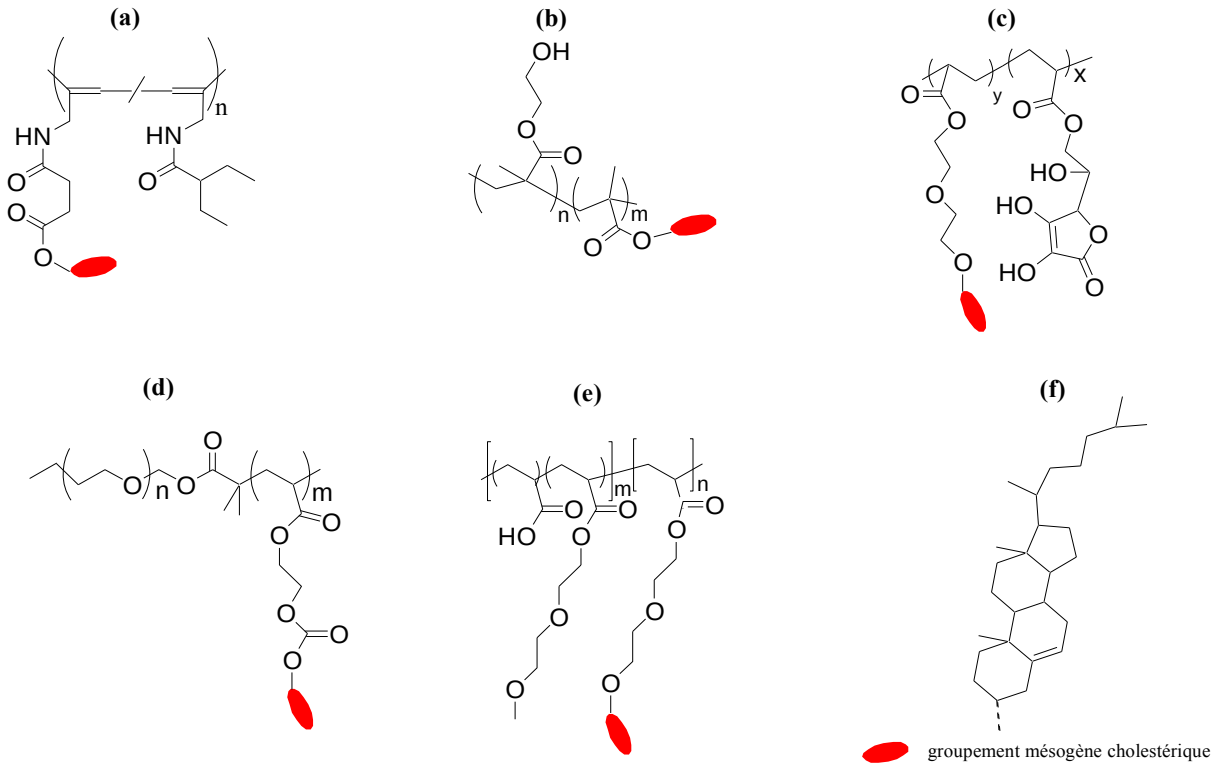


Figure I- 27. Structures chimiques de quelques copolymères à blocs amphiphiles porteurs de groupements cholestérol latéraux.(a) Poly(N-propargylamide de cholestéryle)-b-poly(N-propargylamide d'éthyle) [174]***, (b) Poly(méthacrylate de cholestéryle) -b-poly(méthacrylate d'hydroxyéthyle)*** [175]***, (c) poly(acrylate d'ascorbyle)-b-poly(acrylate de diéthylène glycol et de cholestéryle)*** [181]***, (d) poly(éthylène glycol)-b-poly(acryloyloxyéthyl carbonate de cholestéryle)*** [141]***, (e) Poly(acide acrylique)-co-poly(éthylène glycol)-b-poly(acryloyloxy tétraéthylène glycole carbonate et cholestéryle)*** [179,180]***. (f) est un groupement cholestérique.***

Dans ce qui suit nous nous focaliserons sur les études concernant l'auto-organisation. Nous nous intéresserons à l'influence d'une part de l'ordre cristal-liquide et du ratio hydrophile/hydrophobe et d'autre part de la technique de préparation des objets sur la morphologie de l'auto-organisation.

III.3.2.1 Influence de l'ordre cristal-liquide et du ratio hydrophile/ hydrophobe

Une étude très intéressante a été menée par l'équipe de Min-Hui Li [141,183]. Elle porte sur l'étude de l'auto-organisation de copolymères amphiphiles poly(éthylène glycol)-b-poly(acryloyloxyéthyl carbonate cholestéryle) PEG_n-b-$PAChol_m$ (n et m sont respectivement les degrés de polymérisation du bloc hydrophile PEG et du bloc hydrophobe PAChol) (voir figure I-27e). L'auto-organisation de ces copolymères a été réalisée à l'aide de la méthode du co-solvant à partir d'une solution de dioxane. Plusieurs copolymères présentant différents ratios massiques (bloc hydrophile/bloc hydrophobe) ont été préparés. Une mésophase

Smectique A (SmA) a été observée dans le cas du copolymère PEG_{114}-b-$PAChol_{60}$ (ratio massique 14/86) avec formation de nano-objets filamentaires de 40 à 50 nm de diamètre (voir figure I-28a). Mais, en augmentant la proportion massique de la partie hydrophile et en réduisant sa longueur (copolymère PEG_{45}-b-$PAChol_{10}$: 28/72), une mésophase nématique est observée avec une auto-organisation de morphologie vésiculaire sphérique avec parfois des bourgeons sphériques (voir figure I-28b). En revanche, un troisième copolymère PEG_{45}-b-$PAChol_{16}$ de longueur du bloc hydrophile similaire mais avec un ratio massique de 20/80 montre un résultat différent: il présente une mésophase smectique au lieu d'une mésophase nématique avec une auto-organisation de morphologie vésiculaire géante de forme ellipsoïdale figure I-28c.

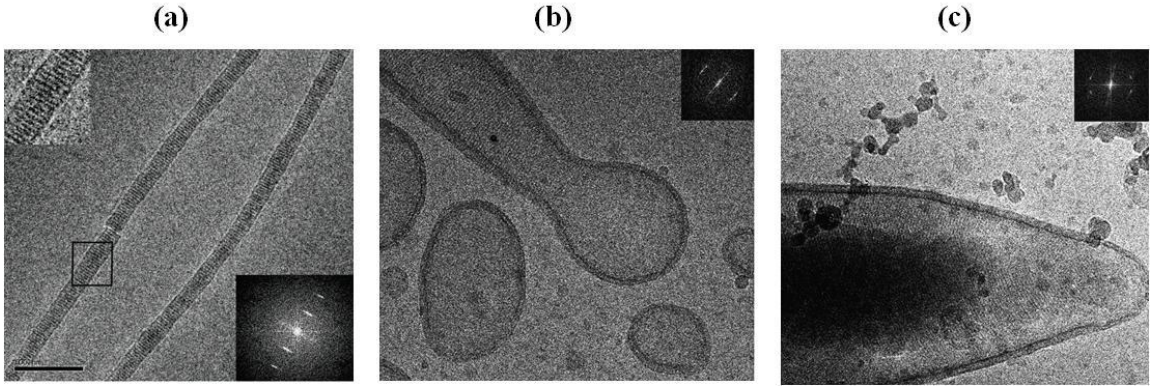


Figure I- 28. Images cryo-MET des auto-organisations observées dans l'eau à partir d'une solution dioxane. (a) PEG_{114}-b-$PAChol_{60}$, (b) PEG_{45}-b-$PAChol_{10}$ et (c) PEG_{45}-b-$PAChol_{16}$ [141,183] ***.***

A partir des résultats de cette étude [141,183] et d'autres travaux sur divers groupements mésogènes [188,189], il a été conclu que les copolymères qui présentent un ordre nématique s'auto-organisent sous forme de polymersomes sphériques, tandis que les copolymères qui présentent un ordre cristal-liquide smectique adoptent des morphologies plus originales (filament, polymersomes ellipsoïdaux...).

Dans un deuxième temps, cette équipe s'est focalisée sur la série de copolymères PEG_{114}-b-$PAChol_m$ avec m= 20, 30, 37, 42, 50 ou 60 [187]. Il a été montré que la longueur du bloc hydrophobe n'a aucune influence sur l'ordre cristal-liquide des copolymères puisque tous ces copolymères présentent une mésophase d'ordre smectique. L'étude de cette série a également révélé que la morphologie de l'auto-organisation de ces copolymères ne respecte pas totalement la *« Théorie de la relation géométrie / courbure interfaciale »* (paragraphe II.2.4.1). Cette théorie prévoit en effet la formation de micelles sphériques dans le cas des

copolymères amphiphiles de faible proportion en bloc hydrophobe ; puis des micelles cylindriques, polymersomes, bicouches planes ou des micelles inverses au fur et à mesure de l'augmentation de la proportion du bloc hydrophobe. Cette évolution n'est que partiellement respectée dans le cas des copolymères PEG_{114}-b-$PAChol_m$ (figure I-29). En effet, des micelles de 28 nm à 180 nm sont observées dans le cas du copolymère présentant un petit bloc hydrophobe (PEG_{114}-b-$PAChol_{20}$, figure I-29a), puis des vésicules sphériques de plus en plus larges (380 nm à 480 nm) sont observées avec l'augmentation de la longueur du bloc hydrophobe (copolymères PEG_{114}-b-$PAChol_{30}$, PEG_{114}-b-$PAChol_{37}$, PEG_{114}-b-$PAChol_{42}$) (figures Ib,c,d) . Mais subitement, un changement de forme des vésicules est observé si on continue à accroître la longueur du bloc hydrophobe. Ces vésicules deviennent ellipsoïdales avec une réduction de diamètre (50 nm à 100 nm) et quelques filaments (45 nm de diamètre et 400 nm de longueur) sont observés dans le cas du copolymère PEG_{114}-b-$PAChol_{50}$ (figure I-29e). Pour le copolymère possédant le bloc hydrophobe le plus long (PEG_{114}-b-$PAChol_{60}$) (figures 29I-f), on observe majoritairement des filaments (45 nm de diamètre et 180 nm de longueur) coexistants avec quelques vésicules ellipsoïdales (50 nm à 100 nm) [187] (les vésicules apparaissent déformées dans les images MET à cause du processus de séchage appliqué).

Li et coll. expliquent la déviation du comportement de ces copolymères à la théorie par le fait que les bases de cette théorie ont été développées à l'origine pour les petites molécules amphiphiles isotropiques, avant d'être généralisée aux copolymères de type « coil-coil ». Cependant, dans le cas des copolymères à bloc « rod-coil » ayant un ordre cristal-liquide, la morphologie de l'auto-organisation ne dépend pas directement de la taille du bloc hydrophobe mais bien du degré de l'ordre smectique présent, lequel est influencé par la taille du bloc hydrophobe. [187].

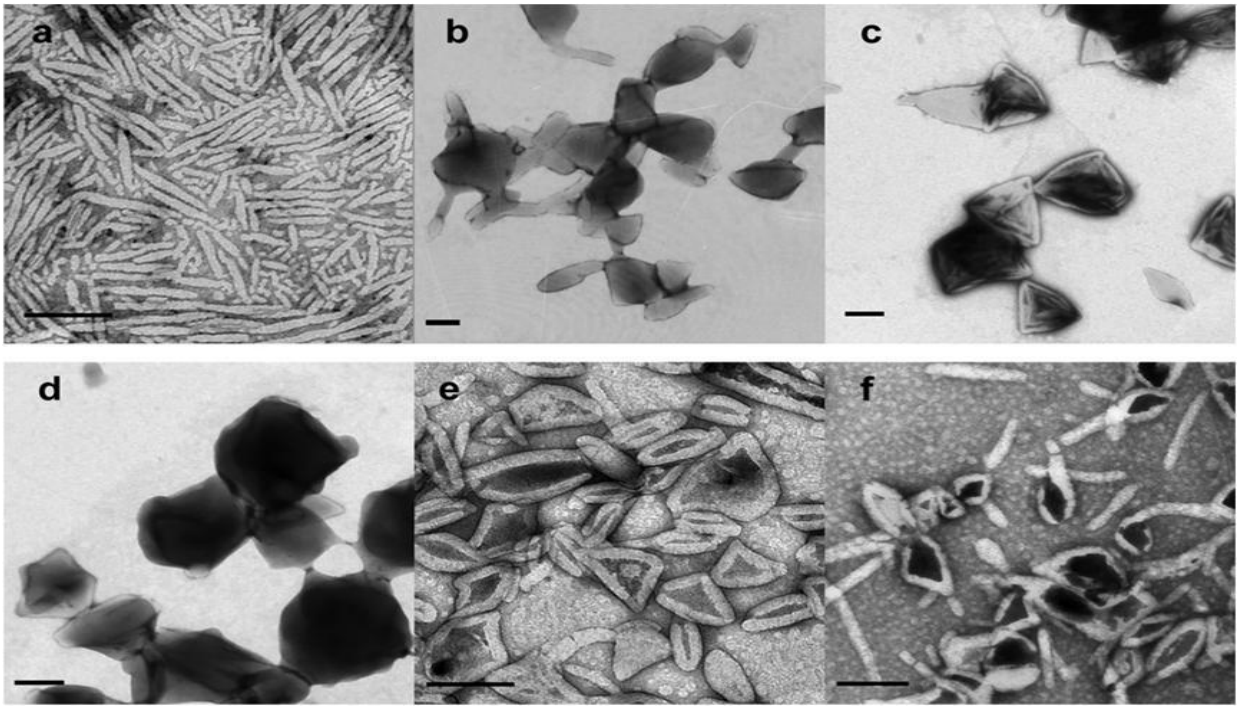


Figure I-29. Morphologies d'auto-organisations des PEG_{114}-b-$PAChol_m$ dans le système dioxane/eau, observées par MET (échelle = 200nm). (a) PEG_{114}-b-$PAChol_{20}$ (32/68), (b) PEG_{114}-b-$PAChol_{30}$ (24/76), (c) PEG_{114}-b-$PAChol_{37}$ (20/80), (d) PEG_{114}-b-$PAChol_{42}$ (18/82), (e) PEG_{114}-b-$PAChol_{50}$ (16/84), (f) PEG_{114}-b-$PAChol_{60}$ (14/86) [187].(ratio massique blocs hydrophile/hydrophobe donné entre parenthèses).

III.3.2.2 Influence de la technique de préparation

Le choix de la technique utilisée pour auto-organiser des copolymères amphiphiles est un paramètre très important qui influence la morphologie des objets obtenus. Il existe plusieurs procédés qui permettent l'obtention de polymersomes, mais la méthode co-solvant est sans doute la technique la plus utilisée actuellement (paragraphe I.2.4.4). Généralement, les auto-organisations de copolymères amphiphiles sont réalisées en solution aqueuse. Le choix du co-solvant (solvant commun des deux blocs hydrophobe et hydrophile ; miscible avec l'eau) est un facteur très important. Lors de leur étude sur l'auto-organisation des copolymères PEG_n-b-$PAChol_m$, Li et coll. ont étudié les morphologies de l'auto-organisation de ces copolymères dans l'eau à partir d'une solution THF ou dioxane [187]. Cette étude a révélé que le copolymère PEG_{45}-b-$PAChol_{10}$ s'auto-organise sous forme de vésicules sphériques (diamètre = 75 nm) lorsque le dioxane est utilisé comme co-solvant, alors que des microsphères solides (0,8 µm à 5 µm) sont observées avec le THF comme co-solvant (figures I-30a,b). Cependant, lorsque la longueur du bloc hydrophobe est plus importante (PEG_{45}-b-$PAChol_{44}$), des microsphères sont observées dans l'eau à partir du THF ou du dioxane (figures I-30c,d). La formation des microsphères solides à partir d'une solution de THF pour les deux copolymères a été justifiée par la grande solubilité des deux blocs (PEG et PAChol)

dans ce solvant. Cela implique des interactions THF/PAChol plus fortes que les interactions de nature cristal-liquide qui peuvent exister entre les deux groupements cholestérol. Pour inverser cette tendance et réussir à former des « auto-assemblages », il faudrait utiliser une grande quantité d'eau. Malheureusement, un large excès d'eau accélère le processus de précipitation du copolymère d'où la formation de microsphères solides. Ces microsphères sont tout simplement des agrégats complexes. En revanche, le bloc hydrophobe PAChol est moins soluble dans le dioxane que dans le THF. Dans ce cas les interactions qui existent entres deux groupements mésogènes (PAChol/PAChol) sont majoritaires par rapport aux interactions PAChol/dioxane. Aussi, lorsque le bloc hydrophobe est de faible longueur (PEG_{45}-b-$PAChol_{10}$), des auto-organisations de morphologie vésiculaire peuvent se former. Cependant, l'augmentation de la longueur du bloc hydrophobe (PEG_{45}-b-$PAChol_{44}$) limite cette possibilité d'auto-organisation, d'où la formation des microsphères solides.

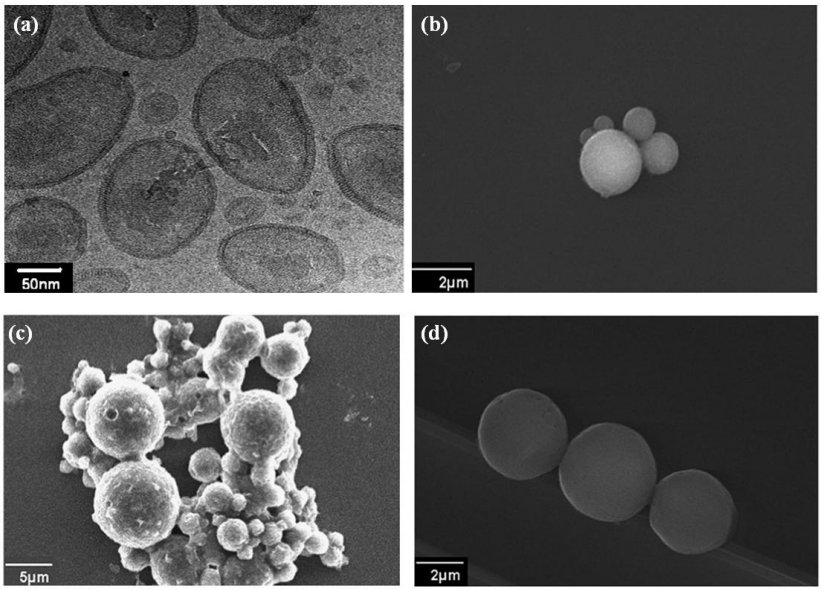


Figure I-30. Morphologies des auto-organisations du copolymère PEG_{45}-b-$PAChol_{10}$ obtenues dans le système (a) dioxane/eau (image obtenue par cryo-MET), (b) THF/eau (image obtenue par SEM) et du copolymère PEG_{45}-b-$PAChol_{44}$ obtenues dans le système (c) dioxane/eau (image obtenue par SEM) et (d) THF/eau (image obtenue par SEM) [187].

Récemment, l'équipe de Bernadette Charleux [180] a développé une technique innovante qui permet en une seule étape de synthétiser et faire auto-assembler un copolymère amphiphile [poly(acide acrylique)-co-poly(éthylène glycol)]-b-poly(acryloyloxy tétraéthylène glycol carbonate et cholestéryle)] (PAA-co-PEGA)-b-P(Chol-TEGA)) (figure I-27f). Ce copolymère est obtenu par polymérisation radicalaire par désactivation réversible de type RAFT d'un monomère (Chol-TEGA) ayant des propriétés mésogènes. La polymérisation est

controlée par un macro-agent de transfert RAFT (PAA-co-PEGA) solubilisé dans un mélange Ethanol/Eau (95/5, v/v). Ce mélange permet de solubiliser le monomère et le macro-agent RAFT hydrophile PAA-co-PEGA. Mais avec l'avancement de la polymérisation, le bloc hydrophobe devient de plus en plus insoluble dans ce mélange, ce qui provoque l'auto-organisation du copolymère dibloc sous forme de filaments dont le diamètre augmente avec la croissance du bloc hydrophobe (figure I-31) [180].

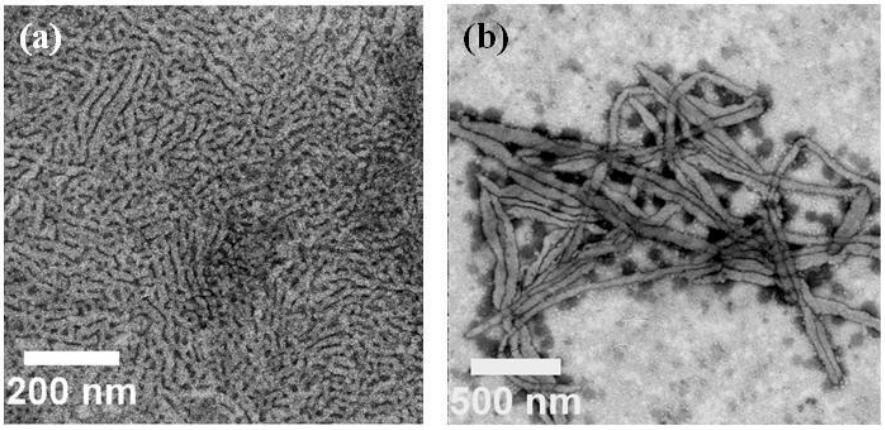


Figure I-31. Images MET de l'auto-organisation des copolymères (PAA-co-PEGA)-b-P(Chol-TEGA préparés par polymérisation RAFT dans un milieu dispersé Ethanol/Eau (95/5, v/v). Les copolymères présentent différentes longueurs du bloc hydrophobe : (a) $\overline{X_n}$=20, (b) $\overline{X_n}$=86 [180].

Selon cette étude bibliographique, il semble que l'étude de l'auto-organisation des copolymères amphiphiles porteurs de groupements mésogènes, et en particulier le cholestérol, n'est pas un exercice facile. Plusieurs paramètres semblent être en jeu pour favoriser l'apparition d'une morphologie spécifique au détriment des autres. Comme nous l'avons mentionné dans l'introduction générale de ce manuscrit, l'objectif général de ce doctorat est la formulation de polymersomes à partir d'un glycopolymère greffé constitué d'un tronc hydrophile dextrane (polysaccharide hydrophile naturel) et de greffons hydrophobes mésogènes obtenus par polymérisation d'un monomère cholestérique. Le prochain chapitre de cette partie bibliographique présentera dans un premier temps les polysaccharides d'une manière générale et le dextrane en particulier. Dans un deuxième temps, nous nous intéresserons aux différentes stratégies de synthèse des glycopolymères et à leurs auto-organisations en solution.

IV. LES POLYSACCHARIDES ET LES GLYCOPOLYMERES

IV.1 LES POLYSACHARIDES

IV.1.1 Généralités

Les polysaccharides appartiennent aux trois grandes familles de polymères naturels présents dans les organismes vivants, végétaux, animaux et bactériens. Les deux autres familles sont les acides nucléiques et les protéines (figure I-32). Ce sont des substances vitales et indispensables pour le bon fonctionnement des organismes (sources d'énergie, matériaux constrictifs et structurels,…) [190].

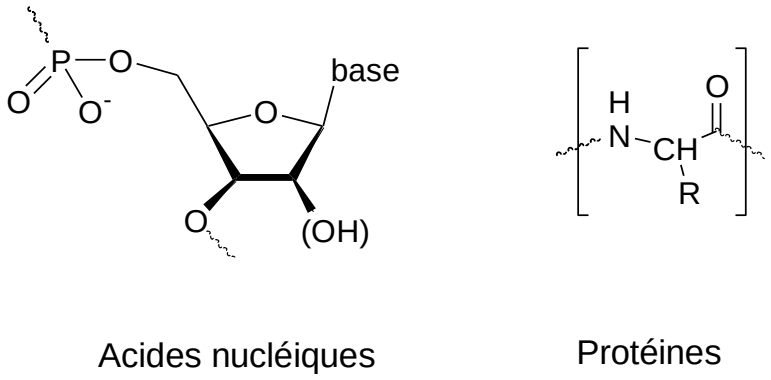


Figure I- 32. Structures des unités de répétition des acides nucléiques et protéines.

Les polysaccharides sont des macromolécules formées à partir des monosaccharides (glucose, mannose, fructose,...) sous leur forme cyclique liés entre eux par des liaisons glycosidiques. Ils présentent une grande diversité de structure (linéaire comme le pullulane, le chitosane ou cyclique comme la cyclodextrine), aussi bien en termes de nature chimique des unités oses que de leur type d'enchaînement, de la longueur des chaînes, du taux de ramification et des charges de surface. Le dextrane est un polysaccharide neutre alors que la pectine ou l'alginate (sel de l'acide algénique) sont chargés négativement. Le chitosane présente quant à lui des ammoniums [191,192]. Ils sont extraits souvent de diverses sources naturelles : algues pour l'aginate ou le carraghénane, végétaux pour la cellulose, la pectine ou la gomme de guar, ou encore espèces vivantes pour l'acide hyaluronique, le sulfate de chondröitine et l'héparine. Ils peuvent être également produits par des microorganismes. C'est le cas du dextrane et du xanthane par exemple. La figure I-33 regroupe quelques exemples de polysaccharides.

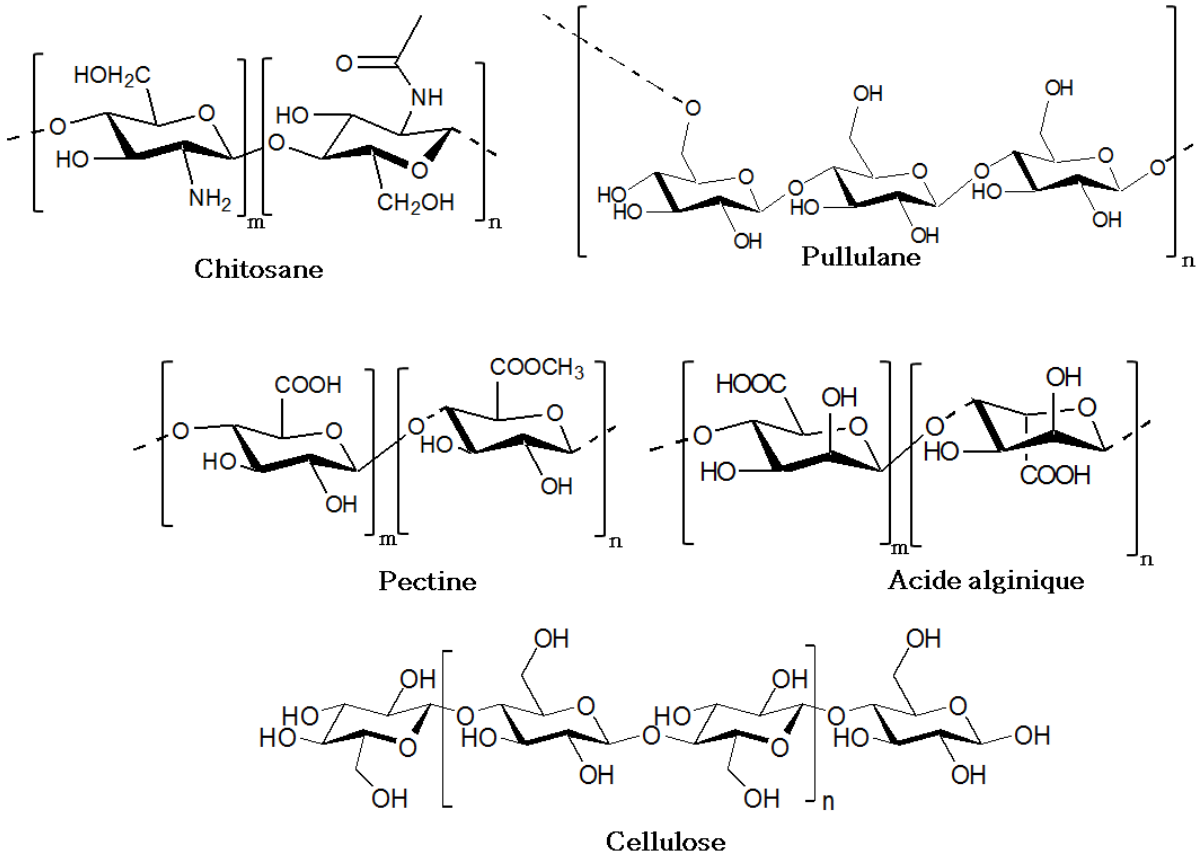


Figure I- 33. Structures chimiques de quelques polysaccharides.

Les polysaccharides sont largement utilisés dans l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique, grâce à leurs propriétés rhéologiques, thérapeutiques ou biologiques très intéressantes ; ainsi que leur stabilité chimique et leur faible coût d'extraction. La présence de plusieurs sites réactifs sur leur dorsale, le plus souvent des fonction hydroxyle, offre la possibilité d'introduire une grande variété de fonctions et de substances chimiques ce qui permet d'améliorer leurs propriétés physico-chimiques, mécaniques, optiques ou biologiques [190,193]. Dans le corps humain, les polysaccarides jouent un rôle crucial dans plusieurs processus physiologiques tels que la régulation de la coagulation sanguine et le bon fonctionnement des cytokines* [194,195]. Certains ont également des propriétés anticancéreuses très intéressantes [196].

La biocompatibilité, biodégradabilité et le caractère hydrophile des polysaccharides en font des candidats de choix pour la vectorisation des principes actifs [192,197]. Ainsi, plusieurs études semblent montrer que la décoration de la surface des vecteurs de principes actifs par certains polysaccharides peut empêcher l'adsorption des protéines avec une efficacité comparable à celle obtenue par le poly(éthylène glycol) ; ce qui permet aux vecteurs

* Substances solubles ayant un rôle de signalisation cellulaire agissant à distance sur d'autres cellules pour en réguler l'activité et la fonction.

d'échapper à la capture par les macrophages [192,198,199] et ainsi d'augmenter leur temps de persistance dans le flux sanguin.

IV.1.2 Le dextrane

IV.1.2.1 Structure et biosynthèse

Les dextranes sont des polysaccharides neutres obtenus essentiellement par voie bactérienne. Ce sont des polymères principalement linéaires constitués par un enchaînement d'unités glucopyranose liées majoritairement entre elles en position α (1→6). Parfois les chaînes présentent des ramifications en positions α (1→2), α (1→3) et/ou α (1→4) (figure I-34) [200], dont le taux et la position varient selon la souche productrice (tableau I-2). La bactérie « *Leuconostoc Mesenteroïdes* », et plus précisément la souche « *Lm* NRRL-B 512F », est le microorganisme le plus employé pour la production commerciale actuelle du dextrane à partir du saccharose. Le dextrane obtenu à l'aide de cette souche contient généralement 95% de liaison α (1→6) dans la chaîne principale et moins de 5% de branchements en α (1→3) [201–203].

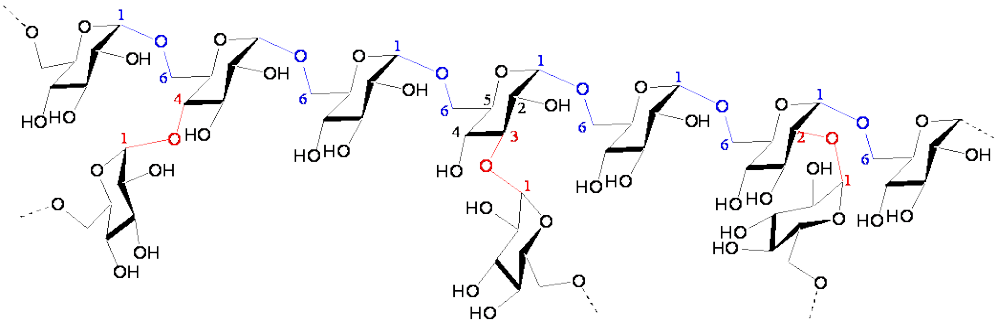


Figure I-34. Structure chimique du dextrane. Les unités glucopyranose sont majoritairement liées par des liaisons glycosidiques α (1→6) avec la présence de quelques branchements en α (1→2), α (1→3) et α (1→4) selon la souche bactérienne. Dans la suite du manuscrit, on ne considèrera que les liaisons α (1→6).

Il existe cependant d'autres souches bactériennes comme « *Lm* NRRL B-1299 », « *Lm* NRRL B-742 » ou encore des streptocoques tels que « S. mutans 6715 » qui sont également capables de produire le dextrane à partir du saccharose. D'autres souches comme les « *Gluconobacter oxydans* » le fabriquent à partir de la maltodextrine (DP supérieur à 3 unités glucose) [204]. Notons que la souche « *Lm* NRRL B-1299 » a la faculté de produire un

dextrane composé d'environ 30 % de liaisons α (1 →2) qui sont rarement rencontrées dans la nature et qui confèrent à ces dextranes une activité prébiotique incontestable[†200,203].

Tableau I-2 Pourcentage des liaisons glycosidiques dans les dextranes et leur solubilité dans l'eau en fonction de la bactérie productrice [200]. (+) = soluble ; (-) = insoluble.

Souche bactérienne	Solubilité dans l'eau	Pourcentage de ramification			
		α (1→6)	α (1→2)	α (1→3)	α (1→4)
Lm NRRL B-512F	+	95		5	
Lm NRRL B-1355 fraction 1	+	54		46	
Lm NRRL B-1355 fraction 2	-	95		5	
Lm NRRL B-1299 fraction 1	+	68	29	3	
Lm NRRL B-1299 fraction 2	-	63	27	8	
Lm NRRL B-742 fraction 1	+	50		50	
Lm NRRL B-742 fraction 2	-	87			13
S mutans 6715 fraction 1	+	64		36	
S mutans 6715 fraction 2	-	4		96	
S mutans GS5	+	70		30	
S downei	+	90		10	

Le dextrane actuellement commercialisé est produit par une simple fermentation du saccharose à l'aide de la souche *Lm* NRRL-B 512F puis récupéré du milieu de fermentation par précipitation alcoolique ou par ultrafiltration [202]. Le dextrane obtenu, dit « natif », est généralement très disperse avec de grandes masses molaires allant de 10^6 et à 10^9 g/mol. Le procédé classique utilisé pour contrôler la taille des chaînes du dextrane est basé sur une hydrolyse acide du dextrane natif suivie de fractionnements successifs à l'aide de solvants organiques. Plusieurs entreprises internationales telles que *Polydex Pharmaceuticals Limited* au Canada, *Pharmachem Corp, Bethlem, Pennsylvania* aux USA et *Pharmacosmos* au Danemark continuent à utiliser ce procédé bactérien malgré divers inconvénients tels que le coût très élevé, le faible rendement (10 à 12% suite aux pertes lors du fractionnement) et la toxicité des solvants organiques utilisés. Une solution alternative a été proposée en 1958 par *Novak et Stoykos* (brevet N° *US 2,841,578*) basée sur l'hydrolyse enzymatique des dextranes natifs par la dextranase, enzyme coupant spécifiquement des liaisons α (1→6) et présente dans les organes du système phagocytes mononuclés (le foie, la rate et les reins). Depuis, ce procédé a fait l'objet de nombreuses études et publications [205–209] bien qu'il ne soit pas encore exploité à l'échelle industrielle.

[†] Un prébiotique est un composé alimentaire non digestible qui affecte l'hôte de façon bénéfique en stimulant de façon sélective la croissance et/ou l'activité d'une ou plusieurs espèces bactériennes dans le côlon.

IV.1.2.2 Propriétés physico-chimiques

Le dextrane est un polymère neutre très hydrophile, soluble dans l'eau et dans quelques solvants organiques polaires tels que le diméthylsulfoxyde (DMSO), le formamide, l'éthylène glycol ou le glycérol. Il est soluble également dans des mélanges de solvants comme le *N,N'*-diméthylacétamide (DMAc) ou *N,N'*-diméthylformamide (DMF) en présence de sels tel que le chlorure de lithium (LiCl). C'est un composé amorphe, de réactivité modérée et stable en dehors des conditions extrêmes de pH (pH<2 et à pH ≈14). En revanche, et grâce à la présence de nombreuses fonctions hydroxyle secondaires facilement accessibles, il est modifiable par de nombreuses fonctions chimiques. Les dextranes de hautes masses molaires adoptent une conformation de type pelote statistique « coil » [210,211].

IV.1.2.3 Applications biomédicales

Depuis sa commercialisation à la fin de la seconde guerre mondiale, l'utilisation du dextrane dans le domaine biomédical n'a cessé de croître. Ainsi, les dextranes dits « cliniques », dont la masse molaire ($\overline{M_w}$) varie entre 40 000 et 100 000 g/mol , sont utilisés depuis plus que 60 ans comme substituts du plasma sanguin [212,213] grâce à leurs faibles propriétés d'antigéniques [‡], leur haute hémocompatibilité et leur effet antithrombotique [§]. A l'opposé, les dextranes de plus faibles masses molaires sont rapidement éliminés de l'organisme par les reins et donc inefficaces d'un point de vue thérapeutique. Les dextranes de plus grandes masses molaires peuvent quant à eux être dangereux car ils peuvent interférer avec le processus de coagulation sanguine [214]. Totalement biocompatible, le dextrane est également biodégradable. En effet, sous l'action de dextranase, il se dégrade entièrement en glucose puis s'hydrolyse en CO_2 et en H_2O.

Le dextrane a aussi la faculté de complexer certains métaux. Ainsi, dans le cas d'une anémie profonde et lorsque les suppléments en fer par voie orale sont insuffisants les dextranes de petites tailles ($\overline{M_w}$ de 1000 à 10 000 g/mol) peuvent être utilisés pour complexer le fer et le transporter après injection intraveineuse.

Grâce à la présence de ses nombreuses fonctions hydroxyle, le dextrane peut aussi se lier de façon covalents avec d'autres molécules et former des dérivés chimiques de hautes valeurs thérapeutiques. C'est le cas par exemple des dextrane-sulfates, qui sont utilisés pour

---

[‡] Un antigène est une macromolécule naturelle ou synthétique, reconnue par des anticorps ou des cellules du système immunitaire et capable d'engendrer une réponse immunitaire.

[§] Substance qui lutte contre la formation de thrombose (caillot dans le sang).

leurs propriétés anticoagulantes proches de celles de l'héparine[**] et qui participent à la formulation de médicaments contre l'artériosclérose [††, 215]. Ces dérivés de dextrane ont également fait l'objet de plusieurs brevets grâce à leurs propriétés antivirales [‡‡, 216] et anti-inflammatoires [217].

Actuellement, le dextrane est largement utilisé pour transporter des principes actifs sous forme de prodrogues (figure I-35). En effet, grâce à sa résistance mécanique au cisaillement causé par le flux sanguin, et à son caractère hydrophile, le dextrane augmente la demi-vie du principe actif en le conduisant jusqu'à la cellule cible [218]. C'est le cas par exemple du *Prednisolone* [§§] qui est injecté sous sa forme conjuguée avec le dextrane à l'aide de l'acide succinique [219]. Le *FK-506*, connu également sous le nom *Tacrolimus*[***], peut avoir de nombreux effets indésirables sur l'organisme et notamment à l'origine d'une toxicité rénale [220,221]. L'association du FK-506 avec le dextrane a permis d'éliminer ces effets secondaires et d'améliorer considérablement ses propriétés pharmacocinétiques [222]. Le dextrane est également utilisé pour véhiculer des agents non-stéroïdiens, antipyrétiques[†††], analgésiques et anti-inflammatoires tels que le *Flubiprofène* ou le S*uprofène* [223], ou encore pour administrer des principes actifs anticancéreux comme les dérivés de la *camptothécine (T-2513)* [224] ou le *Méthotrexate* [225].

[**] Molécule qui fait partie des glycosaminoglycanes (GAG). Les oses constitutifs de l'héparine sont la glucosamine et des acides uroniques.

[††] Maladie qui se manifeste par un durcissement et un épaississement des artères, ayant pour conséquence une perte de leur élasticité.

[‡‡] Un antiviral désigne une molécule perturbant le cycle de réplication d'un ou de plusieurs virus, permettant ainsi de ralentir, mais rarement d'arrêter, une infection virale.

[§§] Principe actif appartenant à la famille des corticostéroïdes largement utilisé dans le cas des maladies inflammatoires et auto-immunes telles que l'asthme.

[***] Principe actif immunosuppresseur utilisé principalement lors des transplantations d'organes pour la prévention du rejet des allogreffes et en dermatologie.

[†††] Les antipyrétiques sont des médicaments non-stéroïdiens dont le rôle est de combattre la fièvre.

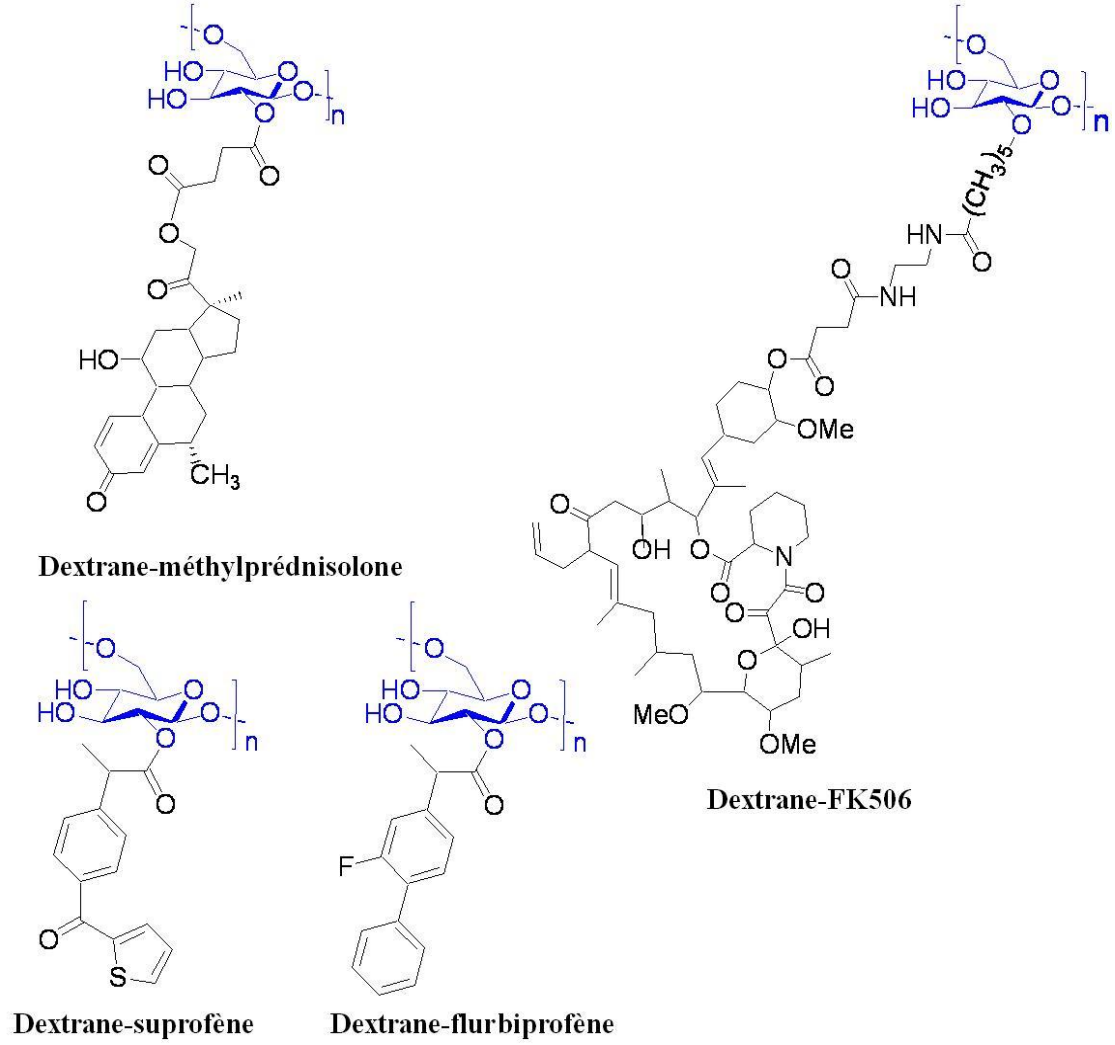


Figure I-35. Exemples de quelques principes actifs conjugués avec le dextrane (prodrogues).

IV.2 LES GLYCOPOLYMERES

IV.2.1 Notion de glycopolymères

Depuis plusieurs années, de nombreux chercheurs s'intéressent aux propriétés particulières des molécules contenant une partie saccharide. Ces composés sont connus sous l'appellation de « glycoconjugués » tels que les glycoprotéines et les glycolipides [226]. L'intérêt des glycoconjugués provient de la présence des parties sucres dans leur structure chimique car ces dernières jouent un rôle crucial dans plusieurs processus biologiques tels que l'inflammation, la fertilisation, la communication et la transmission des signaux intercellulaires [227,228]. Les lectines par exemple sont des protéines porteuses d'un ou plusieurs groupements oligosaccharides capables d'interagir spécifiquement avec des saccharides présents à la surface des cellules animales [226,229,230].

Grâce au développement des techniques de polymérisations permettant l'élaboration des composés aux architectures contrôlées, un nouvel axe de recherche est né dans les années 1990. Celui-ci consiste à produire des copolymères analogues aux glycoconjugués, en associant des polymères synthétiques à des parties sucres [231,232]. Le nombre des publications liées à ces matériaux ne cesse de croître comme le montrent les statistiques réalisées à l'aide de SciFinder (figure I-36). Les structures de ces glycopolymères ont progressivement évolué de façon à répondre de plus en plus aux besoins pharmacologiques nécessaires pour la vectorisation de principes actifs. Actuellement, ils font partie des composés incontournables dans la formulation des vecteurs de molécules actives [191–193,218,226,233–238].

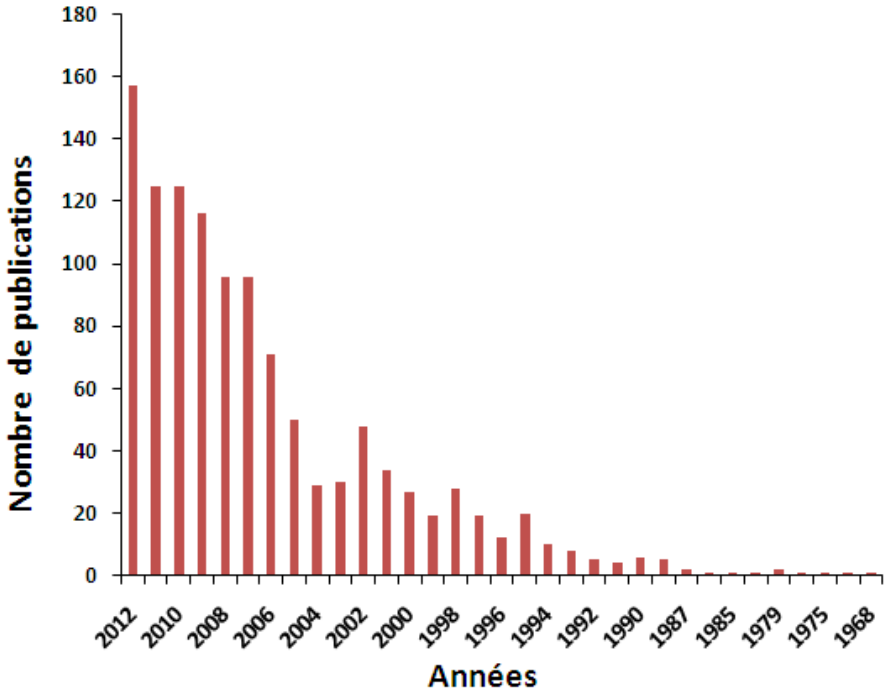


Figure I-36. Evolution du nombre des publications focalisées sur les glycopolymères entre 1968 et 2012.

Néanmoins, la définition du terme « glycopolymère » fait débat au sein de la communauté scientifique. Okoda [231] et Haddleton [232] considèrent que les « glycopolymères » sont des polymères synthétiques incluant une partie sucre, oligo ou polysaccharides naturels tels que la cellulose ou la chitine. Une définition plus étroite fait référence aux polymères synthétiques dotés d'unités sucres ayant une activité biologique spécifique, tout comme celles présentes sur les glycoconjugués.

Dans notre étude, et pour éviter toute ambigüité ou confusion, nous adopterons la définition de « glycopolymères » au sens large rassemblant la totalité des polymères synthétiques contenant des unités saccharide ou une partie (oligo)polysaccharide, qu'elles

présentent une fonction biologique ou non [239]. Cette définition inclut non seulement les macromolécules d'architecture linéaires à blocs, mais aussi les copolymères greffées ou en étoiles.

IV.2.2 Synthèse de glycopolymères

Ces copolymères peuvent être préparés principalement via quatre voies de synthèses :

i) Polymérisation de glycomonomères qui sont des monomères contenant un groupement saccharide et une fonction polymérisable généralement séparés par un bras espaceur. Un large panel de glycomonomères a été polymérisé à l'aide de différentes techniques de polymérisations [226,230–232,238,240] telles que : la polymérisation radicalaire conventionnelle, la polymérisation anionique vivante, la polymérisation par ouverture du cycle, la polymérisation par ouverture de cycle par métathèse, la polymérisations radicalaires contrôlées (ATRP, RAFT, NMP) et la Polymérisation enzymatique. La figure I-37 montre de façon non-exhaustive la grande diversité des glycomonomères commerciaux ou synthétiques.

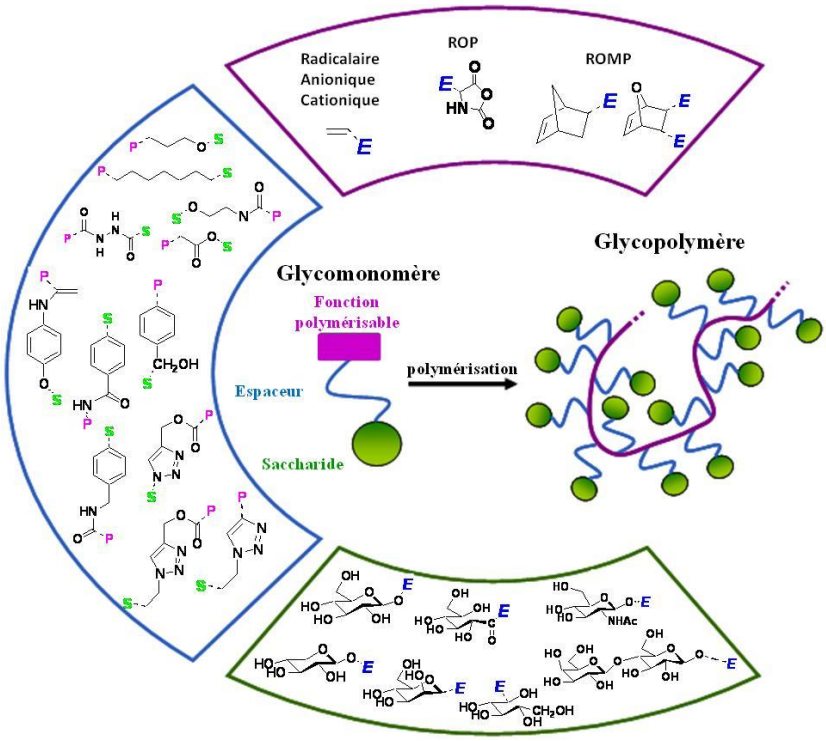


Figure I-37. Structures chimiques de quelques glycomonomères étudiés dans la littérature [241].

ii) Polymérisation enzymatique d'oses cycliques à partir d'un macroamorceur (oligosaccharide) porteur d'un bloc de polymère synthétique. L'intérêt de cette voie de synthèse réside dans la stéréo- et la régiosélectivité des catalyseurs enzymatiques employés, permettant la formation des liaisons glycosidiques dans des conditions douces [242,243]. Ainsi, la

polymérisation enzymatique suit un mécanisme analogue à celui d'une polymérisation anionique vivante, ce qui permet de préparer des polymères avec une distribution massique étroite. Notons que l'oligosaccharide initial doit posséder une longueur de chaîne minimale pour qu'il puisse être reconnu par le catalyseur enzymatique. Toutefois, ce procédé de synthèse est très peu exploité vu le prix élevé des catalyseurs enzymatiques. Le schéma I-3 montre un exemple illustrant l'élaboration d'un glycopolymère via cette voie. Le glycopolymère tribloc amylose-b-poly(éthylène glycole)-b-amylose, a été synthétisé par polymérisation enzymatique du α-D-glucose-1-phosphate (G-1-P) à partir du macroamorceur maltooligomère-b-poly(éthylène glycole)-b-maltooligomère) en présence de l'enzyme potato phosphorylase [244].

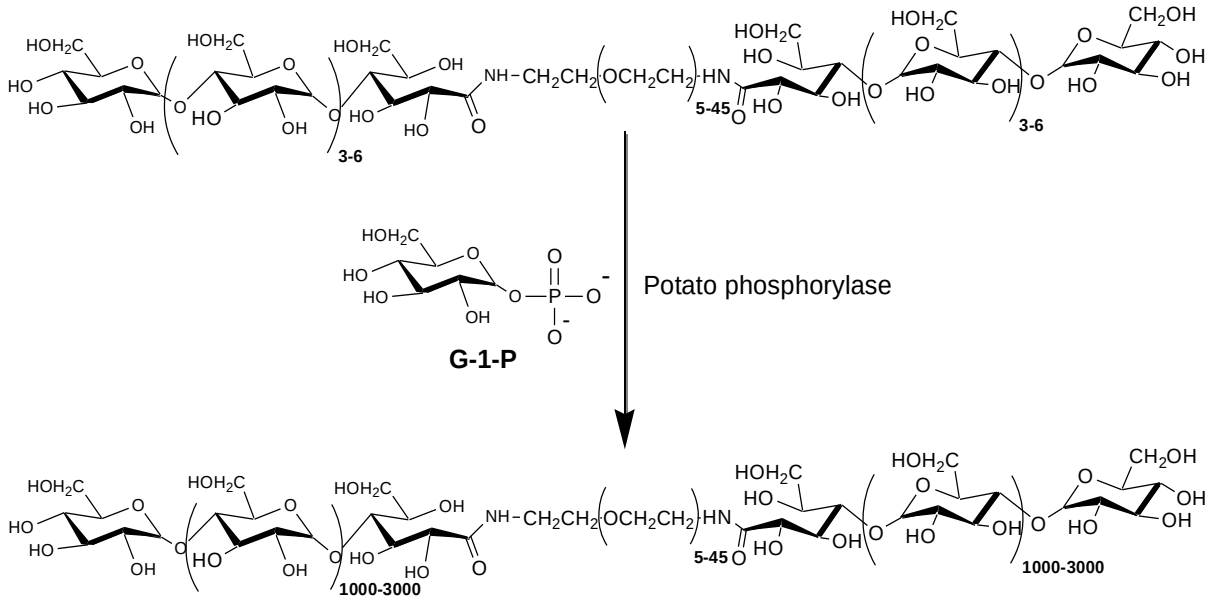


Schéma I-3 Synthèse du glycopolymère tribloc amylose-b-poly(éthylène glycol)-b-amylose par polymérisation enzymatique du α-D-glucose-1-phosphate (G-1-P) en présence de l'enzyme potato phosphorylase.

iii) Couplage d'unités saccharides ou polysaccharides et d'un polymère synthétique préalablement préparé [230,237,238,245]. Il existe différentes techniques pour réaliser ce couplage. Selon le schéma synthétique employé, des glycopolymères à blocs ou greffés seront obtenus. Les plus utilisées sont le couplage par un lien amide ou ester (Schémas I-4a,b,c,d). Mais, de nouvelles stratégies de couplage efficace ont été développées ces dernières années et sont intitulées « chimie click » [246] (Schémas I-4e,f). Parmi les différentes réactions de chimie click, on peut citer la cycloaddition d'une fonction azide et d'une fonction alcyne en présence d'un catalyseur métallique à base de Cu(I) et un ligand azoté [246]. Cette technique a permis par exemple à Haddleton et coll. [247] de préparer plusieurs glycopolymères d'une manière simple et rapide. Cette chimie-click a récemment été employée au LCPM pour produire des dextrane-

g-poly(acide lactique) [248]. Une autre technique homologue, a récemment attiré l'attention de quelques chercheurs ces dernières années. Son principe est basé sur une réaction d'une fonction thiol sur un alcène (click thiol-ène Schéma I-4g). On trouve également la réaction thiol-yne click (thiol + alcyne) dans la littérature. Cependant, malgré la simplicité et l'efficacité de la méthode click thiol-ène, elle reste encore peu exploitée pour la synthèse des glycopolymères [249,250].

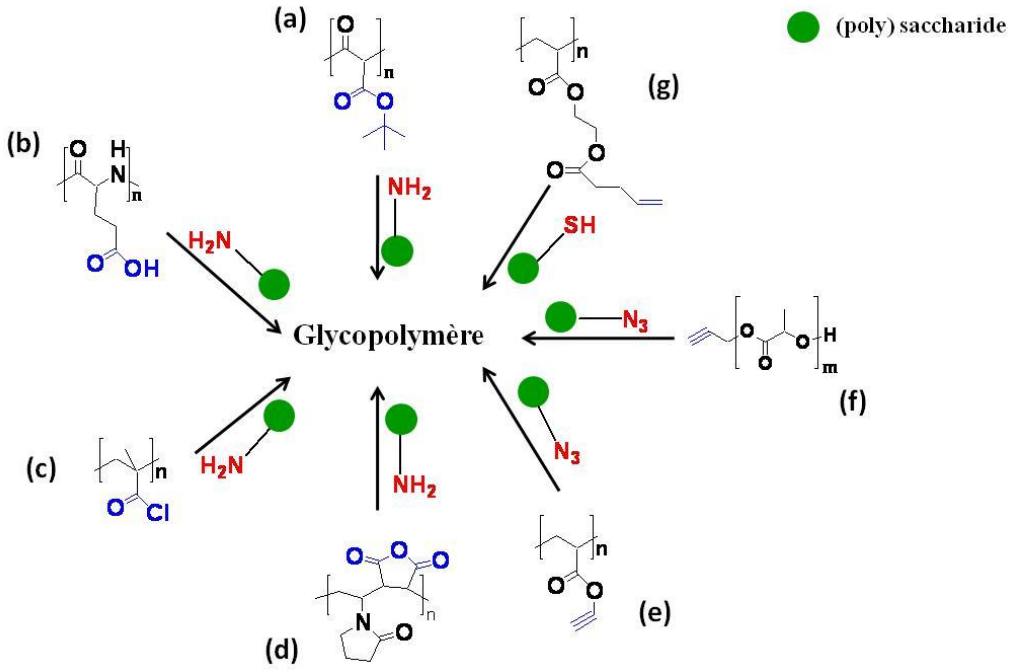


Schéma I-4 Exemples de glycopolymères préparés par (a, b, c, d) couplage amide, (e, f) chimie click et (g) click thiol-ène.

iv) Polymérisation de monomères à partir d'un macroamorceur à base de polysaccharide naturel [237,251,252]. Là encore si le polysaccharide ne porte qu'un seul site amorceur terminal, des glycopolymères dibloc seront produits, alors que des glycopolymères greffés seront obtenus lorsque le polysaccharide portera plusieurs sites amorceurs répartis sur sa chaîne. Ainsi, l'architecture du glycopolymère final va dépendre de la nature et de la fonctionnalité du macroamorceur utilisé. Si la polymérisation RAFT est envisagée, en utilisera alors un macro-agent de transfert RAFT dérivé du polysaccharide. Le paragraphe suivant fera l'objet d'une étude détaillée de ces deux dernières voies de synthèse de glycopolymères à partir des polysaccharides naturels.

IV.2.3 Glycopolymères à base de polysaccharides naturels

Dans cette partie, nous présenterons un aperçu général sur les différentes techniques d'élaboration des glycopolymères d'architectures différentes (à blocs ou greffés), obtenus à partir des polysaccharides naturels. Les glycopolymères à base de (mono)oligosaccharides ne seront pas abordés.

Comme décrit précédemment, beaucoup de polysaccharides natifs sont hydrosolubles et insolubles dans la plupart des solvants organiques sauf quelques exceptions telles que le DMSO, le DMF/LiCl ou le DMAc/LiCl. Très souvent, cette solubilité restreint le choix des solvants de synthèse. Ceci est d'autant plus vrai dans le cas des glycopolymères possédant un bloc ou des greffons synthétiques fortement hydrophobes. Une des solutions proposées est alors de protéger partiellement les fonctions hydroxyle du polysaccharide natif par des fonctions protectrices comme les fonctions éther [253] ou ester [239]..., qui hydrophobisent le polysaccharide et le rendent soluble dans les solvants organiques.

IV.2.3.1 Glycopolymères à blocs

Les glycopolymères à blocs sont des copolymères composés d'un bloc polysaccharide et d'un bloc polymère synthétique. Si la littérature compte de nombreuses publications liées aux glycopolymères greffés, les travaux sur les glycopolymères à blocs sont moins fréquents. Le nombre relativement peu élevé de publications sur les glycopolymères à blocs est probablement lié au besoin de modifier spécifiquement l'unité terminale du polysaccharide. De plus, la mauvaise solubilité de la plupart des polysaccharides dans les solvants organiques rend l'accessibilité à cette unité terminale encore plus complexe. Malgré ces difficultés, certains groupes de recherche se sont intéressés à la préparation de tels glycopolymères à blocs [237]. Il existe deux principales méthodes pour obtenir ces structures à blocs à partir des polysaccharides naturels. Elles sont présentées dans le Schéma I-5 :

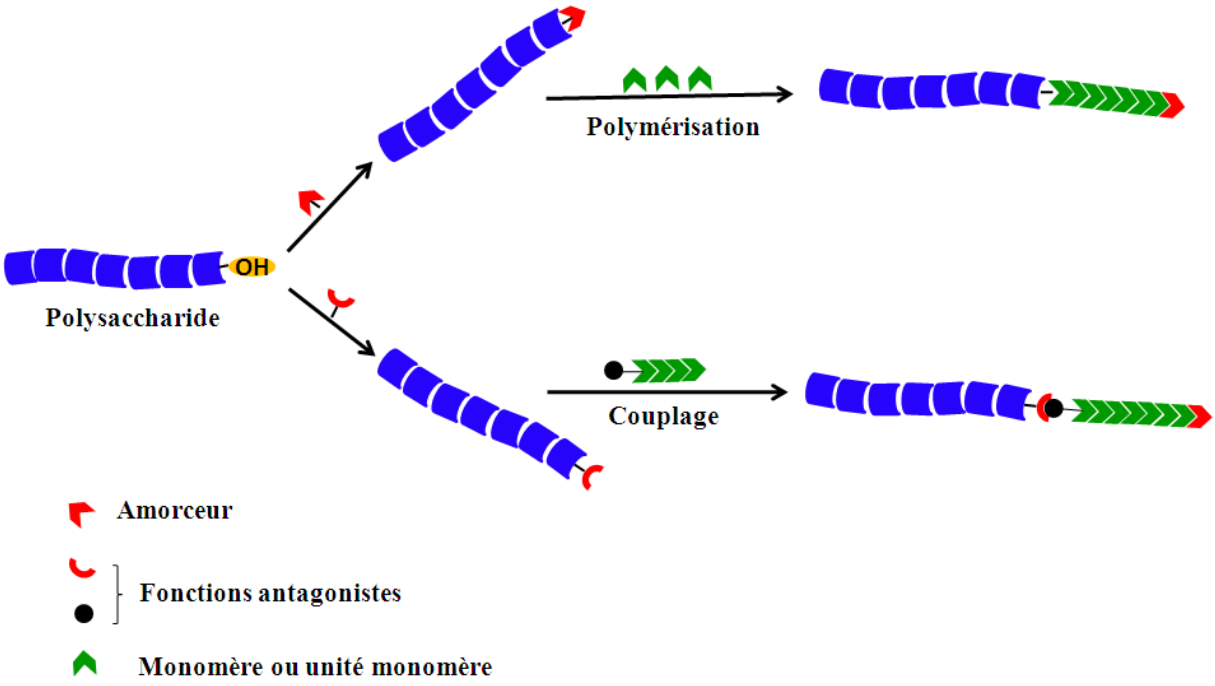


Schéma I-5. Stratégies de synthèse de glycopolymères à blocs à partir d'un polysaccharide naturel.

i) La première méthode consiste à polymériser un monomère à partir d'un macroamorceur. Ce dernier est obtenu par modification de l'extrémité réductrice du polysaccharide par une fonction permettant d'amorcer la polymérisation. L'introduction du groupe amorceur s'effectue le plus souvent par amination réductrice en utilisant la réactivité spécifique de l'alcool terminal dit réducteur. Lors de cette réaction, le cyanoborohydrure de sodium ($NaBH_3CN$) est souvent employé pour réduire l'imine formée lors de l'amination (schéma I-6) [237]. Il faut cependant remarquer que peu de glycopolymères diblocs ont été préparés selon cette voie de synthèse. Le schéma I-7a montre un exemple de dextrane-b-PS réalisé par ATRP en solution homogène. Dans cet exemple, Houga et al. [254] ont réalisé la synthèse du glycopolymère en quatre étapes. Dans un premier lieu, la fonction 2-bromoisobutanoate a été introduite à l'extrémité réductrice terminale du dextrane natif par amination réductrice, puis les fonctions hydroxyle latérales du dextrane ont été protégées par silylation pour permettre au dérivé dextrane de se solubiliser dans le toluène et pouvoir effectuer l'ATRP du styrène en milieu homogène. Finalement, après ATRP, les fonctions hydroxyle ont été déprotégées en milieu acide. Le glycopolymère cellulose-b-PS a également été obtenu par ATRP [255]. D'autres monomères ont aussi été polymérisés à partir du dextrane tels que des lactames par Polymérisation par ouverture de cycle (POC) [256,257] et l'acétate de vinyle par polymérisation RAFT [258].

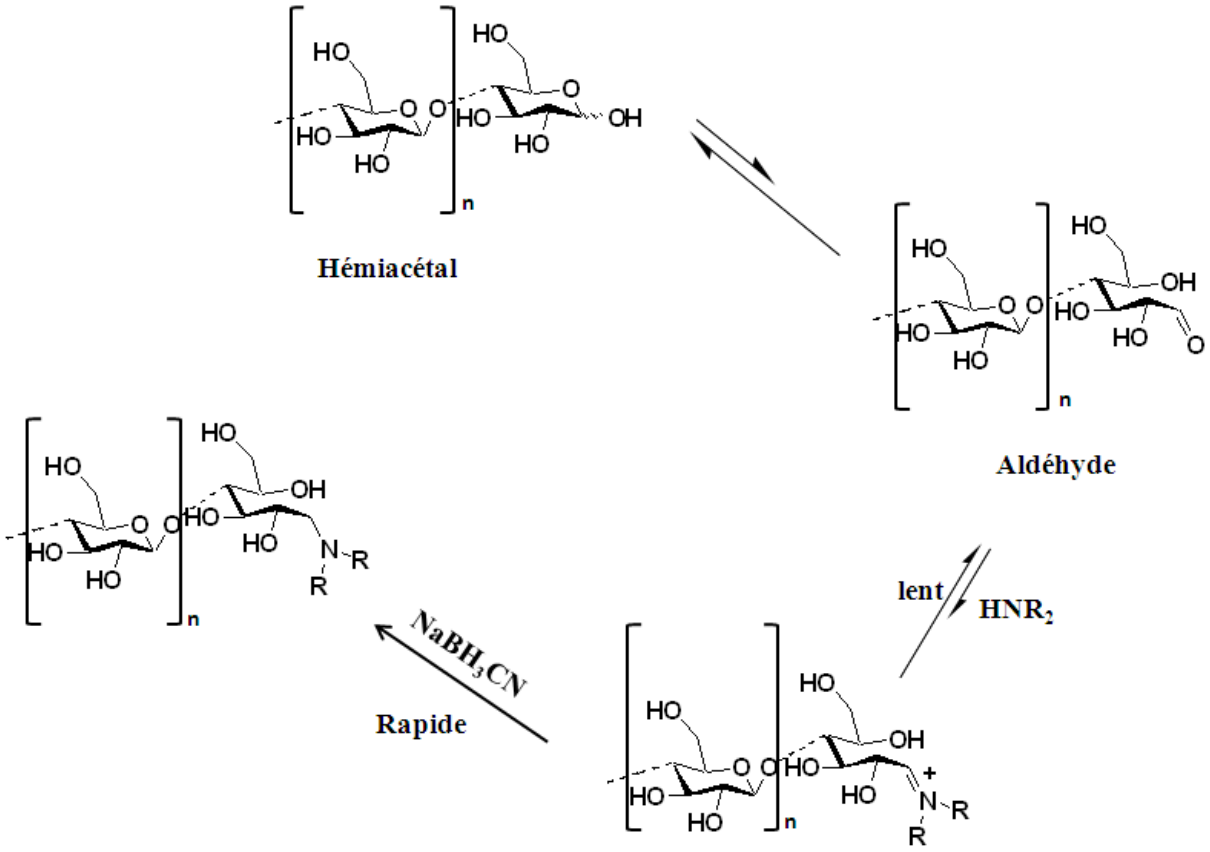


Schéma I-6 Mécanisme d'amination réductrice de l'unité terminale d'un polysaccharide [237] **.**

ii) La deuxième méthode de synthèse est basée sur le couplage du polysaccharide et d'un polymère préalablement préparé. Le couplage peut être effectué par amination réductrice [259,260], par amidification [261], ou par réaction de Huisgen [262–265] après avoir introduit une fonction alcyne à l'extrémité réductrice du polysaccharide. Les schémas I-7b,c montrent quelques exemples de glycopolymères à base de dextrane obtenus ainsi par couplage.

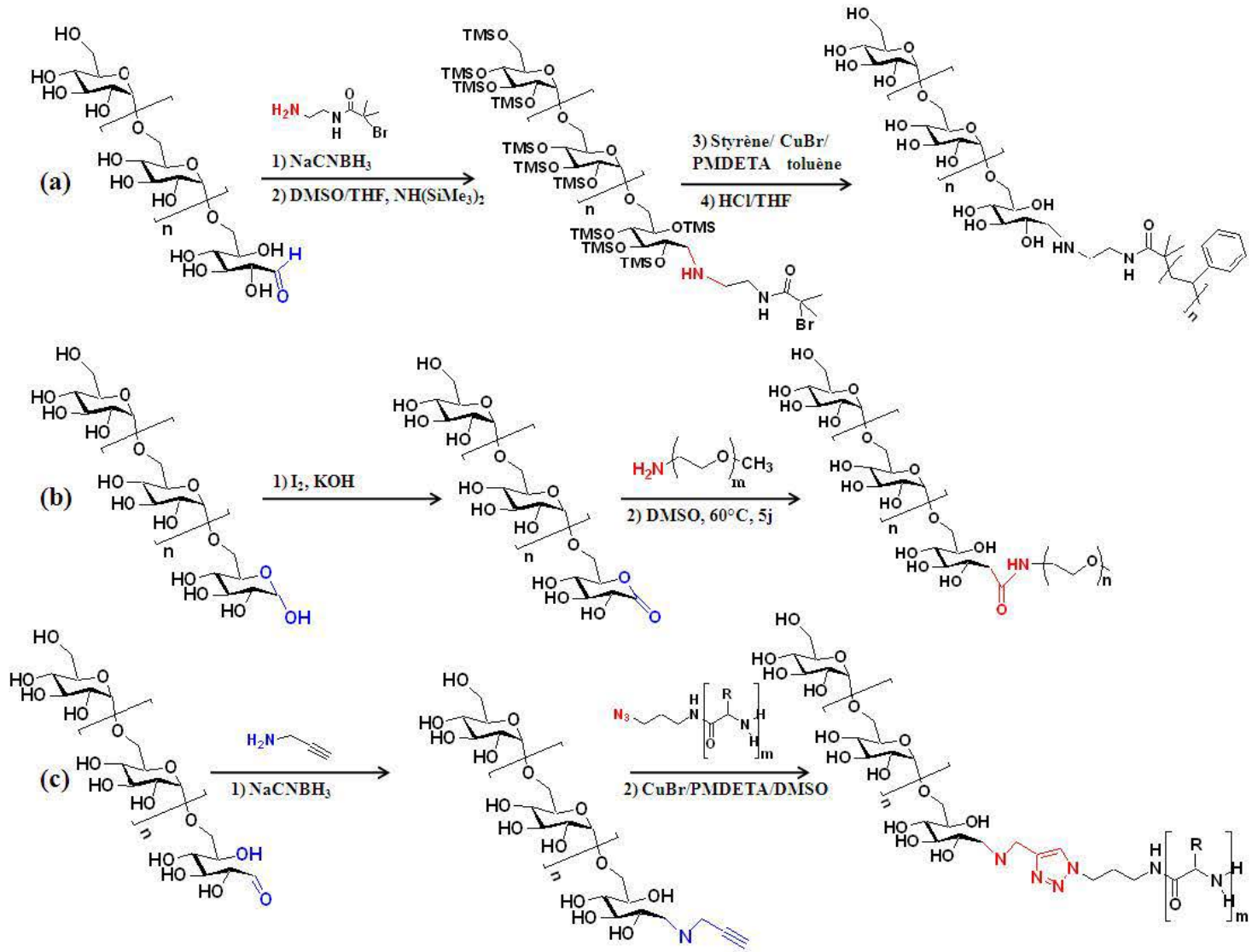


Schéma I-7. Synthèse de quelques glycopolymères à base de dextrane. (a) dextrane-b-polystyrène [254], (b) dextrane-b-poly(éthylène glycol) [261], (c) dextrane-b- poly(L-glutamate de γ-benzyle) [264].

IV.2.3.2 *Glycopolymères* greffés

Les glycopolymères greffés auxquels nous nous sommes intéressés sont composés d'une chaîne principale appelée « dorsale » et de chaînes pendantes de polymères synthétiques appelées « greffons ». D'une manière analogue aux glycopolymères à blocs, il existe principalement deux stratégies de synthèse à partir des polysaccharides naturels: « grafting onto» et « grafting from » (schéma I-9).

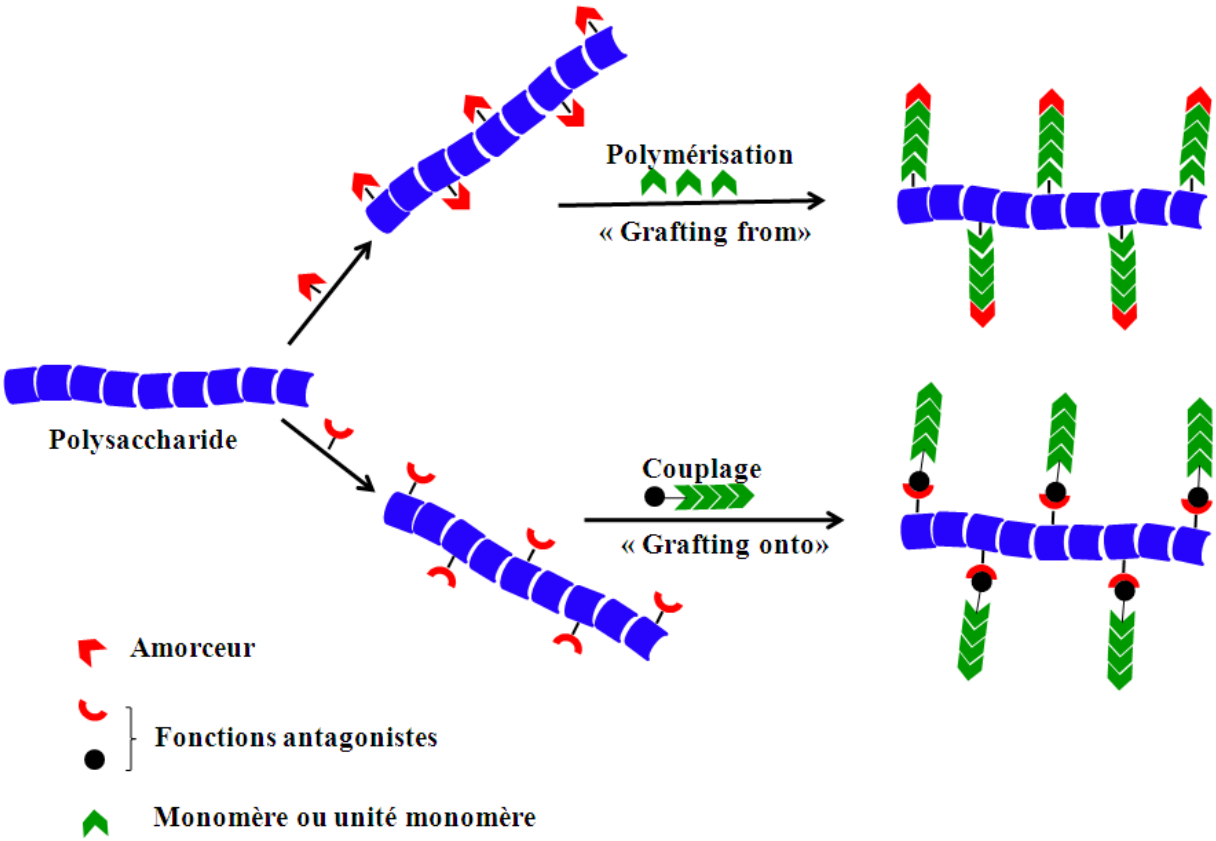


Schéma I-8. Stratégies de synthèse de glycopolymères greffés à partir d'un polysaccharide naturel.

La méthode **« grafting from »** est une technique divergente basée sur la croissance des greffons de polymères à partir des sites d'amorçage préalablement introduits sur le tronc (dorsale) polysaccharide. Cette méthode peut être réalisée en milieu homogène ou hétérogène selon la solubilité du polysaccharide dans le milieu réactionnel.

La méthode **« grafting onto »** est basée sur le couplage des greffons polymères préalablement préparés sur le tronc polysaccharide grâce à des fonctions antagonistes. Cette méthode connaît un grand succès ces dernières années grâce à l'apparition des chimies click [266,267] associées au bon contrôle de la polymérisation d'une grande variété de monomères [251,268].

a) Synthèse dans un milieu hétérogène

La solubilité médiocre des polysaccharides comme la cellulose, la chitine (ou de son dérivé le chitosane), le dextrane... dans la majorité des solvants organiques est à l'origine du développement de cette voie de synthèse de glycopolymères.

La technique *« grafting from »* est la méthode la plus utilisée en milieu hétérogène, soit à partir du polysaccharide naturel insoluble dans le milieu réactionnel, soit à partir de sa surface volontairement modifiée [269,270]. La cellulose est le polysaccharide le plus étudié pour la synthèse de glycopolymères greffés par voie hétérogène [269–271]. La croissance des greffons s'effectue le plus souvent par ATRP à partir d'une surface de cellulose [272–275]. L'acrylate de méthyle a été le premier monomère a être polymérisé par ATRP à partir d'une surface de cellulose modifiée par des groupements amorceurs 2-bromoisobutanoate [272] (schéma I-9). Depuis, d'autres monomères comme le styrène, l'acide acrylique,...[251] ont été polymérisé selon le même procédé. D'autres techniques de polymérisation contrôlées ont été également utilisées. La polymérisation RAFT [276–278] a permis de polymériser un certain nombre de monomères comme le méthacrylate de méthyle (MMA) et le styrène à partir d'une surface cellulosique. A notre connaissance, aucune étude n'a porté sur la polymérisation radicalaire par désactivation réversible par les nitroxydes (NMP) à partir d'une surface cellulosique en milieu hétérogène. La polymérisation par ouverture de cycle (POC) a été utilisée également pour polymériser des monomères cycliques tels que l'ε-caprolactone à partir de la cellulose [269] ou les granulés d'amidon [279]. Cette polymérisation est catalysée en utilisant soit des catalyseurs organo-métalliques comme l'octoate d'étain ($Sn(Oct)_2$) [280] soit des acides organiques comme l'acide hexadécanoïque [281] (schéma I-10).

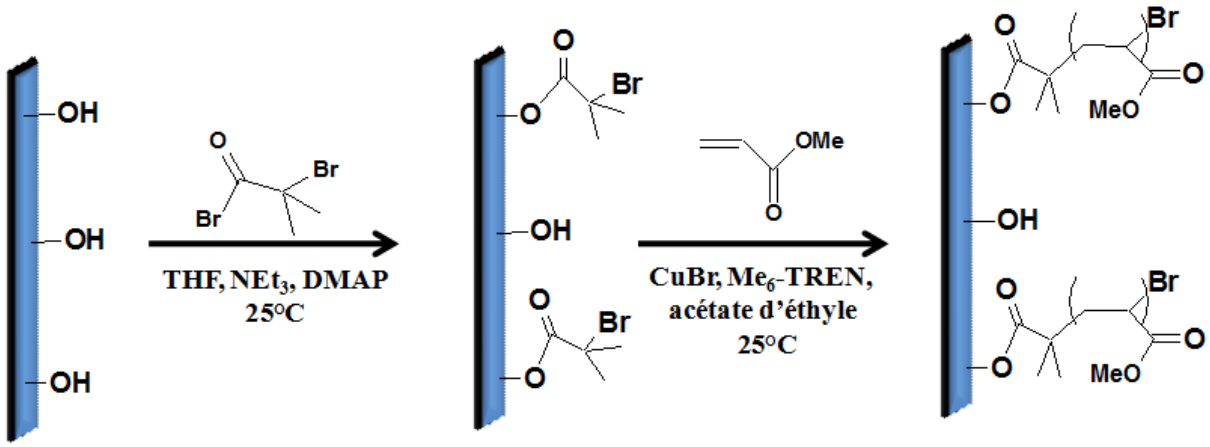


Schéma I-9. Croissance de greffons de poly(acrylate de méthyle) par ATRP à partir d'une surface de cellulose.

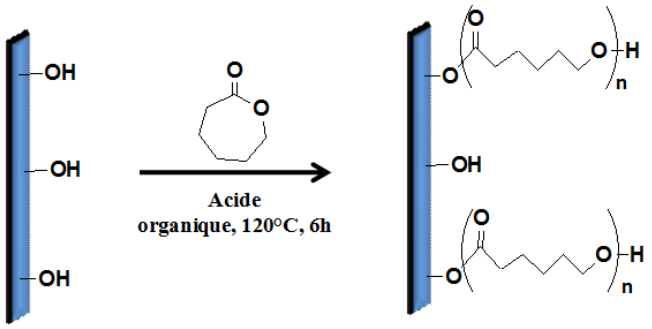


Schéma I-10. Croissance de greffons de poly(ε-caprolacotone) par ROP à partir d'une surface cellulose [281].

A l'exception de la cellulose, les autres polysaccharides sont peu exploités pour synthétiser des glycopolymères greffés dans un milieu hétérogène, puisque leur modification dans un milieu homogène est plus facile à réaliser. Il existe cependant quelques études qui portent sur le chitosane [282–284] et le dextrane [285], et où la croissance des greffons a été effectuée par ATRP. Très récemment, Gigmes et al. [286] ont synthétisé des glycopolymères greffés à base de chitosane par NMP dans un milieu hétérogène en polymérisant le styrène sulfate ou encore un mélange méthacrylate de méthyle / acrylonitrile. La synthèse est réalisée en deux étapes : i) élaboration d'une macroalcoxyamine dérivée du chitosane (CS-BB) par substitution d'un proton de la fonction amine primaire du chitosane avec le chlorure d'acrylate suivie d'une addition radicalaire intermoléculaire de la nitroxyde alcoxyamine « blocbuilder » (BB). ii) Polymérisation des monomères à partir de la macroalcoxyamine (schéma I-11).

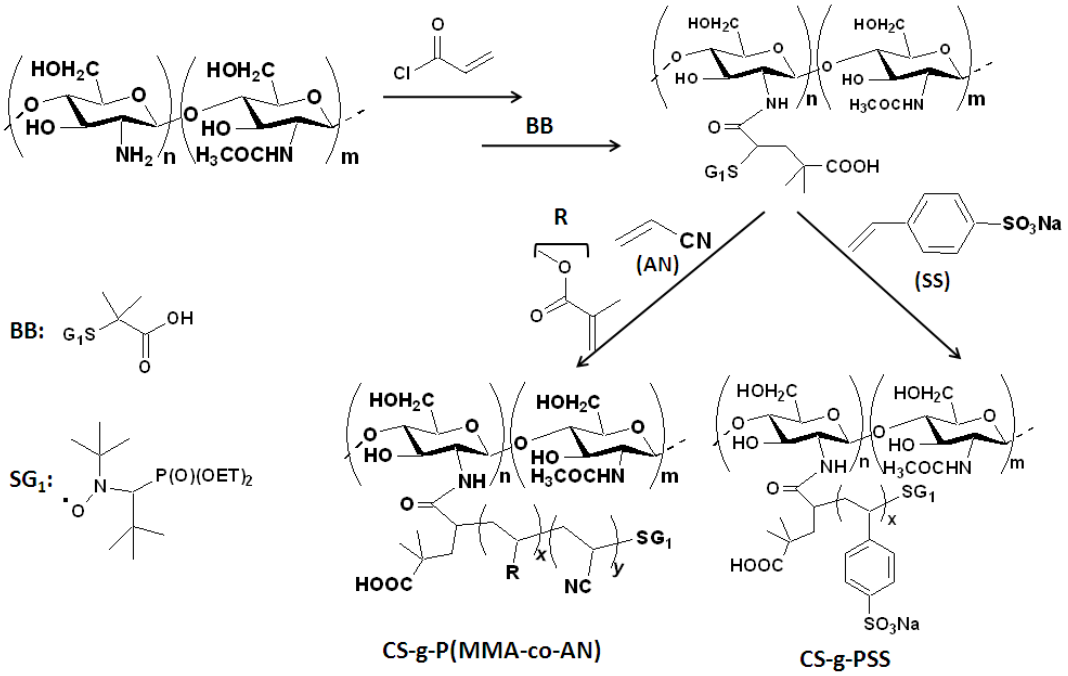


Schéma I-11. Synthèse de glycopolymères CS-g-P(MMA-co-AN) et CS-g-PSS par NMP à partir de chitosane en un milieu hétérogène [286] *.*

Sauf erreur de notre part, la méthode « grafting onto » n'a été utilisée que deux fois pour préparer des glycopolymères greffés en milieu hétérogène [287,288]. Le faible taux de greffage obtenu est probablement la cause de ce faible nombre de travaux publiés. Haddleton et al. [288] ont modifié les fibres de coton par cette voie. Dans un premier temps, les fonctions hydroxyle du coton ont été fonctionnalisées par le 4-chlorocarbonyl butanoate de 2-prop-2-ynyle. Les fonctions alcyne introduites ont ensuite été couplées avec le α-azide poly(méthacrylate de méthyl-co- méthacrylate d'hostasol) (poly(MMA-co-HMA)-N_3), préparé préalablement par ATRP. Le schéma I-12 illustre le procédé utilisé.

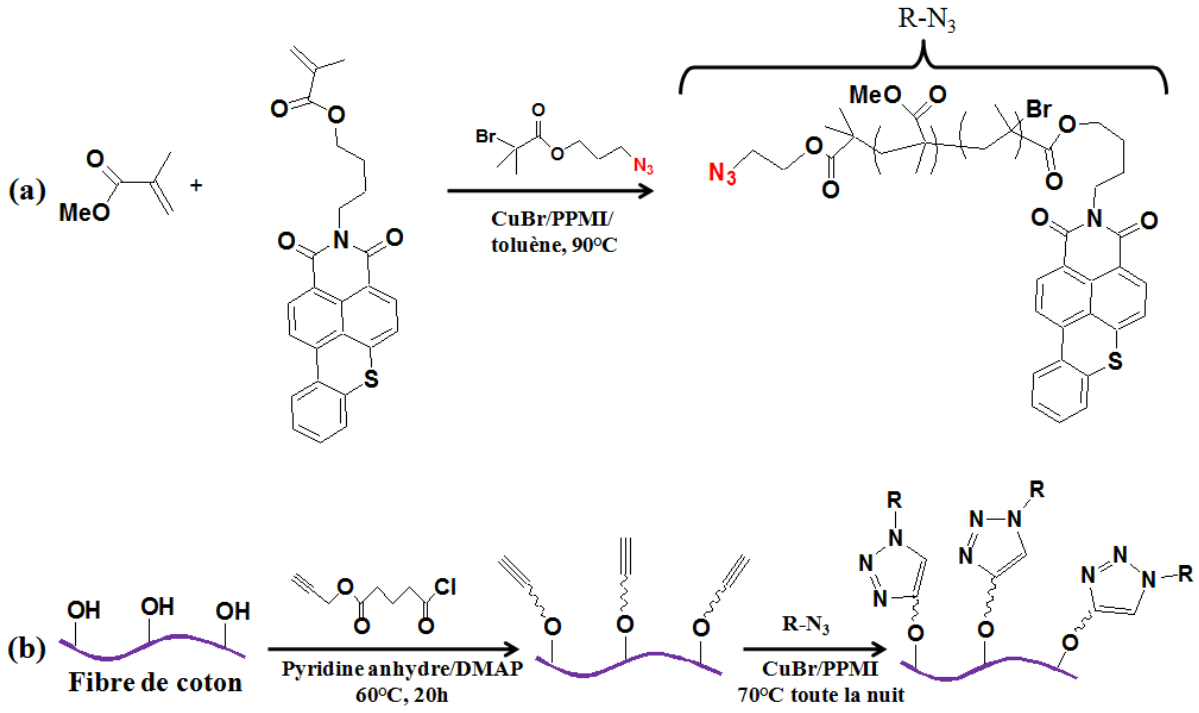


Schéma I-12. (a) Copolymérisation des monomères MMA et HMA par ATRP. (b) Greffage de chaînes de poly(MMA-co-HMA) sur la surface du coton par « chimie click ». PPMI :N-(n-propyl)-2-pyridylméthanimine [288].

L'équipe de Cordova [287], quant à elle, a synthétisé le glycopolymère cellulose-g-poly(ε-caprolactone) en milieu hétérogène en utilisant la méthode click thiol-ène. Cette méthode de chimie click peut être activée par voie thermique et photochimique, en absence à la fois de solvant et de catalyseur métallique ce qui est un avantage par rapport à la réaction azide/alcyne [289,290] (schéma I-13).

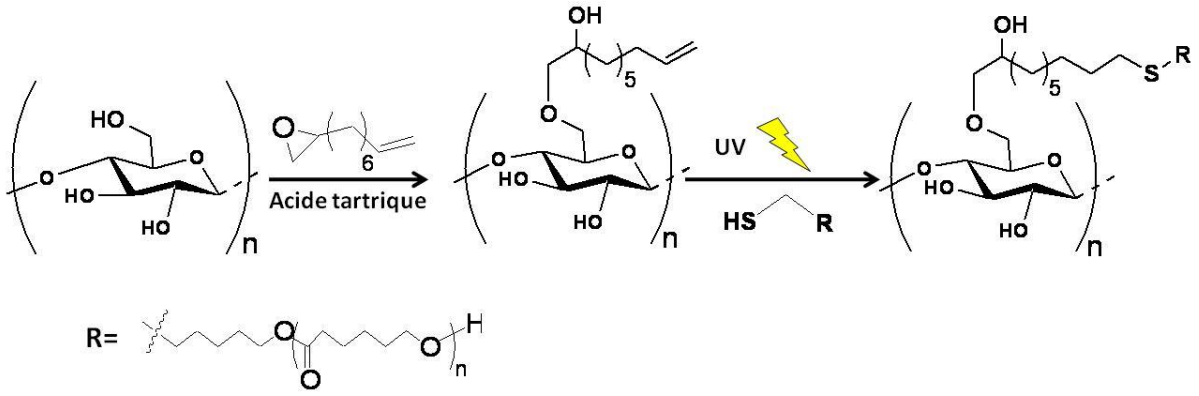


Schéma I-13. Fonctionnalisation de la cellulose par la poly(ε-caprolactone) via une chimie click thiol-ène en milieu hétérogène [287]**.**

b) Synthèse dans un milieu homogène

Il existe un très grand nombre de publications [251] sur l'élaboration des glycopolymères greffés dans les conditions homogènes. Le plus souvent, cette voie de synthèse nécessite une modification préalable du polysaccharide pour le rendre soluble dans les solvants organiques sélectifs des greffons, solvants dans lesquels doit s'effectuer le couplage « grafting onto » ou la polymérisation à partir du polysaccharide macroamorceur « grafting from ». Cette modification doit cependant satisfaire quelques exigences:

- Les groupements protecteurs utilisés doivent être hydrophobes pour pouvoir solubiliser le polysaccharide dans les solvants organiques.
- Ils doivent être facilement introduits sur les fonctions hydroxyle secondaires.
- Le réactif employé doit être monofonctionnel pour ne pas entraîner une réticulation des chaînes polysaccharide.
- Ils doivent être suffisamment stables pour résister aux conditions qui seront utilisées ultérieurement (introduction de l'amorceur et polymérisation dans le cas « grafting from » et réaction avec les fonctions antagonistes dans le cas « grafting onto ») et ne pas engendrer des réactions secondaires telle que la transestérification.
- La protection doit être effectuée dans des conditions douces (pH, température,...) pour ne pas dégrader la chaîne du polysaccharide.
- La protection doit être réversible, et dans des conditions telles que la déprotection ne conduise à aucune hydrolyse ou endommagement du polysaccharide et des greffons.

Diverses fonctions chimiques ont été employées pour protéger les fonctions alcool [291,292] et peuvent être utilisées pour la protection des polysaccharides. Nous présentons dans ici les deux moyens les plus fréquemment utilisés [200] :

- La première méthode est basée sur l'estérification des alcools. Elle peut être réalisée en utilisant des réactifs inorganiques tels que les esters phosphoriques et sulfoniques ou des réactifs organiques comme des acides à courtes chaînes aliphatiques (acide acétique, anhydride acétique ou chlorure d'acétyle). Cette réaction se déroule en général en présence de la triéthylamine (Et_3N) ou de pyridine. L'intérêt de cette réaction réside dans les conditions relativement douces employées et dans sa capacité à protéger les fonctions hydroxyle à la fois en milieu acide et basique.

- La deuxième méthode est basée sur l'éthérification des alcools par alkylation ou silylation par exemple. L'intérêt de cette voie de modification réside dans la stabilité et la neutralité des groupes protecteurs employés lors de la polymérisation des monomères cycliques par exemple, contrairement aux esters qui peuvent présenter un réel risque de transestérification.

Le LCPM, s'est intéressé depuis plusieurs années à la synthèse de glycopolymères greffés dans un milieu homogène. En employant la méthode « grafting from », le dextrane-g-polylactide (Dex-g-PLA) [253,293,294] a été élaboré en trois étapes (schéma I-14a). La première étape consistait à protéger partiellement les fonctions hydroxyle du dextrane par silylation en présence d'un agent silylant (HMDS ou BSA). La deuxième étape était le siège de la polymérisation contrôlée du D,L-lactique par ouverture de cycle (POC) à partir des OH résiduelles (non protégées) du dextrane dans le toluène, activées en présence de $Sn(Oct)_2$. Finalement, la restitution des fonctions hydroxyle a été réalisée en milieu acide, dans des conditions douces à température ambiante. Ce schéma de synthèse a également été employé également pour obtenir des amylose-g-PLA [252].

Lors d'une autre étude [239,295], la synthèse du glycopolymère Dex-g-PMMA a été effectuée par ATRP du méthacrylate de méthyle à partir d'un macroamorceur à base de dextrane (schéma I-14b). Les premiers tests effectués pour introduire le bromure de 2-bromoisobutanoyle (Br*i*BBr) par estérification sur un dextrane partiellement silylé se sont révélés infructueux. Aussi, la protection partielle des OH du dextrane a été effectuée par estérification à l'aide de l'anhydride acétique. Cette protection par des fonctions acétate a

permis d'introduire les groupements amorceurs d'ATRP lors de la deuxième étape, sans provoquer l'élimination des fonctions protectrices. La croissance des greffons de PMMA a été effectuée lors de la troisième étape dans le DMSO à 60°C en présence de $Cu^{I}Br$ et du ligand PPMI. Finalement, la déprotection des fonctions OH a été réalisée dans un milieu faiblement basique KOH.

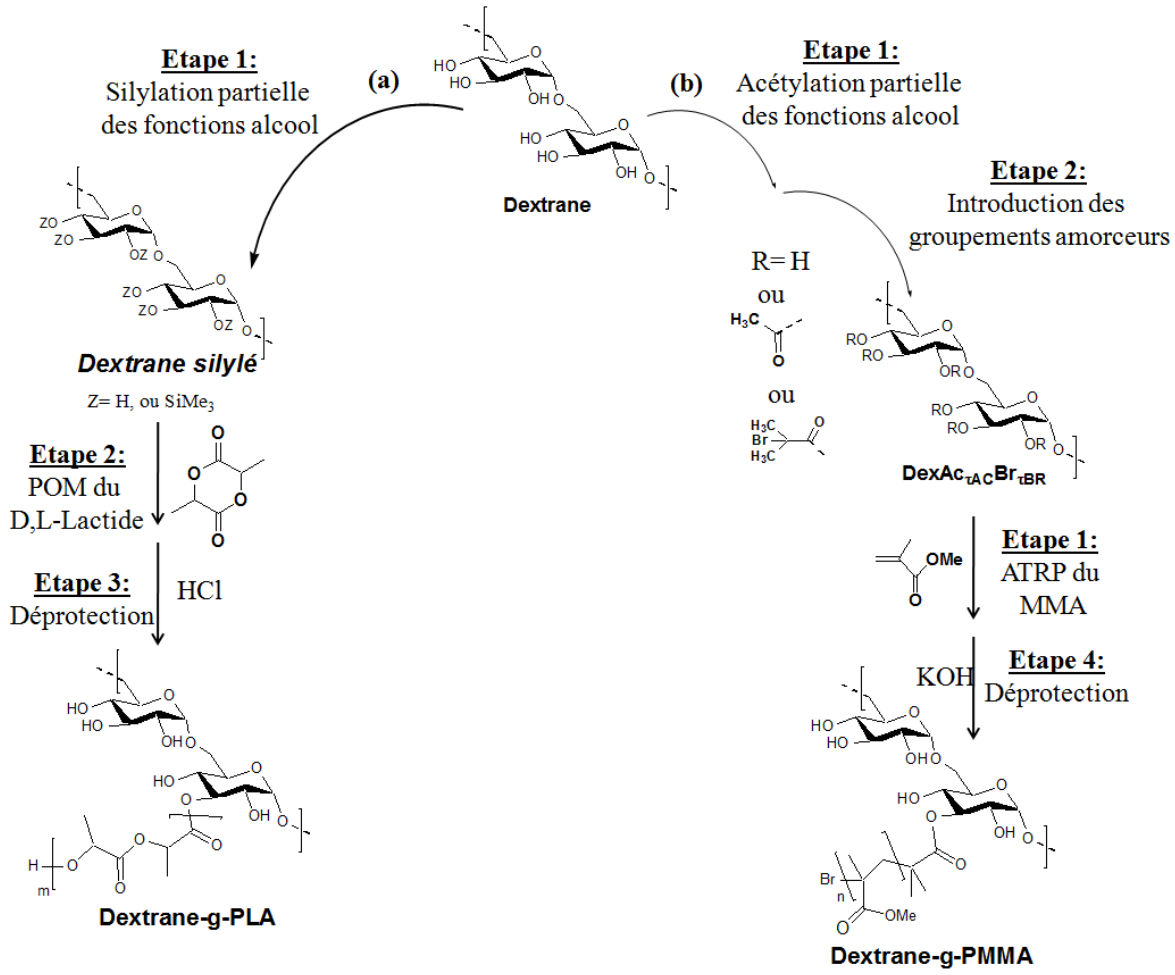


Schéma I-14. Schéma de synthèse multi-étapes des glycopolymères (a) Dextrane-g-PLA et (b) dextrane-g-PMMA dans un milieu homogène selon la stratégie « grafting from ».

On peut trouver de nombreux exemples dans la littérature de glycopolymères produits par la technique « grafting from » en association avec une technique de polymérisation contrôlée (ATRP, RAFT, NMP, POC, SET-LRP,...), mais l'ATRP reste la technique de polymérisation la plus utilisée. Le tableau I-3 regroupe les glycopolymères synthétisés à partir de la cellulose, du dextrane et du chitosane et par une technique de polymérisation radicalaire par désactivation réversible (ATRP, RAFT, NMP). Un exemple de préparation de glycopolymère à partir de chaque polysaccharide sera présenté par la suite.

Selon la nature des greffons, la synthèse de glycopolymères en milieu homogène et par « grafting from » peut aussi être effectuée sans faire appel à la protection du tronc polysaccharide. C'est par exemple le cas du dextrane qui est soluble dans l'eau, le DMSO ou le DMF/LiCl. Un glycopolymère greffé a ainsi été synthétisé en deux étapes par polymérisation RAFT en milieu aqueux, sans protection de la dorsale polysaccharide [296]. A l'aide du macro-agent RAFT dérivé du dextrane de type « trithiocarbonate », obtenu par estérification du dextrane par l'acide 2-(dodécylthiocarbonothioylthio)-2-méthylpropanoïque dans l'eau, le N-isopropylacrylamide a été polymérisé à 60°C dans l'eau en présence de l'amorceur 2,2'-azobis[2-(2-imidazolin-2-yl)propane] (VA-044). Si la longueur des chaînes PNIPAAm greffées sur le tronc dextrane a été estimée, malheureusement aucune indication sur le contrôle de la cinétique de la polymérisation RAFT n'a été fournie.

Malgré l'insolubilité de la cellulose dans la majorité des solvants organiques, il existe des solvants spécifiques tels que le DMAc ou DMSO/LiCl ou LiBr qui peuvent rompre les liaisons hydrogène intra- et intermoléculaires de la cellulose. Malheureusement, le processus de solubilisation de la cellulose est complexe dans ces solvants. Depuis quelques années, des solvants « liquides ioniques » tels que le cholorure de 1-allyl-3-méthylimidazolium ou l'acétate de 1-éthyl-3-methylimidazolium ont permis la solubilisation rapide et efficace de la cellulose [297] et la synthèse de plusieurs glycopolymères par « grafting from » dans un milieu homogène avec des architectures bien contrôlées à l'aide d'une stratégie en deux étapes : i) préparation du macroamorceur dans le cas de la polymérisation par ATRP ou d'un macro-agent RAFT dans le cas de la polymérisation RAFT, ii) croissance des greffons à partir de ces précurseurs (macroamorceur ou macro-agent RAFT). Des glycopolymères Cellulose-g-PMMA ont été obtenus par ATRP ou polymérisation RAFT par exemple. De façon surprenante, à notre connaissance, aucune synthèse de glycopolymères greffés à base de chitosane n'a été reportée dans un liquide ionique. Pourtant la solubilisation de ce polysaccharide est le premier obstacle qui freine sa modification.

Tableau I-3. Glycopolymères greffés élaborés par « grafting from » via une polymérisation radicalaire par désactivation réversible en milieu homogène.

Technique de polymérisation	Polysaccharide	Solubilisation par	Monomères
ATRP	Cellulose	Ethérification	NIPAAm [298], S [299,300], MMA [299,301], t-BuA [301,302], HEMA [303], PEGMA [304], DMAEMA [305], MMAzo [306], AM [307], DMAAm [308], DEAEMA [309]
		Estérification	S [310,311], MMA [310,311], BuA [310,311].
		Liquide ionique	S [308], MMA [308,312,313] DMAEMA [314]
		DMAc/LiCl	DMAAm [315], MMA [316,317], MPC [318]
	Dextrane	DMSO [(a)], DMF/LiCl [(b)] ou DMF [(c)]	DMAEMA[(a)] [319,320], MMA [(a)] [239], NIPAAM [(b)] [321], S [(c)] [322].
		Estérification	MMA[239,295]
	Chitosane	Estérification	NIPAAM [323], DEAEMA [324], OEGMA [325], MeO(PEG) MA [284],
RAFT	Cellulose	Liquide ionique	MMA [326]
		Ethérification	EA [327], NIPAAM [327], VAc [328], S [329]
	Dextrane	DMSO ou Eau	MAA [330], NIPAAM [296,330]
	Chitosane	Estérification	AA [331], NIPAAM [332]
	Pullulane	Eau	NIPAAM [333]
NMP	Cellulose	Ethérification	S [334]
	Chitosane	Estérification	SS [335],S [336]

Pendant longtemps, la stratégie préférable pour la synthèse des glycopolymères greffés était la technique « grafting from », bien que les chercheurs avaient à leur disposition d'autres techniques comme le couplage amide [337], l'estérification [338] ou encore l'amination réductrice [339] permettant le greffage de polymères sur des troncs polysaccharides par la stratégie « grafting onto ». Cependant, la densité de greffage obtenue était faible. Depuis quelques années, cette tendance commence à s'inverser grâce au développement des techniques de la chimie click [246]. Le tableau I-4 résume les différents glycopolymères préparés par la stratégie « grafting onto » présents dans la littérature.

Pour illustrer ceci, Lemechko et al. [340] ont ainsi récemment préparé par « grafting onto » un copolymère dextrane-g-poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (Dex-g-PHBHV) en testant deux techniques de couplage. Dans la première, le glycopolymère greffé est obtenu par estérification du PHBHV, fonctionnalisé à son extrémité par un chlorure d'acide, et les fonctions OH du dextrane (schéma I-15A). Dans la deuxième méthode, l'alcyne terminal du PHBHV réagit sur les groupements azide portés par le dextrane (schéma I-15B). Cette étude a révélé l'efficacité du greffage par « chimie click » par rapport à l'estérification.

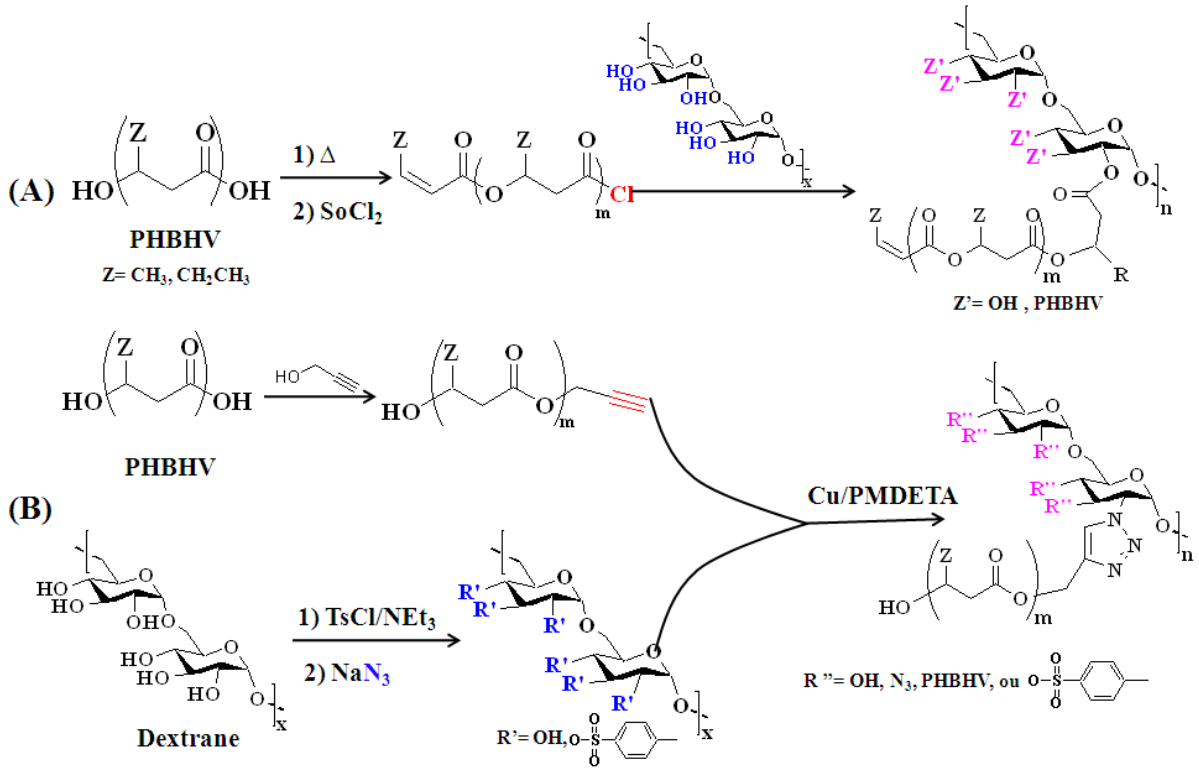


Schéma I-15. Schéma de synthèse du glycopolymère Dextrane-g-PHBHV selon la stratégie « grafting onto » par (A) estérification et (B) chimie click [340].

Tableau I- 4 Glycopolymères greffés élaborés via la stratégie « grafting onto »

Technique de couplage	Polysaccharide	Solubilisation par	Greffons
Couplage amide	Dextrane	Eau	PE-co-PO [337]
	Cellulose	Estérification	PE-co-PO [337], PNIPAAM[341]
	Chitosane	Estérification	PEG [342,343]
		Solution acide tampon	PDMAEMA [344], POEGMA [325]
Estérification	Cellulose	Acétylation	PS [338]
Amination réductrice	Chitosane	Solution acide tampon	PEG [339]
Chimie click	Dextrane	DMSO ou Eau	PEG [345,346], PHBHV [340], PLA[248]
	Cellulose	Ethérification	PEG [347], PLA [347]
	Chitosane	Tampon acide	PNIPAM [348,349], PEG [350], PDMAEMA [349]
		Estérification	PCL-co-PEG [351], $PMEO_2MA$-co-POEGMA [352,353]
	Gomme de guar	Eau	PEO-co-PPO [354]
	Amylose	Eau	PMA [355]

IV.2.4 Auto-assemblage des glycopolymères amphiphiles

Après la présentation des différents glycopolymères présents dans la littérature, nous décrirons dans ce paragraphe plus spécifiquement la faculté d'auto-assemblage des glycopolymères amphiphiles en solution ou en masse.

L'étude de l'auto-assemblage des glycopolymères amphiphiles est un sujet qui commence à passionner de nombreux chercheurs ces dernières années. Les glycopolymères sont généralement composés d'un polysaccharide et de polymères synthétiques non miscibles entre eux. Cette différence de solubilité et l'incompatibilité chimique entre le polysaccharide et le polymère synthétique peut provoquer une séparation de phase et favoriser l'auto-organisation des glycopolymères en solution. Cependant, les facteurs influençant cette auto-organisation restent encore peu étudiés. Lecommandoux et coll. [237] supposent que la conformation « rod » ou semi-rigide (wormlike) de certains polysaccharides, évaluée grâce à leur longueur de persistance (L_p) (tableaux I-5), peut augmenter le paramètre d'incompatibilité Flory-Huggins χ et faciliter par conséquent la tendance des glycopolymères à s'auto-organiser en solution. Malheureusement, jusqu'à présent aucune étude n'a établi ce lien.

Tableau I-5. Rigidité de quelques polysaccharides évaluée grâce à leur longueur persistances (L_p) [237]

Polysaccharide	L_p (nm)	Conformation
Acide alginique	4-6	«semi-coil»
Amylose	2-4	Simple ou double hélice
Cellulose	11-25	«semi-coil»
Chitosane	6-14	«semi-coil»
Dextrane	1,5-1,8	« coil »
Pullulane	1,2	« coil »

Dans le cas de l'étude de l'auto-organisation des glycopolymères amphiphiles greffés, seule la morphologie micellaire a été pour l'instant observée. C'est le cas par exemple du chitosane-g-poly(ε-caprolactone) (CS-g-PCL) [351,353] ou du chitosane-g-poly(1,4-dioxan-2-

one) (CS-g-PPDO) [356] en solution aqueuse, l'éthyle cellulose-g-poly[(2-diéthylamino) méthacrylate d'éthyle)] (EC-g-PDEAEMA) [309] en solution acide ou l'éthyle cellulose-g-poly(acide acrylique) (EC-g-PAA) [357] dans un mélange H_2O/THF.

En revanche, il existe quelques exemples d'auto-organisation vésiculaire observée dans le cas des glycopolymères amphiphiles à blocs. Mais sauf erreur de notre part, le dextrane est le seul polysaccharide étudié jusqu'à présent qui a la capacité de former ces morphologies vésiculaires (polymersomes) lorsqu'il est couplé à des polymères hydrophobes comme le polystyrène [124] ou la PLC [358] ou lorsque son extrémité réductrice est modifiée par des longues chaînes hydrophobes telles que l'octadécanol [359], le 3-pentadecyle phénole [360], cardanol [360] ou l'acide stéarique [360]. Dans ce qui suit, nous présenterons quelques exemples de polymersomes préparés à partir des glycopolymères diblocs.

Houga et al. [124] ont étudié l'influence de la fraction massique du bloc hydrophobe sur l'auto-organisation du Dex-b-PS dans différents solvants (DMSO, THF et eau). Cette étude a montré que le glycopolymère de forte fraction massique en dextrane (0,93) adopte une morphologie micellaire en solution aqueuse. A l'opposé les copolymères de fractions massiques plus faibles en dextrane (inférieures à 0,20) adoptent une morphologie vésiculaire (figure I-38). Ce dernier résultat est en désaccord avec la loi empirique de Discher et Eisenberg [94] qui prévoit que les copolymères de type « coil-coil » forment des microstructures inverses lorsque la fraction en bloc hydrophile est inférieure à 0,25. Les auteurs expliquent la déviation à cette règle par le fait que le dextrane utilisé contient des chaînes « coil » ($\overline{M_n}\approx$ 6600 g/mol), mais aussi des petites chaînes qui peuvent présenter une certaine rigidité ($\overline{M_n}\approx$ 2000 g/mol) ce qui influence la morphologie de l'auto-organisation [124].

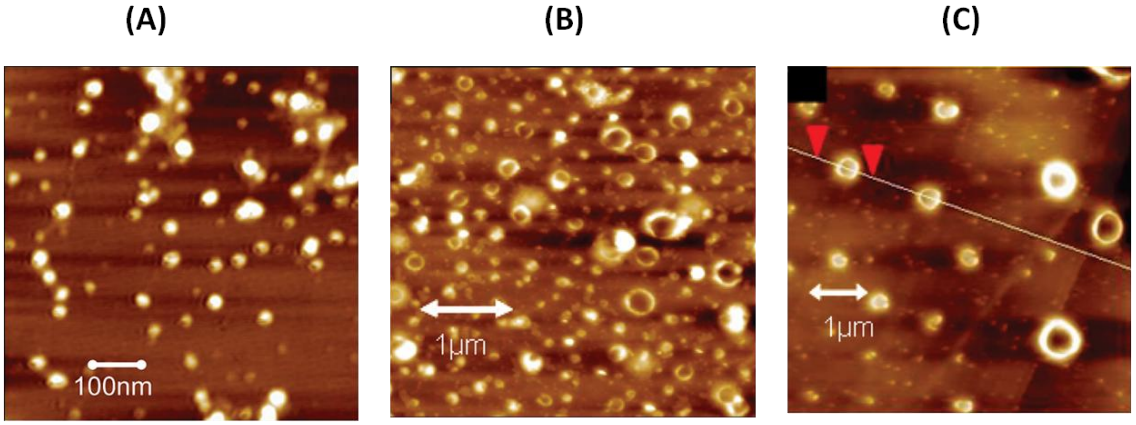


Figure I-38. Influence de la fraction massique du dextrane (f_{Dex}) dans le copolymère dex-b-PS sur la morphologie de l'auto-assemblage en solution aqueuse. Image du microscope à force atomique : micelles (A) f_{Dex} = 0,93. Polymersomes (B) f_{Dex} = 0,19, (C) f_{Dex}=0,08 [124].

Zhang et al. [358] ont également observé une déviation à la loi de Discher [94] lors de l'étude de l'auto-assemblage en solution aqueuse des glycopolymères Dex-b-PCL en fonction de la fraction massique du dextrane dans le copolymère (f_{Dex}). Ils ont observé une morphologie micellaire lorsque f_{Dex} était comprise entre 0,45 et 0,32 (diamètre évoluant de 25 nm à 40 nm). Lorsque f_{Dex} était entre 0,28 et 0,23, les copolymères adoptent une morphologie vésiculaire de diamètre compris entre 120 nm et 300 nm. Mais quand le bloc hydrophobe devient plus grand (f_{Dex}=0,16) des polymersomes géants (3,5 µm de diamètre) sont observés à la place de microstructures inverses prévues. Les auteurs justifient encore la déviation à la règle par la présence probable de petites chaînes de dextrane ayant un comportement « rod » et influençant la morphologie de l'auto-organisation.

Comme nous l'avons mentionné dans l'introduction générale de ce manuscrit, l'objectif général de ce travail est la formulation de polymersomes à partir d'un glycopolymère combinant les propriétés biologiques du dextrane et les propriétés mésogènes d'un polymère doté de propriétés cristal-liquide. Tout au long de cette étude bibliographique nous n'avons rencontré aucun composé de ce genre dans la littérature. Néanmoins, il existe un exemple d'un polymersome obtenu à partir d'un glycopolymère le dextrane-b-poly(L-glutamate de γ-benzyle) (Dex-b-PBLG) [264]. Le PBLG est connu pour sa conformation en hélice α « rod » due à la présence de liaisons hydrogène intramoléculaires. L'intérêt de ce copolymère réside dans son pouvoir de s'auto-assembler spontanément en solution aqueuse sous forme de polymersomes de petites tailles. Cette auto-organisation est le résultat à la fois des fortes interactions entre les groupements « rod » des hydrophobes PBLG qui favorisent la formation d'une membrane plane et l'hydrophilie du dextrane qui assure la solubilité et la fluidité du polymersome (figure I-39).

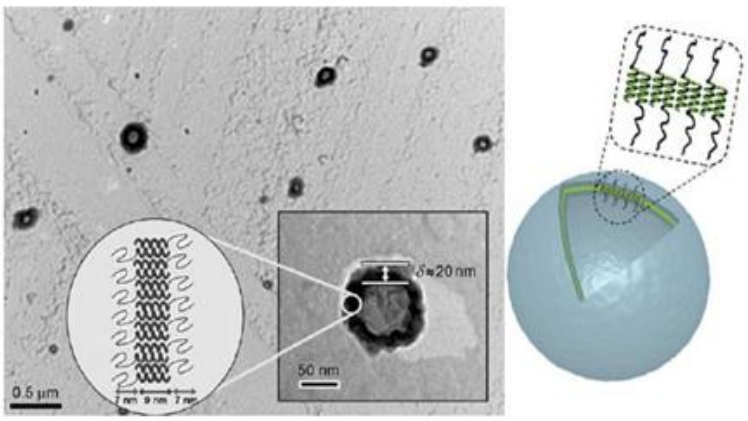


Figure I- 39. Image MET des polymersomes formés à partir de l'auto-assemblage du copolymère Dex-b-PBLG [264,265]**.**

V. CONCLUSION DE L'ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

De nombreux vecteurs de principes actifs ont déjà été élaborés à partir de chaînes polymères, testés et parfois commercialisés. Les premiers vecteurs étaient de simples systèmes (prodrogues) qui permettaient de véhiculer les substances bioactives sans toutefois leur offrir une protection chimique, physique et mécanique efficaces. Les derniers systèmes sont plus complexes (polymersomes) mais permettent à la fois de protéger et transporter les molécules les plus fragiles quelle que soit leur nature chimique hydrophile ou hydrophobe. Ces polymersomes sont obtenus par auto-assemblage de copolymères amphiphiles en solution aqueuse, souvent il s'agit de copolymères à blocs. L'utilisation de substances à caractère cristal-liquide comme le cholestérol permet d'apporter un ordre supplémentaire à ces auto-assemblages et de les renforcer mécaniquement.

Les glycopolymères composés de parties polysaccharide et polymère synthétique ont eux aussi la faculté de s'auto-organiser en solution en raison de leur incompatibilité chimique. Ils constituent actuellement de véritables candidats potentiels pour la formulation de vecteurs de principes actifs. Cependant, et même si de nombreux exemples de glycopolymères variant par leur composition chimique (nature du polysaccharide et du polymère synthétique) et leur architecture (à blocs ou greffés) sont décrit dans la littérature, peu d'entre eux adoptent une morphologie vésiculaire en solution.

L'objectif ultime de notre étude était de combiner les propriétés cristal-liquide d'un polymère cholestérique aux propriétés biologiques du dextrane, afin d'élaborer un nouveau vecteur de principes actifs de morphologie vésiculaire « polymersome ». Les glycopolymères greffés envisagés Dex-g-PADEGChol aux paramètres moléculaires contrôlés seront obtenus en utilisant la stratégie « grafting from » associée à la technique d'ATRP. Cette synthèse sera décrite dans les chapitres suivants de ce manuscrit. Enfin, l'étude de leurs propriétés mésomorphes et de leurs auto-organisations en solution sera reportée.

REFERENCES

(1) Murphy, P.; Myers, D.; Davies, M.; Webster, N.; Jones, J. The Antioxidant Potential of Propofol (2,6-Diisopropylphenol). *British Journal of Anaesthesia* **1992**, 68, 613–618.

(2) Borgeat, A.; Wildersmith, O.; Saiah, M.; Rifat, K. Subhypnotic Doses of Propofol Possess Direct Antiemetic Properties. *Anesthesia and Analgesia* **1992**, 74, 539–541.

(3) Baker, M. T.; Naguib, M. Propofol - The challenges of formulation. *Anesthesiology* **2005**, 103, 860–876.

(4) Cai, W.; Deng, W.; Yang, H.; Chen, X.; Jin, F. A propofol microemulsion with low free propofol in the aqueous phase: Formulation, physicochemical characterization, stability and pharmacokinetics. *International Journal of Pharmaceutics* **2012**, 436, 536–544.

(5) Gupta, S.; Moulik, S. p. Biocompatible microemulsions and their prospective uses in drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2008**, 97, 22–45.

(6) Farokhzad, O. C.; Langer, R. Impact of Nanotechnology on Drug Delivery. *ACS Nano* **2009**, 3, 16–20.

(7) Goutayer, M. Nano-émulsions pour la vectorisation d'agents thérapeutiques ou diagnostiques: étude de la biodistribution par imagerie de fluorescence in vivo. *Université Pierre et Marie Curie*, **2008**.

(8) Kreuter, J. Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2001**, 47, 65–81.

(9) Ringsdorf, H. Structure and properties of pharmacologically active polymers. *Journal of Polymer Science: Polymer Symposia* **1975**, 51, 135–153.

(10) Duncan, R. Polymer conjugates as anticancer nanomedicines. *Nature Reviews Cancer* **2006**, 6, 688–701.

(11) Denny, W. A. Prodrug strategies in cancer therapy. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2001**, 36, 577–595.

(12) Duncan, R.; Ringsdorf, H.; Satchi-Fainaro, R. Polymer therapeutics: Polymers as drugs, drug and protein conjugates and gene delivery systems: Past, present and future opportunities. In *Polymer Therapeutics I: Polymers as Drugs, Conjugates and Gene Delivery Systems*; SatchiFainaro, R.; Duncan, R., Eds.; Springer-Verlag Berlin: Berlin, **2006**, 192, 1–8.

(13) Chen, X.; Parelkar, S. S.; Henchey, E.; Schneider, S.; Emrick, T. PolyMPC–Doxorubicin Prodrugs. *Bioconjugate Chemistry* **2012**, 23, 1753–1763.

(14) Veronese, F. M.; Pasut, G. PEGylation, successful approach to drug delivery. *Drug Discovery Today* **2005**, 10, 1451–1458.

(15) Chandran, S. S.; Nan, A.; Rosen, D. M.; Ghandehari, H.; Denmeade, S. R. A prostate-specific antigen–activated N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide copolymer prodrug as dual-targeted therapy for prostate cancer. *Molecular Cancer Therapeutics* **2007**, 6, 2928–2937.

(16) Li, C.; Yu, D. F.; Newman, R. A.; Cabral, F.; Stephens, L. C.; Hunter, N.; Milas, L.; Wallace, S. Complete regression of well-established tumors using a novel water-soluble poly(L-glutamic acid) paclitaxel conjugate. *Cancer Research* **1998**, 58, 2404–2409.

(17) Li, C. Poly(L-glutamic acid) - anticancer drug conjugates. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2002**, 54, 695–713.

(18) Mocanu, G.; Airinei, A.; Carpov, A. Macromolecular Drug Conjugates .2. Metronidazole-Dextran Prodrugs. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers* **1993**, 8, 383–392.

(19) Varshosaz, J.; Emami, J.; Tavakoli, N.; Fassihi, A.; Minaiyan, M.; Ahmadi, F.; Dorkoosh, F. Synthesis and evaluation of dextran-budesonide conjugates as colon specific prodrugs for treatment of ulcerative colitis. *International Journal of Pharmaceutics* **2009**, 365, 69–76.

(20) Prouchayret, F.; Fasan, G.; Grandgeorge, M.; Vigneron, C.; Menu, P.; Dellacherie, E. A potential blood substitute from carboxylic dextran and oxyhemoglobin. I. Preparation, purification and characterization. *Biomaterials, artificial cells, and immobilization biotechnology: official journal of the International Society for Artificial Cells and Immobilization Biotechnology* **1992**, 20, 319–322.

(21) Wischke, C.; Schwendeman, S. P. Principles of encapsulating hydrophobic drugs in PLA/PLGA microparticles. *International Journal of Pharmaceutics* **2008**, 364, 298–327.

(22) Mundargi, R. C.; Babu, V. R.; Rangaswamy, V.; Patel, P.; Aminabhavi, T. M. Nano/micro technologies for delivering macromolecular therapeutics using poly(d,l-lactide-co-glycolide) and its derivatives. *Journal of Controlled Release* **2008**, 125, 193–209.

(23) Landfester, K.; Musyanovych, A.; Mailänder, V. From polymeric particles to multifunctional nanocapsules for biomedical applications using the miniemulsion process. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2010**, 48, 493–515.

(24) Matschke, C.; Isele, U.; van Hoogevest, P.; Fahr, A. Sustained-release injectables formed in situ and their potential use for veterinary products. *Journal of Controlled Release* **2002**, 85, 1–15.

(25) Danhier, F.; Ansorena, E.; Silva, J. M.; Coco, R.; Le Breton, A.; Préat, V. PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications. *Journal of Controlled Release* **2012**, 161, 505–522.

(26) Singh, R.; Nalwa, H. S. Medical Applications of Nanoparticles in Biological Imaging, Cell Labeling, Antimicrobial Agents, and Anticancer Nanodrugs. *Journal of Biomedical Nanotechnology* **2011**, *7*, 489–503.

(27) Nayak, S.; Lyon, L. A. Soft Nanotechnology with Soft Nanoparticles. *Angewandte Chemie International Edition* **2005**, 44, 7686–7708.

(28) Hans, M. .; Lowman, A. . Biodegradable nanoparticles for drug delivery and targeting. *Current Opinion in Solid State and Materials Science* **2002**, 6, 319–327.

(29) Mahapatro, A.; Singh, D. K. Biodegradable nanoparticles are excellent vehicle for site directed in-vivo delivery of drugs and vaccines. *Journal of Nanobiotechnology* **2011**, *9*.

(30) Ferrari, M. Cancer nanotechnology: Opportunities and challenges. *Nature Reviews Cancer* **2005**, 5, 161–171.

(31) Koo, O. M.; Rubinstein, I.; Onyuksel, H. Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* **2005**, 1, 193–212.

(32) Patravale, V. B.; Date, A. A.; Kulkarni, R. M. Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **2004**, 56, 827–840.

(33) Kayser, O.; Olbrich, C.; Yardley, V.; Kiderlen, A. F.; Croft, S. L. Formulation of amphotericin B as nanosuspension for oral administration. *International Journal of Pharmaceutics* **2003**, 254, 73–75.

(34) Chavhan, S. S.; Petkar, K. C.; Sawant, K. K. Nanosuspensions in Drug Delivery: Recent Advances, Patent Scenarios, and Commercialization Aspects. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* **2011**, 28, 447–488.

(35) Van de Ven, H.; Paulussen, C.; Feijens, P. B.; Matheeussen, A.; Rombaut, P.; Kayaert, P.; Van den Mooter, G.; Weyenberg, W.; Cos, P.; Maes, L.; Ludwig, A. PLGA nanoparticles and nanosuspensions with amphotericin B: Potent in vitro and in vivo alternatives to Fungizone and AmBisome. *Journal of Controlled Release* **2012**, 161, 795–803.

(36) MeriskoLiversidge, E.; Sarpotdar, P.; Bruno, J.; Hajj, S.; Wei, L.; Peltier, N.; Rake, J.; Shaw, J. M.; Pugh, S.; Polin, L.; Jones, J.; Corbett, T.; Cooper, E.; Liversidge, G. G. Formulation and antitumor activity evaluation of nanocrystalline suspensions of poorly soluble anticancer drugs. *Pharmaceutical Research* **1996**, 13, 272–278.

(37) Vrignaud, S.; Benoit, J.-P.; Saulnier, P. Strategies for the nanoencapsulation of hydrophilic molecules in polymer-based nanoparticles. *Biomaterials* **2011**, 32, 8593–8604.

(38) Dash, T. K.; Konkimalla, V. B. Poly-ϵ-caprolactone based formulations for drug delivery and tissue engineering: A review. *Journal of Controlled Release* **2012**, 158, 15–33.

(39) Anton, N.; Benoit, J.-P.; Saulnier, P. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates—A review. *Journal of Controlled Release* **2008**, 128, 185–199.

(40) Solans, C.; Solé, I. Nano-emulsions: Formation by low-energy methods. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2012**, 17, 246–254.

(41) Galindo-Rodriguez, S.; Allemann, E.; Fessi, H.; Doelker, E. Physicochemical parameters associated with nanoparticle formation in the salting-out, emulsification-diffusion, and nanoprecipitation methods. *Pharmaceutical Research* **2004**, 21, 1428–1439.

(42) Tiarks, F.; Landfester, K.; Antonietti, M. Preparation of Polymeric Nanocapsules by Miniemulsion Polymerization. *Langmuir* **2001**, 17, 908–918.

(43) Crespy, D.; Stark, M.; Hoffmann-Richter, C.; Ziener, U.; Landfester, K. Polymeric Nanoreactors for Hydrophilic Reagents Synthesized by Interfacial Polycondensation on Miniemulsion Droplets. *Macromolecules* **2007**, 40, 3122–3135.

(44) Mora-Huertas, C. E.; Fessi, H.; Elaissari, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics* **2010**, 385, 113–142.

(45) Landfester, K.; Weiss, C. K. Encapsulation by Miniemulsion Polymerization. In *Modern Techniques for Nano- and Microreactors/-Reactions*; Caruso, F., Ed.; Springer-Verlag Berlin: Berlin, **2010**; 229, 1–49.

(46) Adamczak, M.; Hoel, H. J.; Gaudernack, G.; Barbasz, J.; Szczepanowicz, K.; Warszynski, P. Polyelectrolyte multilayer capsules with quantum dots for biomedical applications. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces* **2012**, 90, 211–216.

(47) Mu, B.; Lu, C.; Liu, P. Disintegration-controllable stimuli-responsive polyelectrolyte multilayer microcapsules via covalent layer-by-layer assembly. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces* **2011**, 82, 385–390.

(48) Huang, X.; Appelhans, D.; Formanek, P.; Simon, F.; Voit, B. Synthesis of Well-Defined Photo-Cross-Linked Polymeric Nanocapsules by Surface-Initiated RAFT Polymerization. *Macromolecules* **2011**, 44, 8351–8360.

(49) Mora-Huertas, C. E.; Garrigues, O.; Fessi, H.; Elaissari, A. Nanocapsules prepared via nanoprecipitation and emulsification-diffusion methods: Comparative study. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2012**, 80, 235–239.

(50) Vauthier, C.; Bouchemal, K. Methods for the Preparation and Manufacture of Polymeric Nanoparticles. *Pharmaceutical Research* **2009**, 26, 1025–1058.

(51) Choi, M.-J.; Soottitantawat, A.; Nuchuchua, O.; Min, S.-G.; Ruktanonchai, U. Physical and light oxidative properties of eugenol encapsulated by molecular inclusion and emulsion-diffusion method. *Food Research International* **2009**, 42, 148–156.

(52) Stoffelbach, F.; Belardi, B.; Santos, J. M. R. C. A.; Tessier, L.; Matyjaszewski, K.; Charleux, B. Use of an Amphiphilic block copolymer as a stabilizer and a macroinitiator in miniemulsion polymerization under AGET ATRP conditions. *Macromolecules* **2007**, 40, 8813–8816.

(53) Li, W.; Matyjaszewski, K.; Albrecht, K.; Moller, M. Reactive Surfactants for Polymeric Nanocapsules via Interfacially Confined Miniemulsion ATRP. *Macromolecules* **2009**, 42, 8228–8233.

(54) Luo, Y.; Gu, H. Nanoencapsulation via interfacially confined reversible addition fragmentation transfer (RAFT) miniemulsion polymerization. *Polymer* **2007**, 48, 3262–3272.

(55) Pham, B. T. T.; Nguyen, D.; Ferguson, C. J.; Hawkett, B. S.; Serelis, A. K.; Such, C. H. Miniemulsion polymerization stabilized by amphipathic macro RAFT agents. *Macromolecules* **2003**, 36, 8907–8909.

(56) Vermonden, T.; Censi, R.; Hennink, W. E. Hydrogels for Protein Delivery. *Chemical Reviews* **2012**, 112, 2853–2888.

(57) Sanson, N.; Rieger, J. Synthesis of nanogels/microgels by conventional and controlled radical crosslinking copolymerization. *Polymer Chemistry* **2010**, 1, 965–977.

(58) Raemdonck, K.; Demeester, J.; De Smedt, S. Advanced nanogel engineering for drug delivery. *Soft Matter* **2009**, 5, 707–715.

(59) Sasaki, Y.; Akiyoshi, K. Nanogel Engineering for New Nanobiomaterials: From Chaperoning Engineering to Biomedical Applications. *Chemical Record* **2010**, 10, 366–376.

(60) Vinogradov, S.; Batrakova, E.; Kabanov, A. Poly(ethylene glycol)-polyethyleneimine NanoGel (TM) particles: novel drug delivery systems for antisense oligonucleotides. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces* **1999**, 16, 291–304.

(61) Singh, N.; Lyon, L. A. Au Nanoparticle Templated Synthesis of pNIPAm Nanogels. *Chemistry of Materials* **2007**, 19, 719–726.

(62) Ghaemy, M.; Naseri, M. Synthesis of chitosan networks: Swelling, drug release, and magnetically assisted BSA separation using Fe3O4 nanoparticles. *Carbohydrate Polymers* **2012**, 90, 1265–1272.

(63) Van Thienen, T. G.; Raemdonck, K.; Demeester, J.; De Smedt, S. C. Protein Release from Biodegradable Dextran Nanogels. *Langmuir* **2007**, 23, 9794–9801.

(64) Shi, L.; Berkland, C. Acid-Labile Polyvinylamine Micro- and Nanogel Capsules. *Macromolecules* **2007**, 40, 4635–4643.

(65) Wissing, S.; Kayser, O.; Müller, R. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2004**, 56, 1257–1272.

(66) Müller, R. H.; Mäder, K.; Gohla, S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2000**, 50, 161–177.

(67) Mehnert, W.; Mäder, K. Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2001**, 47, 165–196.

(68) Almeida, A. J.; Souto, E. Solid lipid nanoparticles as a drug delivery system for peptides and proteins. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2007**, 59, 478–490.

(69) Blasi, P.; Glovagnoli, S.; Schoubben, A.; Ricci, M.; Rossi, C. Solid lipid nanoparticles for targeted brain drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2007**, 59, 454–477.

(70) Huang, H.-C.; Barua, S.; Sharma, G.; Dey, S. K.; Rege, K. Inorganic nanoparticles for cancer imaging and therapy. *Journal of Controlled Release* **2011**, 155, 344–357.

(71) Bhattacharyya, S.; Kudgus, R. A.; Bhattacharya, R.; Mukherjee, P. Inorganic Nanoparticles in Cancer Therapy. *Pharmaceutical Research* **2011**, 28, 237–259.

(72) Son, S. J.; Bai, X.; Lee, S. B. Inorganic hollow nanoparticles and nanotubes in nanomedicine: Part 1. Drug/gene delivery applications. *Drug Discovery Today* **2007**, 12, 650–656.

(73) Trewyn, B. G.; Slowing, I. I.; Giri, S.; Chen, H.-T.; Lin, V. S.-Y. Synthesis and functionalization of a mesoporous silica nanoparticle based on the sol-gel process and applications in controlled release. *Accounts of Chemical Research* **2007**, 40, 846–853.

(74) Kim, C. K.; Ghosh, P.; Pagliuca, C.; zhu, Z.-J.; Menichetti, S.; Rotello, V. M. Entrapment of Hydrophobic Drugs in Nanoparticle Monolayers with Efficient Release into Cancer Cells. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, 131, 1360–1361.

(75) Zhang, X.-Q.; Xu, X.; Lam, R.; Giljohann, D.; Ho, D.; Mirkin, C. A. Strategy for Increasing Drug Solubility and Efficacy through Covalent Attachment to Polyvalent DNA - Nanoparticle Conjugates. *Acs Nano* **2011**, 5, 6962–6970.

(76) Kim, C. S.; Tonga, G. Y.; Solfiell, D.; Rotello, V. M. Inorganic nanosystems for therapeutic delivery: Status and prospects. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2013**, 65, 93–99.

(77) Mintzer, M. A.; Grinstaff, M. W. Biomedical applications of dendrimers: a tutorial. *Chemical Society Reviews* **2010**, 40, 173–190.

(78) Hawker, C.; Frechet, J. A New Convergent Approach to Monodisperse Dendritic Macromolecules. *Journal of the Chemical Society-Chemical Communications* **1990**, 1010–1013.

(79) Buhleier, E.; Wehner, W.; VöGtle, F. "Cascade"- and "Nonskid-Chain-like" Syntheses of Molecular Cavity Topologies. *Synthesis* **1978**, 1978, 155–158.

(80) Arima, H.; Motoyama, K. Recent Findings Concerning PAMAM Dendrimer Conjugates with Cyclodextrins as Carriers of DNA and RNA. *Sensors* **2009**, 9, 6346–6361.

(81) Fox, M. E.; Guillaudeu, S.; Frechet, J. M. J.; Jerger, K.; Macaraeg, N.; Szoka, F. C. Synthesis and In Vivo Antitumor Efficacy of PEGylated Poly(L-lysine) Dendrimer-Camptothecin Conjugates. *Molecular Pharmaceutics* **2009**, 6, 1562–1572.

(82) Six, J.-L.; Gnanou, Y. From star-shaped to dendritic poly(ethylene oxide)s: Toward increasingly branched architectures by anionic polymerization. *Macromolecular Symposia* **1995**, 95, 137–150.

(83) Feng, X.-S.; Taton, D.; Chaikof, E. L.; Gnanou, Y. Toward an easy access to dendrimer-like poly(ethylene oxide)s. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, 127, 10956–10966.

(84) Fox, M. E.; Szoka, F. C.; Frechet, J. M. J. Soluble Polymer Carriers for the Treatment of Cancer: The Importance of Molecular Architecture. *Accounts of Chemical Research* **2009**, 42, 1141–1151.

(85) Svenson, S.; Tomalia, D. A. Dendrimers in biomedical applications—reflections on the field. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2005**, 57, 2106–2129.

(86) Perez-Anes, A.; Spataro, G.; Coppel, Y.; Moog, C.; Blanzat, M.; Turrin, C.-O.; Caminade, A.-M.; Rico-Lattes, I.; Majoral, J.-P. Phosphonate terminated PPH dendrimers: influence of pendant alkyl chains on the in vitro anti-HIV-1 properties. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2009**, 7, 3491–3498.

(87) Chen, C. Z. S.; Beck-Tan, N. C.; Dhurjati, P.; van Dyk, T. K.; LaRossa, R. A.; Cooper, S. L. Quaternary ammonium functionalized poly(propylene imine) dendrimers as effective antimicrobials: Structure-activity studies. *Biomacromolecules* **2000**, 1, 473–480.

(88) Boas, U.; Heegaard, P. M. H. Dendrimers in drug research. *Chemical Society Reviews* **2004**, 33, 43–63.

(89) Rodríguez-Hernández, J.; Chécot, F.; Gnanou, Y.; Lecommandoux, S. Toward "smart" nano-objects by self-assembly of block copolymers in solution. *Progress in Polymer Science* **2005**, 30, 691–724.

(90) Zhang, L.; Eisenberg, A. Formation of crew-cut aggregates of various morphologies from amphiphilic block copolymers in solution. *Polymers for Advanced Technologies* **1998**, 9, 677–699.

(91) Forster, S.; Plantenberg, T. From self-organizing polymers to nanohybrid and biomaterials. *Angewandte Chemie-International Edition* **2002**, 41, 689–714.

(92) Israelachvili, J. N.; Mitchell, D. J.; Ninham, B. W. Theory of self-assembly of lipid bilayers and vesicles. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **1977**, 470, 185–201.

(93) Zhang, J.; Li, X.; Li, X. Stimuli-triggered structural engineering of synthetic and biological polymeric assemblies. *Progress in Polymer Science* **2012**, 37, 1130–1176.

(94) Discher, D. E.; Eisenberg, A. Polymer vesicles. *Science* **2002**, 297, 967–973.

(95) Malmsten, M. Soft drug delivery systems. *Soft Matter* **2006**, 2, 760–769.

(96) Qian, J.; Zhang, M.; Manners, I.; Winnik, M. A. Nanofiber micelles from the self-assembly of block copolymers. *Trends in Biotechnology* **2010**, 28, 84–92.

(97) Gong, J.; Chen, M.; Zheng, Y.; Wang, S.; Wang, Y. Polymeric micelles drug delivery system in oncology. *Journal of Controlled Release* **2012**, 159, 312–323.

(98) Tanner, P.; Baumann, P.; Enea, R.; Onaca, O.; Palivan, C.; Meier, W. Polymeric Vesicles: From Drug Carriers to Nanoreactors and Artificial Organelles. *Accounts of Chemical Research* **2011**, 44, 1039–1049.

(99) Ebrahim Attia, A. B.; Ong, Z. Y.; Hedrick, J. L.; Lee, P. P.; Ee, P. L. R.; Hammond, P. T.; Yang, Y.-Y. Mixed micelles self-assembled from block copolymers for drug delivery. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2011**, 16, 182–194.

(100) Miyata, K.; Christie, R. J.; Kataoka, K. Polymeric micelles for nano-scale drug delivery. *Reactive and Functional Polymers* **2011**, 71, 227–234.

(101) Kim, S.; Kim, J.-H.; Jeon, O.; Kwon, I. C.; Park, K. Engineered polymers for advanced drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2009**, 71, 420–430.

(102) Zhang, L.; Bernard, J.; Davis, T. P.; Barner-Kowollik, C.; Stenzel, M. H. Acid-Degradable Core-Crosslinked Micelles Prepared from Thermosensitive Glycopolymers Synthesized via RAFT Polymerization. *Macromolecular Rapid Communications* **2008**, 29, 123–129.

(103) Chandrawati, R.; Caruso, F. Biomimetic Liposome- and Polymersome-Based Multicompartmentalized Assemblies. *Langmuir* **2012**, 28, 13798–13807.

(104) Lian, T.; Ho, R. J. Y. Trends and developments in liposome drug delivery systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2001**, 90, 667–680.

(105) Bangham, A. D.; Standish, M. M.; Watkins, J. C. Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *Journal of Molecular Biology* **1965**, 13, 238–252.

(106) Vyas, S. P.; Khatri, K. Liposome-based drug delivery to alveolar macrophages. *Expert Opinion on Drug Delivery* **2007**, 4, 95–99.

(107) Li, S.-D.; Huang, L. Stealth nanoparticles: High density but sheddable PEG is a key for tumor targeting. *Journal of Controlled Release* **2010**, 145, 178–181.

(108) Wei, M.; Xu, Y.; Zou, Q.; Tu, L.; Tang, C.; Xu, T.; Deng, L.; Wu, C. Hepatocellular carcinoma targeting effect of PEGylated liposomes modified with lactoferrin. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2012**, 46, 131–141.

(109) Kim, C.-E.; Lim, S.-K.; Kim, J.-S. In vivo antitumor effect of cromolyn in PEGylated liposomes for pancreatic cancer. *Journal of Controlled Release* **2012**, 157, 190–195.

(110) Bae, Y. H.; Park, K. Targeted drug delivery to tumors: Myths, reality and possibility. *Journal of Controlled Release* **2011**, 153, 198–205.

(111) Brinkhuis, R. P.; Rutjes, F. P. J. T.; Hest, J. C. M. van Polymeric vesicles in biomedical applications. *Polymer Chemistry* **2011**, 2, 1449–1462.

(112) Lee, J. S.; Feijen, J. Polymersomes for drug delivery: Design, formation and characterization. *Journal of Controlled Release* **2012**, 161, 473–483.

(113) Discher, B. M.; Won, Y. Y.; Ege, D. S.; Lee, J. C. M.; Bates, F. S.; Discher, D. E.; Hammer, D. A. Polymersomes: Tough vesicles made from diblock copolymers. *Science* **1999**, 284, 1143–1146.

(114) Smart, T.; Lomas, H.; Massignani, M.; Flores-Merino, M. V.; Perez, L. R.; Battaglia, G. Block copolymer nanostructures. *Nano Today* **2008**, 3, 38–46.

(115) Christian, D. A.; Cai, S.; Bowen, D. M.; Kim, Y.; Pajerowski, J. D.; Discher, D. E. Polymersome carriers: From self-assembly to siRNA and protein therapeutics. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2009**, 71, 463–474.

(116) Letchford, K.; Burt, H. A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2007**, 65, 259–269.

(117) Kita-Tokarczyk, K.; Grumelard, J.; Haefele, T.; Meier, W. Block copolymer vesicles—using concepts from polymer chemistry to mimic biomembranes. *Polymer* **2005**, 46, 3540–3563.

(118) Blanazs, A.; Armes, S. P.; Ryan, A. J. Self-Assembled Block Copolymer Aggregates: From Micelles to Vesicles and their Biological Applications. *Macromolecular Rapid Communications* **2009**, 30, 267–277.

(119) Lecommandoux, S.; Borsali, R. On the physics of block copolymers. *Polymer International* **2006**, 55, 1161–1168.

(120) Lee, J. C.-M.; Bermudez, H.; Discher, B. M.; Sheehan, M. A.; Won, Y.-Y.; Bates, F. S.; Discher, D. E. Preparation, stability, and in vitro performance of vesicles made with diblock copolymers. *Biotechnology and Bioengineering* **2001**, 73, 135–145.

(121) Li, S.; Byrne, B.; Welsh, J.; Palmer, A. F. Self-assembled poly(butadiene)-b-poly(ethylene oxide) polymersomes as paclitaxel carriers. *Biotechnology Progress* **2007**, 23, 278–285.

(122) Li, S.; Palmer, A. F. Structure and Mechanical Response of Self-Assembled Poly(butadiene)-b-poly(ethylene oxide) Colloids Probed by Atomic Force Microscopy. *Macromolecules* **2005**, 38, 5686–5698.

(123) Luo, L. B.; Eisenberg, A. Thermodynamic size control of block copolymer vesicles in solution. *Langmuir* **2001**, 17, 6804–6811.

(124) Houga, C.; Giermanska, J.; Lecommandoux, S.; Borsali, R.; Taton, D.; Gnanou, Y.; Le Meins, J.-F. Micelles and Polymersomes Obtained by Self-Assembly of Dextran and Polystyrene Based Block Copolymers. *Biomacromolecules* **2009**, 10, 32–40.

(125) Colombani, O.; Ruppel, M.; Burkhardt, M.; Drechsler, M.; Schumacher, M.; Gradzielski, M.; Schweins, R.; Mueller, A. H. E. Structure of micelles of poly(n-butyl acrylate)-block-poly (acrylic acid) diblock copolymers in aqueous solution. *Macromolecules* **2007**, 40, 4351–4362.

(126) Riess, G. Micellization of block copolymers. *Progress in Polymer Science* **2003**, 28, 1107–1170.

(127) Lee, H. J.; Yang, S. R.; An, E. J.; Kim, J.-D. Biodegradable polymersomes from poly(2-hydroxyethyl aspartamide) grafted with lactic acid oligomers in aqueous solution. *Macromolecules* **2006**, 39, 4938–4940.

(128) Kim, M. S.; Lee, D. S. Biodegradable and pH-sensitive polymersome with tuning permeable membrane for drug delivery carrier. *Chemical Communications* **2010**, 46, 4481–4483.

(129) Babinot, J.; Guigner, J.-M.; Renard, E.; Langlois, V. Poly(3-hydroxyalkanoate)-derived amphiphilic graft copolymers for the design of polymersomes. *Chemical Communications* **2012**, 48, 5364–5366.

(130) Olsen, B. D.; Segalman, R. A. Self-assembly of rod–coil block copolymers. *Materials Science and Engineering: R: Reports* **2008**, 62, 37–66.

(131) Olsen, B. D.; Segalman, R. A. Phase Transitions in Asymmetric Rod−Coil Block Copolymers. *Macromolecules* **2006**, 39, 7078–7083.

(132) Klok, H. A.; Lecommandoux, S. Supramolecular materials via block copolymer self-assembly. *Advanced Materials* **2001**, 13, 1217–1229.

(133) Liu, C.-L.; Lin, C.-H.; Kuo, C.-C.; Lin, S.-T.; Chen, W.-C. Conjugated rod-coil block copolymers: Synthesis, morphology, photophysical properties, and stimuli-responsive applications. *Progress in Polymer Science* **2011**, 36, 603–637.

(134) Li, M.-H.; Keller, P. Stimuli-responsive polymer vesicles. *Soft Matter* **2009**, 5, 927–937.

(135) Onaca, O.; Enea, R.; Hughes, D. W.; Meier, W. Stimuli-Responsive Polymersomes as Nanocarriers for Drug and Gene Delivery. *Macromolecular Bioscience* **2009**, 9, 129–139.

(136) Kim, J. H.; Li, Y.; Kim, M. S.; Kang, S. W.; Jeong, J. H.; Lee, D. S. Synthesis and evaluation of biotin-conjugated pH-responsive polymeric micelles as drug carriers. *International Journal of Pharmaceutics* **2012**, 427, 435–442.

(137) Xu, Q.; Yi, J.; Zhang, X.; Zhang, H. A novel amphotropic polymer based on cellulose nanocrystals grafted with azo polymers. *European Polymer Journal* **2008**, 44, 2830–2837.

(138) Sluckin, T. J.; Dunmur, D. (David A.); Stegemeyer, H. *Crystals That Flow: Classic Papers from the History of Liquid Crystals*; CRC Press, **2004**.

(139) Lagerwall, J. P. F.; Scalia, G. A new era for liquid crystal research: Applications of liquid crystals in soft matter nano-, bio- and microtechnology. *Current Applied Physics* **2012**, 12, 1387–1412.

(140) Hamley, I. W. *Introduction to Soft Matter: Polymers, Colloids Amphiphiles, and Liquid Crystals*; John Wiley & Sons Ltd, 2000.

(141) Jia, L.; Cao, A.; Lévy, D.; Xu, B.; Albouy, P.-A.; Xing, X.; Bowick, M. J.; Li, M.-H. Smectic polymer vesicles. *Soft Matter* **2009**, 5, 3446–3451.

(142) Kumar, S.; Varshney, S. K. Design and Synthesis of Discotic Nematic Liquid Crystals. *Organic Letters* **2002**, 4, 157–159.

(143) Godzwon, J.; Sienkowska, M. J.; Galewski, Z. Smectic polymorphism of 4-nonyloxybenzylidene-4′-alkyloxyanilines. *Journal of Molecular Structure* **2007**, *844*, 259–267.

(144) Majumdar, K. C.; De, N.; Roy, B.; Bhaumik, A. Synthesis and mesophase characterisation of a series of new triazine-based disc-shaped molecules. *Liquid Crystals* **2010**, 37, 1459–1464.

(145) Gibbons, G. F. From gallstones to genes: Two hundred years of sterol research. A tribute to George J. Schroepfer Jr. *Lipids* **2002**, 37, 1153–1162.

(146) Nes, W. D. Biosynthesis of Cholesterol and Other Sterols. *Chemical Reviews* **2011**, 111, 6423–6451.

(147) Iqbal, J.; Hussain, M. M. Intestinal lipid absorption. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* **2009**, 296, E1183–E1194.

(148) Wilson, M. D.; Rudel, L. L. Review of cholesterol absorption with emphasis on dietary and biliary cholesterol. *Journal of lipid research* **1994**, 35, 943–955.

(149) Urata, K.; Takaishi, N. Cholesterol as synthetic building blocks for artificial lipids with characteristic physical, chemical and biological properties. *European Journal of Lipid Science and Technology* **2001**, 103, 29–39.

(150) Chen, Z.-Y.; Jiao, R.; Ma, K. Y. Cholesterol-Lowering Nutraceuticals and Functional Foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2008**, 56, 8761–8773.

(151) Wang, B.; Du, H.; Zhang, J. Synthesis and characterisation of new types of side chain cholesteryl polymers. *Steroids* **2011**, 76, 204–209.

(152) He, S.-J.; Zhang, Y.; Cui, Z.-H.; Tao, Y.-Z.; Zhang, B.-L. Controlled radical polymerization of cholesteryl acrylate and its block copolymer with styrene via the RAFT process. *European Polymer Journal* **2009**, 45, 2395–2401.

(153) Yu, Y.; Du, H.; Zhang, J. Self-assembly of novel cholesterol derivative based on hydrogen bond. *Journal of Molecular Structure* **2011**, 1005, 107–112.

(154) Yu, Y.-L.; Zhang, J.-H. Synthesis and characterization of novel cholesterol derivatives with or without spacer. *Journal of Molecular Structure* **2012**, 1012, 12–16.

(155) Cui, Z.; Zhang, Y.; He, S. Synthesis of a side chain liquid crystalline polymer containing the cholesteryl moiety via ROP and “click” chemistry. *Colloid and Polymer Science* **2008**, 286, 1553–1559.

(156) Yu, Y.-L.; Bai, J.-W.; Zhang, J.-H. Synthesis and characterization of side-chain cholesterol derivatives based on double bond. *Journal of Molecular Structure* **2012**, 1019, 1–6.

(157) Xu, J.; Tao, L.; Boyer, C.; Lowe, A. B.; Davis, T. P. Facile Access to Polymeric Vesicular Nanostructures: Remarkable omega-End group Effects in Cholesterol and Pyrene Functional (Co)Polymers. *Macromolecules* **2011**, 44, 299–312.

(158) Haddleton, D. M.; Edmonds, R.; Heming, A. M.; Kelly, E. J.; Kukulj, D. Atom transfer polymerisation with glucose and cholesterol derived initiators. *New Journal of Chemistry* **1999**, 23, 477–479.

(159) Yusa, S.; Kamachi, M.; Morishima, Y. Self-Association of Cholesterol-End-Capped Poly(sodium 2-(acrylamido)-2-methylpropanesulfonate) in Aqueous Solution. *Macromolecules* **2000**, 33, 1224–1231.

(160) Xu, J.-P.; Ji, J.; Chen, W.-D.; Shen, J.-C. Novel Biomimetic Surfactant: Synthesis and Micellar Characteristics. *Macromolecular Bioscience* **2005**, 5, 164–171.

(161) Xu, J.-P.; Ji, J.; Chen, W.-D.; Shen, J.-C. Novel biomimetic polymersomes as polymer therapeutics for drug delivery. *Journal of Controlled Release* **2005**, 107, 502–512.

(162) Hwang, J. J.; Iyer, S. N.; Li, L.-S.; Claussen, R.; Harrington, D. A.; Stupp, S. I. Self-assembling biomaterials: Liquid crystal phases of cholesteryl oligo(l-lactic acid) and their interactions with cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2002**, 99, 9662–9667.

(163) Klok, H. A.; Hwang, J. J.; Iyer, S. N.; Stupp, S. I. Cholesteryl-(L-lactic acid)((n)over-bar) building blocks for self-assembling biomaterials. *Macromolecules* **2002**, 35, 746–759.

(164) Zou, T.; Cheng, S.-X.; Zhuo, R.-X. Synthesis and enzymatic degradation of end-functionalized biodegradable polyesters. *Colloid and Polymer Science* **2005**, 283, 1091–1099.

(165) Zhang, L.; Wang, Q. R.; Jiang, X. S.; Cheng, S. X.; Zhuo, R. X. Studies on functionalization of poly(e-caprolactone) by a cholesteryl moiety. *Journal of Biomaterials Science-Polymer Edition* **2005**, 16, 1095–1108.

(166) Wan, T.; Zou, T.; Cheng, S. X.; Zhuo, R. X. Synthesis and characterization of biodegradable cholesteryl end-capped polycarbonates. *Biomacromolecules* **2005**, 6, 524–529.

(167) Zhao, J.; Jeromenok, J.; Weber, J.; Schlaad, H. Thermoresponsive Aggregation Behavior of Triterpene-Poly(ethylene oxide) Conjugates in Water. *Macromolecular Bioscience* **2012**, 12, 1272–1278.

(168) Yusa, S. Self-Assembly of Cholesterol-Containing Water-Soluble Polymers. *International Journal of Polymer Science* **2012**, 2012, 1–10.

(169) Liu, X. M.; Yang, Y. Y.; Leong, K. W. Thermally responsive polymeric micellar nanoparticles self-assembled from cholesteryl end-capped random poly(N-isopropylacrylamide-co-N,N-dimethylacrylamide): synthesis, temperature-sensitivity, and morphologies. *Journal of Colloid and Interface Science* **2003**, 266, 295–303.

(170) Kostakis, K.; Mourmouris, S.; Charalabidis, D.; Pitsikalis, M. Association behavior of polyisoprenes having cholesterol and phosphatidylcholine analogous end groups. *The European Physical Journal E - Soft Matter* **2003**, 10, 55–63.

(171) Liu, L.; Guo, K.; Lu, J.; Venkatraman, S. S.; Luo, D.; Ng, K. C.; Ling, E.-A.; Moochhala, S.; Yang, Y.-Y. Biologically active core/shell nanoparticles self-assembled from cholesterol-terminated PEG–TAT for drug delivery across the blood–brain barrier. *Biomaterials* **2008**, 29, 1509–1517.

(172) Afifi, H.; da Silva, M. A.; Nouvel, C.; Six, J.-L.; Ligoure, C.; Dreiss, C. A. Associative networks of cholesterol-modified dextran with short and long micelles. *Soft Matter* **2011**, 7, 4888–4899.

(173) Long, L.; Yuan, X.; Chang, J.; Zhang, Z.; Gu, M.; Song, T.; Xing, Y.; Yuan, X.; Jiang, S.; Sheng, J. Self-assembly of polylactic acid and cholesterol-modified dextran into hollow nanocapsules. *Carbohydrate Polymers* **2012**, 87, 2630–2637.

(174) Zhang, C.; Liu, D.; Zhou, B.; Deng, J.; Yang, W. Poly(N-propargylamide)s bearing cholesteryl moieties: Preparation and optical activity. *Reactive and Functional Polymers* **2012**, 72, 832–838.

(175) Zhou, Y.; Kas, R. M. Synthesis and Characterization of Polycholesteryl Methacrylate-Polyhydroxyethyl Methyacrylate Block Copolymers. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2008**, 46, 6801–6809.

(176) Ahn, S.-K.; Le, L. T. N.; Kasi, R. M. Synthesis and Characterization of Side-Chain Liquid Crystalline Polymers Bearing Cholesterol Mesogen. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2009**, 47, 2690–2701.

(177) Ahn, S.; Gopinadhan, M.; Deshmukh, P.; Lakhman, R. K.; Osuji, C. O.; Kasi, R. M. Cholesteric mesophase in side-chain liquid crystalline polymers: influence of mesogen interdigitation and motional decoupling. *Soft Matter* **2012**, 8, 3185–3191.

(178) Xu, J. P.; Ji, J.; Chen, W. D.; Shen, J. C. Novel biomimetic surfactant: Synthesis and micellar characteristics. *Macromolecular Bioscience* **2004**, 5, 164–171.

(179) Boisse, S.; Rieger, J.; Di-Cicco, A.; Albouy, P.-A.; Bui, C.; Li, M.-H.; Charleux, B. Synthesis via RAFT of Amphiphilic Block Copolymers with Liquid-Crystalline Hydrophobic Block and Their Self-Assembly in Water. *Macromolecules* **2009**, 42, 8688–8696.

(180) Zhang, X.; Boissé, S.; Bui, C.; Albouy, P.-A.; Brûlet, A.; Li, M.-H.; Rieger, J.; Charleux, B. Amphiphilic liquid-crystal block copolymer nanofibers via RAFT-mediated dispersion polymerization. *Soft Matter* **2012**, 8, 1130–1141.

(181) Liu, Y.; Wang, Y.; Zhuang, D.; Yang, J.; Yang, J. Bionanoparticles of amphiphilic copolymers polyacrylate bearing cholesterol and ascorbate for drug delivery. *Journal of Colloid and Interface Science* **2012**, 377, 197–206.

(182) Chern, C. S.; Chiu, H. C.; Chuang, Y. C. Synthesis and characterization of amphiphilic graft copolymers with poly(ethylene glycol) and cholesterol side chains. *Polymer International* **2004**, 53, 420–429.

(183) Pinol, R.; Jia, L.; Gubellini, F.; Levy, D.; Albouy, P.-A.; Keller, P.; Cao, A.; Li, M.-H. Self-assembly of PEG-b-Liquid crystal polymer: The role of smectic order in the formation of nanofibers. *Macromolecules* **2007**, 40, 5625–5627.

(184) Jia, L.; Liu, M.; Di Cicco, A.; Albouy, P.-A.; Brissault, B.; Penelle, J.; Boileau, S.; Barbier, V.; Li, M.-H. Self-Assembly of Amphiphilic Liquid Crystal Polymers Obtained from a Cyclopropane-1,1-Dicarboxylate Bearing a Cholesteryl Mesogen. *Langmuir* **2012**, 28, 11215–11224.

(185) Zhou, Y.; Ahn, S.; Lakhman, R. K.; Gopinadhan, M.; Osuji, C. O.; Kasi, R. M. Tailoring Crystallization Behavior of PEO-Based Liquid Crystalline Block Copolymers through Variation in Liquid Crystalline Content. *Macromolecules* **2011**, 44, 3924–3934.

(186) Mahmud, A.; Patel, S.; Molavi, O.; Choi, P.; Samuel, J.; Lavasanifar, A. Self-Associating Poly(ethylene oxide)-b-poly(alpha-cholesteryl carboxylate-epsilon-caprolactone) Block Copolymer for the Solubilization of STAT-3 Inhibitor Cucurbitacin I. *Biomacromolecules* **2009**, 10, 471–478.

(187) Jia, L.; Albouy, P.-A.; Di Cicco, A.; Cao, A.; Li, M.-H. Self-assembly of amphiphilic liquid crystal block copolymers containing a cholesteryl mesogen: Effects of block ratio and solvent. *Polymer* **2011**, 52, 2565–2575.

(188) Yang, J.; Levy, D.; Deng, W.; Keller, P.; Li, M. H. Polymer vesicles formed by amphiphilic diblock copolymers containing a thermotropic liquid crystalline polymer block. *Chemical Communications* **2005**, 34, 4345–4347.

(189) Yang, J.; Piñol, R.; Gubellini, F.; Lévy, D.; Albouy, P.-A.; Keller, P.; Li, M.-H. Formation of Polymer Vesicles by Liquid Crystal Amphiphilic Block Copolymers. *Langmuir* **2006**, 22, 7907–7911.

(190) Kadokawa, J. Precision Polysaccharide Synthesis Catalyzed by Enzymes. *Chemical Reviews* **2011**, 111, 4308–4345.

(191) Hassani, L. N.; Hendra, F.; Bouchemal, K. Auto-associative amphiphilic polysaccharides as drug delivery systems. *Drug Discovery Today* **2012**, 17, 608–614.

(192) Saravanakumar, G.; Jo, D.-G.; Park, J. H. Polysaccharide-Based Nanoparticles: A Versatile Platform for Drug Delivery and Biomedical Imaging. *Current Medicinal Chemistry* **2012**, 19, 3212–3229.

(193) Boddohi, S.; Kipper, M. J. Engineering Nanoassemblies of Polysaccharides. *Advanced Materials* **2010**, 22, 2998–3016.

(194) Sakiyama-Elbert, S. E.; Hubbell, J. A. Controlled release of nerve growth factor from a heparin-containing fibrin-based cell ingrowth matrix. *Journal of Controlled Release* **2000**, 69, 149–158.

(195) Muzzarelli, R. A. A. Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone. *Carbohydrate Polymers* **2009**, 76, 167–182.

(196) Zong, A.; Cao, H.; Wang, F. Anticancer polysaccharides from natural resources: A review of recent research. *Carbohydrate Polymers* **2012**, 90, 1395–1410.

(197) Jain, K.; Kesharwani, P.; Gupta, U.; Jain, N. K. A review of glycosylated carriers for drug delivery. *Biomaterials* **2012**, 33, 4166–4186.

(198) Osterberg, E.; Bergstrom, K.; Holmberg, K.; Schuman, T.; Riggs, J.; Burns, N.; Vanalstine, J.; Harris, J. Protein-Rejecting Ability of Surface-Bound Dextran in End-on and Side-on Configurations - Comparison to Peg. *Journal of Biomedical Materials Research* **1995**, 29, 741–747.

(199) Massia, S. P.; Stark, J.; Letbetter, D. S. Surface-immobilized dextran limits cell adhesion and spreading. *Biomaterials* **2000**, 21, 2253–2261.

(200) Heinze, T.; Liebert, T.; Heublein, B.; Hornig, S. Functional polymers based on dextran. In Polysaccharides II; *Klemm, D., Ed.; Springer-Verlag Berlin: Berlin*, **2006**; 205, 199–291.

(201) Cote, G. L.; Leathers, T. D. A method for surveying and classifying Leuconostoc spp. glucansucrases according to strain-dependent acceptor product patterns. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* **2005**, 32, 53–60.

(202) Jeanes, A.; Haynes, W. C.; Wilham, C. A.; Rankin, J. C.; Melvin, E. H.; Austin, M. J.; Cluskey, J. E.; Fisher, B. E.; Tsuchiya, H. M.; Rist, C. E. Characterization and Classification of Dextrans from Ninety-six Strains of Bacteria1b. *Journal of the American Chemical Society* **1954**, 76, 5041–5052.

(203) Naessens, M.; Cerdobbel, A.; Soetaert, W.; Vandamme, E. J. Leuconostoc dextransucrase and dextran: production, properties and applications. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* **2005**, 80, 845–860.

(204) Mao, X.; Wang, S.; Kan, F.; Wei, D.; Li, F. A Novel Dextran Dextrinase from Gluconobacter oxydans DSM-2003: Purification and Properties. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **2012**, 168, 1256–1264.

(205) Jiménez, E. R. Dextranase in sugar industry: A review. *Sugar Tech* **2009**, 11, 124–134.

(206) Khalikova, E.; Susi, P.; Korpela, T. Microbial Dextran-Hydrolyzing Enzymes: Fundamentals and Applications. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **2005**, 69, 306–325.

(207) Sery, T. W.; Hehre, E. J. Degradation of dextrans by enzymes of intestinal bacteria1. *Journal of Bacteriology* **1956**, 71, 373–380.

(208) Kim, D.; Day, D. F. A new process for the production of clinical dextran by mixed-culture fermentation of Lipomyces starkeyi and Leuconostoc mesenteroides. *Enzyme and Microbial Technology* **1994**, 16, 844–848.

(209) Kaewprapan, K.; Inprakhon, P.; Marie, E.; Durand, A. Enzymatically degradable nanoparticles of dextran esters as potential drug delivery systems. *Carbohydrate Polymers* **2012**, 88, 875–881.

(210) Hirata, Y.; Sano, Y.; Aoki, M.; Shohji, H.; Katoh, S.; Abe, J.; Hitsukuri, S.; Yamamoto, H. Small-angle X-ray scattering studies of moderately concentrated dextran solution. *Carbohydrate Polymers* **2003**, 53, 331–335.

(211) Hirata; Sano; Aoki; Kobatake; Kato; Yamamoto Structural Change in Dextran: Mechanism of Insolubilization by Adsorption on the Air-Liquid Interface. *Journal of colloid and interface science* **1999**, 212, 530–534.

(212) Manufacture Op Infusion and Injection Fluids. U.S. Patent 2,437,518, March 9, 1948.

(213) Thorén, L. Dextran as a plasma volume substitute. *Progress in clinical and biological research* **1978**, 19, 265–282.

(214) Bushell, M. E. Microbial polysaccharides. *Elsevier: Amsterdam*, **1983,** 18.

(215) Steinbüchel, A.; Rhee, S. K. Polysaccharides And Polyamides in the Food Industry: Properties, Production, And Patents. *Wiley-VCH*, **2005**.

(216) Hershline, R. K. Antiviral composition. *6821958*, **November 23, 2004**.

(217) Nilsson, B.; Korsgren, O. New Use of Dextran Sulfate. *WO/2004/047848*, **June 11, 2004**.

(218) Karewicz, A.; Bielska, D.; Nowakowska, M. Modified Polysaccharides as Versatile Materials in Controlled Delivery of Antidegenerative Agents. *Current Pharmaceutical Design* **2012**, 18, 2518–2535.

(219) Mehvar, R.; Dann, R. O.; Hoganson, D. A. Kinetics of hydrolysis of dextran-methylprednisolone succinate, a macromolecular prodrug of methylprednisolone, in rat blood and liver lysosomes. *Journal of Controlled Release* **2000**, 68, 53–61.

(220) Stillman, I. E.; Andoh, T. F.; Burdmann, E. A.; Bennett, W. M.; Rosen, S. FK506 nephrotoxicity: Morphologic and physiologic characterization of a rat model. *Laboratory Investigation* **1995**, 73, 794–803.

(221) Moutabarrik, A.; Ishibashi, M.; Fukunaga, M.; Kameoka, H.; Kawaguchi, N.; Takano, Y.; Kokado, Y.; Sonoda, T.; Onishi, S.; Takahara, S.; Okuyama, A. Fk506-Induced Kidney Tubular Cell Injury. *Transplantation* **1992**, 54, 1041–1047.

(222) Yura, H.; Yoshimura, N.; Hamashima, T.; Akamatsu, K.; Nishikawa, M.; Takakura, Y.; Hashida, M. Synthesis and pharmacokinetics of a novel macromolecular prodrug of Tacrolimus (FK506), FK506-dextran conjugate. *Journal of Controlled Release* **1999**, 57, 87–99.

(223) Shrivastava, S. K.; Jain, D. K.; Shrivastava, P. K.; Trivedi, P. Flurbiprofen- and Suprofen-Dextran Conjugates: Synthesis, Characterization and Biological Evaluation. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* **2009**, 8, 221–229.

(224) Harada, M.; Murata, J.; Sakamura, Y.; Sakakibara, H.; Okuno, S.; Suzuki, T. Carrier and dose effects on the pharmacokinetics of T-0128, a camtothecin analogue-carboxymethyl dextran conjugate, in non-tumor- and tumor-bearing rats. *Journal of Controlled Release* **2001**, 71, 71–86.

(225) Chau, Y.; Tan, F. E.; Langer, R. Synthesis and characterization of dextran-peptide-methotrexate conjugates for tumor targeting via mediation by matrix metalloproteinase. *Bioconjugate Chemistry* **2004**, 15, 931–941.

(226) Droumaguet, B. L.; Nicolas, J. Recent advances in the design of bioconjugates from controlled/living radical polymerization. *Polymer Chemistry* **2010**, 1, 563–598.

(227) Dove, A. The bittersweet promise of glycobiology. *Nature Biotechnology* **2001**, 19, 913–917.

(228) Dwek, R. A. Glycobiology: Toward Understanding the Function of Sugars. *Chemical Reviews* **1996**, 96, 683–720.

(229) Becer, C. R. The Glycopolymer Code: Synthesis of Glycopolymers and Multivalent Carbohydrate-Lectin Interactions. *Macromolecular Rapid Communications* **2012**, 33, 742–752.

(230) Ting, S. R. S.; Chen, G.; Stenzel, M. H. Synthesis of glycopolymers and their multivalent recognitions with lectins. *Polymer Chemistry* **2010**, 1, 1392–1412.

(231) Okada, M. Molecular design and syntheses of glycopolymers. *Progress in Polymer Science* **2001**, 26, 67–104.

(232) Ladmiral, V.; Melia, E.; Haddleton, D. M. Synthetic glycopolymers: an overview. *European Polymer Journal* **2004**, 40, 431–449.

(233) Mizrahy, S.; Peer, D. Polysaccharides as building blocks for nanotherapeutics. *Chemical Society Reviews* **2012**, 41, 2623–2640.

(234) Liu, Z.; Jiao, Y.; Wang, Y.; Zhou, C.; Zhang, Z. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2008**, 60, 1650–1662.

(235) Baldwin, A. D.; Kiick, K. L. Polysaccharide-Modified Synthetic Polymeric Biomaterials. *Biopolymers* **2010**, 94, 128–140.

(236) Van Dongen, S. F. M.; de Hoog, H.-P. M.; Peters, R. J. R. W.; Nallani, M.; Nolte, R. J. M.; van Hest, J. C. M. Biohybrid Polymer Capsules. *Chemical Reviews* **2009**, 109, 6212–6274.

(237) Schatz, C.; Lecommandoux, S. Polysaccharide-Containing Block Copolymers: Synthesis, Properties and Applications of an Emerging Family of Glycoconjugates. *Macromolecular Rapid Communications* **2010**, 31, 1664–1684.

(238) Spain, S. G.; Gibson, M. I.; Cameron, N. R. Recent advances in the synthesis of well-defined glycopolymers. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2007**, 45, 2059–2072.

(239) Dupayage, L.; Save, M.; Dellacherie, E.; Nouvel, C.; Six, J.-L. PMMA-grafted dextran glycopolymers by atom transfer radical polymerization. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2008**, 46, 7606–7620.

(240) Singh, V.; Kumar, P.; Sanghi, R. Use of microwave irradiation in the grafting modification of the polysaccharides – A review. *Progress in Polymer Science* **2012**, 37, 340–364.

(241) Dupayage, L. Elaboration contrôlée de glycopolymères amphiphiles à partir de polysaccharide: synthèse de Dextrane-g-PMMA par polymérisation radicalaire par transfert d'atome, *université de Lorraine*, **2009**, 47.

(242) Kobayashi, S.; Uyama, H.; Kimura, S. Enzymatic polymerization. *Chem. Rev.* **2001**, 101, 3793–3818.

(243) Kobayashi, S.; Makino, A. Enzymatic Polymer Synthesis: An Opportunity for Green Polymer Chemistry. *Chem. Rev.* **2009**, 109, 5288–5353.

(244) Ziegast, G.; Pfannemüller, B. Phosphorolytic syntheses with di-, oligo- and multi- functional primers. *Carbohydrate Research* **1987**, 160, 185–204.

(245) Gauthier, M. A.; Gibson, M. I.; Klok, H.-A. Synthesis of Functional Polymers by Post-Polymerization Modification. *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, 48, 48–58.

(246) Dalko, P. I.; Moisan, L. In the golden age of organocatalysis. *Angewandte Chemie-International Edition* **2004**, 43, 5138–5175.

(247) Slavin, S.; Burns, J.; Haddleton, D. M.; Becer, C. R. Synthesis of glycopolymers via click reactions. *European Polymer Journal* **2011**, 47, 435–446.

(248) Laville, M.; Babin, J.; Londono, I.; Legros, M.; Nouvel, C.; Durand, A.; Vanderesse, R.; Leonard, M.; Six, J.-L. Polysaccharide-covered nanoparticles with improved shell stability using click-chemistry strategies. *Carbohydrate Polymers* **2013**, 93, 537–546.

(249) Kade, M. J.; Burke, D. J.; Hawker, C. J. The power of thiol-ene chemistry. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2010**, 48, 743–750.

(250) Chen, G.; Amajjahe, S.; Stenzel, M. H.. *Chemical Communications* **2009**, 1198–1200.

(251) Tizzotti, M.; Charlot, A.; Fleury, E.; Stenzel, M.; Bernard, J. Modification of Polysaccharides Through Controlled/Living Radical Polymerization Grafting—Towards the Generation of High Performance Hybrids. *Macromolecular Rapid Communications* **2010**, 31, 1751–1772.

(252) Ouhib, R.; Renault, B.; Mouaziz, H.; Nouvel, C.; Dellacherie, E.; Six, J.-L. Biodegradable amylose-g-PLA glycopolymers from renewable resources. *Carbohydrate Polymers* **2009**, 77, 32–40.

(253) Nouvel, C.; Dubois, P.; Dellacherie, E.; Six, J.-L. Controlled synthesis of amphiphilic biodegradable polylactide-grafted dextran copolymers. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2004**, 42, 2577–2588.

(254) Houga, C.; Le Meins, J.-F.; Borsali, R.; Taton, D.; Gnanou, Y. Synthesis of ATRP-induced dextran-b-polystyrene diblock copolymers and preliminary investigation of their self-assembly in water. *Chemical Communications* **2007**, 3063–3065.

(255) Yagi, S.; Kasuya, N.; Fukuda, K. Synthesis and characterization of cellulose-b-polystyrene. *Polymer Journal* **2010**, *42*, 342–348.

(256) Hashimoto, K.; Imanishi, S.; Okada, M.; Sumitomo, H. Synthesis of Block Copolymer Containing Dextran and Polyamide Sequences. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **1992**, 30, 211–220.

(257) Hashimoto, K.; Imanishi, S.; Okada, M.; Sumitomo, H. Chemical Modification of the Reducing Chain End in Dextrans and Trimethylsilylation of Its Hydroxyl-Groups. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **1991**, 29, 1271–1279.

(258) Bernard, J.; Save, M.; Arathoon, B.; Charleux, B. Preparation of a xanthate-terminated dextran by click chemistry: Application to the synthesis of polysaccharide-coated nanopartides via surfactant-free ab initio emulsion polymerization of vinyl acetate. *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* **2008**, 46, 2845–2857.

(259) Yang, Y. L.; Kataoka, K.; Winnik, F. M. Synthesis of diblock copolymers consisting of hyaluronan and poly(2-ethyl-2-oxazoline). *Macromolecules* **2005**, 38, 2043–2046.

(260) Bosker, W. T. E.; Agoston, K.; Stuart, M. a. C.; Norde, W.; Timmermans, J. W.; Slaghek, T. M. Synthesis and interfacial behavior of polystyrene-polysaccharide diblock copolymers. *Macromolecules* **2003**, 36, 1982–1987.

(261) Hernandez, O. S.; Soliman, G. M.; Winnik, F. M. Synthesis, reactivity, and pH-responsive assembly of new double hydrophilic block copolymers of carboxymethyldextran and poly(ethylene glycol). *Polymer* **2007**, 48, 921–930.

(262) Halila, S.; Manguian, M.; Fort, S.; Cottaz, S.; Hamaide, T.; Fleury, E.; Driguez, H. Syntheses of well-defined glyco-polyorganosiloxanes by "click" chemistry and their surfactant properties. *Macromolecular Chemistry and Physics* **2008**, 209, 1282–1290.

(263) Otsuka, I.; Fuchise, K.; Halila, S.; Fort, S.; Aissou, K.; Pignot-Paintrand, I.; Chen, Y.; Narumi, A.; Kakuchi, T.; Borsali, R. Thermoresponsive Vesicular Morphologies Obtained by Self-Assemblies of

Hybrid Oligosaccharide-block-poly(N-isopropylacrylamide) Copolymer Systems. *Langmuir* **2010**, 26, 2325–2332.

(264) Schatz, C.; Louguet, S.; Le Meins, J.-F.; Lecommandoux, S. Polysaccharide-block-polypeptide Copolymer Vesicles: Towards Synthetic Viral Capsids. *Angewandte Chemie-International Edition* **2009**, 48, 2572–2575.

(265) Upadhyay, K. K.; Le Meins, J.-F.; Misra, A.; Voisin, P.; Bouchaud, V.; Ibarboure, E.; Schatz, C.; Lecommandoux, S. Biomimetic Doxorubicin Loaded Polymersomes from Hyaluronan-block-Poly(gamma-benzyl glutamate) Copolymers. *Biomacromolecules* **2009**, 10, 2802–2808.

(266) Such, G. K.; Johnston, A. P. R.; Liang, K.; Caruso, F. Synthesis and functionalization of nanoengineered materials using click chemistry. *Progress in Polymer Science* **2012**, 37, 985–1003.

(267) Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. Click chemistry: Diverse chemical function from a few good reactions. *Angewandte Chemie-International Edition* **2001**, 40, 2004–2021.

(268) Vazquez-Dorbatt, V.; Lee, J.; Lin, E.-W.; Maynard, H. D. Synthesis of Glycopolymers by Controlled Radical Polymerization Techniques and Their Applications. *Chembiochem* **2012**, 13, 2478–2487.

(269) Carlmark, A.; Larsson, E.; Malmström, E. Grafting of cellulose by ring-opening polymerisation – A review. *European Polymer Journal* **2012**, 48, 1646–1659.

(270) Malmström, E.; Carlmark, A. Controlled grafting of cellulose fibres – an outlook beyond paper and cardboard. *Polymer Chemistry* **2012**, 3, 1702–1713.

(271) Roy, D.; Semsarilar, M.; Guthrie, J. T.; Perrier, S. Cellulose modification by polymer grafting: a review. *Chemical Society Reviews* **2009**, 38, 2046–2064.

(272) Carlmark, A.; Malmstrom, E. Atom transfer radical polymerization from cellulose fibers at ambient temperature. *Journal of the American Chemical Society* **2002**, 124, 900–901.

(273) Morandi, G.; Heath, L.; Thielemans, W. Cellulose Nanocrystals Grafted with Polystyrene Chains through Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization (SI-ATRP). *Langmuir* **2009**, 25, 8280–8286.

(274) Lindqvist, J.; Nystrom, D.; Ostmark, E.; Antoni, P.; Carlmark, A.; Johansson, M.; Hult, A.; Malmstrom, E. Intelligent dual-responsive cellulose surfaces via surface-initiated ATRP. *Biomacromolecules* **2008**, 9, 2139–2145.

(275) Pan, K.; Zhang, X.; Zhu, J.; Cao, B. Grafting of regenerated cellulose membrane by surface-initiated atom transfer radical polymerization and its pH-resposive behavior. *Polymers for Advanced Technologies* **2011**, 22, 1948–1952.

(276) Roy, D.; Knapp, J. S.; Guthrie, J. T.; Perrier, S. Antibacterial cellulose fiber via RAFT surface graft polymerization. *Biomacromolecules* **2008**, 9, 91–99.

(277) Perrier, S.; Takolpuckdee, P.; Westwood, J.; Lewis, D. M. Versatile chain transfer agents for reversible addition fragmentation chain transfer (RAFT) polymerization to synthesize functional polymeric architectures. *Macromolecules* **2004**, 37, 2709–2717.

(278) Barsbay, M.; Gueven, G.; Stenzel, M. H.; Davis, T. P.; Barner-Kowollik, C.; Barner, L. Verification of controlled grafting of styrene from cellulose via radiation-induced RAFT polymerization. *Macromolecules* **2007**, 40, 7140–7147.

(279) Rutot-Houzé, D.; Degée, P.; Gouttebaron, R.; Hecq, M.; Narayan, R.; Dubois, P. In-depth characterization of granular starch-graft-polyester compositions as obtained byin situ polymerization of lactones from the starch surface. *Polymer International* **2004**, 53, 656–663.

(280) Habibi, Y.; Goffin, A.-L.; Schiltz, N.; Duquesne, E.; Dubois, P.; Dufresne, A. Bionanocomposites based on poly(epsilon-caprolactone)-grafted cellulose nanocrystals by ring-opening polymerization. *Journal of Materials Chemistry* **2008**, 18, 5002–5010.

(281) Hafren, J.; Cordova, A. Direct organocatalytic polymerization from cellulose fibers. *Macromolecular Rapid Communications* **2005**, 26, 82–86.

(282) Fujie, T.; Park, J. Y.; Murata, A.; Estillore, N. C.; Tria, M. C. R.; Takeoka, S.; Advincula, R. C. Hydrodynamic Transformation of a Freestanding Polymer Nanosheet Induced by a Thermoresponsive Surface. *Acs Applied Materials & Interfaces* **2009**, 1, 1404–1413.

(283) Li, N.; Bai, R. B.; Liu, C. K. Enhanced and selective adsorption of mercury ions on chitosan beads grafted with polyacrylamide via surface-initiated atom transfer radical polymerization. *Langmuir* **2005**, 21, 11780–11787.

(284) El Tahlawy, K.; Hudson, S. M. synthesis of a well-defined chitosan graft poly(methoxy polyethyleneglycol methacrylate) by atom transfer radical polymerization. *Journal of Applied Polymer Science* **2003**, 89, 901–912.

(285) Kim, D. J.; Heo, J. Y.; Kim, K. S.; Choi, I. S. Formation of thermoresponsive poly(nisopropylacrylamide)/dextran particles by atom transfer radical polymerization. *Macromolecular Rapid Communications* **2003**, 24, 517–521.

(286) Lefay, C.; Guillaneuf, Y.; Moreira, G.; Thevarajah, J. J.; Castignolles, P.; Ziarelli, F.; Bloch, E.; Major, M.; Charles, L.; Gaborieau, M.; Bertin, D.; Gigmes, D. Heterogeneous modification of chitosan via nitroxide-mediated polymerization. *Polymer Chemistry* **2012**, 4, 322–328.

(287) Zhao, G.-L.; Hafren, J.; Deiana, L.; Cordova, A. Heterogeneous "Organoclick" Derivatization of Polysaccharides: Photochemical Thiol-ene Click Modification of Solid Cellulose. *Macromolecular Rapid Communications* **2010**, 31, 740–744.

(288) Chen, G.; Tao, L.; Mantovani, G.; Ladmiral, V.; Burt, D. P.; Macpherson, J. V.; Haddleton, D. M. Synthesis of azide/alkyne-terminal polymers and application for surface functionalisation through a [2+3] Huisgen cycloaddition process, "click chemistry''. *Soft Matter* **2007**, 3, 732–739.

(289) Campos, L. M.; Killops, K. L.; Sakai, R.; Paulusse, J. M. J.; Damiron, D.; Drockenmuller, E.; Messmore, B. W.; Hawker, C. J. Development of thermal and photochemical strategies for thiol-ene click polymer functionalization. *Macromolecules* **2008**, 41, 7063–7070.

(290) Killops, K. L.; Campos, L. M.; Hawker, C. J. Robust, Efficient, and Orthogonal Synthesis of Dendrimers via Thiol-ene "Click" Chemistry. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, 130, 5062–5064.

(291) Guibé, F. Allylic protecting groups and their use in a complex environment part I: Allylic protection of alcohols. *Tetrahedron* **1997**, 53, 13509–13556.

(292) Sureshan, K. M.; Shashidhar, M. S.; Praveen, T.; Das, T. Regioselective protection and deprotection of inositol hydroxyl groups. *Chemical Reviews* **2003**, 103, 4477–4503.

(293) Nouvel, C.; Frochot, C.; Sadtler, V.; Dubois, P.; Dellacherie, E.; Six, J.-L. Polylactide-Grafted Dextrans: Synthesis and Properties at Interfaces and in Solution. *Macromolecules* **2004**, 37, 4981–4988.

(294) Nouvel, C.; Raynaud, J.; Marie, E.; Dellacherie, E.; Six, J.-L.; Durand, A. Biodegradable nanoparticles made from polylactide-grafted dextran copolymers. *Journal of Colloid and Interface Science* **2009**, 330, 337–343.

(295) Dupayage, L.; Nouvel, C.; Six, J.-L. Protected versus unprotected dextran macroinitiators for ATRP synthesis of Dex-g-PMMA. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2011**, 49, 35–46.

(296) Lv, W.; Liu, S.; Fan, X.; Wang, S.; Zhang, G.; Zhang, F. Gold Nanoparticles Functionalized by a Dextran-Based pH- and Temperature-Sensitive Polymer. *Macromolecular Rapid Communications* **2010**, 31, 454–458.

(297) Gericke, M.; Schlufter, K.; Liebert, T.; Heinze, T.; Budtova, T. Rheological Properties of Cellulose/Ionic Liquid Solutions: From Dilute to Concentrated States. *Biomacromolecules* **2009**, 10, 1188–1194.

(298) Ifuku, S.; Kadla, J. F. Preparation of a Thermosensitive Highly Regioselective Cellulose/N-Isopropylacrylamide Copolymer through Atom Transfer Radical Polymerization. *Biomacromolecules* **2008**, 9, 3308–3313.

(299) Shen, D.; Yu, H.; Huang, Y. Densely grafting copolymers of ethyl cellulose through atom transfer radical polymerization. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2005**, 43, 4099–4108.

(300) Shen, D.; Yu, H.; Huang, Y. Synthesis of graft copolymer of ethyl cellulose through living polymerization and its self-assembly. *Cellulose* **2006**, 13, 235–244.

(301) Östmark, E.; Harrisson, S.; Wooley, K. L.; Malmström, E. E. Comb Polymers Prepared by ATRP from Hydroxypropyl Cellulose. *Biomacromolecules* **2007**, 8, 1138–1148.

(302) Kang, H.; Liu, W.; He, B.; Shen, D.; Ma, L.; Huang, Y. Synthesis of amphiphilic ethyl cellulose grafting poly(acrylic acid) copolymers and their self-assembly morphologies in water. *Polymer* **2006**, 47, 7927–7934.

(303) Kang, H.; Liu, W.; Liu, R.; Huang, Y. A Novel, Amphiphilic Ethyl Cellulose Grafting Copolymer with Poly(2-Hydroxyethyl Methacrylate) Side Chains and Its Micellization. *Macromolecular Chemistry and Physics* **2008**, 209, 424–430.

(304) Li, Y.; Liu, R.; Liu, W.; Kang, H.; Wu, M.; Huang, Y. Synthesis, self-assembly, and thermosensitive properties of ethyl cellulose-g-P(PEGMA) amphiphilic copolymers. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2008**, 46, 6907–6915.

(305) Yan, Q.; Yuan, J.; Zhang, F.; Sui, X.; Xie, X.; Yin, Y.; Wang, S.; Wei, Y. Cellulose-Based Dual Graft Molecular Brushes as Potential Drug Nanocarriers: Stimulus-Responsive Micelles, Self-Assembled Phase Transition Behavior, and Tunable Crystalline Morphologies. *Biomacromolecules* **2009**, 10, 2033–2042.

(306) Tang, X.; Gao, L.; Fan, X.; Zhou, Q. Controlled grafting of ethyl cellulose with azobenzene-containing polymethacrylates via atom transfer radical polymerization. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2007**, 45, 1653–1660.

(307) Yang, R.; Wang, Y.; Zhou, D. Novel hydroxyethylcellulose-graft-poly acrylamide copolymer for separation of double-stranded DNA fragments by CE. *Electrophoresis* **2007**, 28, 3223–3231.

(308) Meng, T.; Gao, X.; Zhang, J.; Yuan, J.; Zhang, Y.; He, J. Graft copolymers prepared by atom transfer radical polymerization (ATRP) from cellulose. *Polymer* **2009**, 50, 447–454.

(309) Wang, D.; Tan, J.; Kang, H.; Ma, L.; Jin, X.; Liu, R.; Huang, Y. Synthesis, self-assembly and drug release behaviors of pH-responsive copolymers ethyl cellulose-graft-PDEAEMA through ATRP. *Carbohydrate Polymers* **2011**, 84, 195–202.

(310) Vlček, P.; Janata, M.; Látalová, P.; Kríž, J.; Čadová, E.; Toman, L. Controlled grafting of cellulose diacetate. *Polymer* **2006**, 47, 2587–2595.

(311) Vlček, P.; Janata, M.; Látalová, P.; Dybal, J.; Špírková, M.; Toman, L. Bottlebrush-shaped copolymers with cellulose diacetate backbone by a combination of ring opening polymerization and ATRP. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2008**, 46, 564–573.

(312) Chun-xiang, L.; Huai-yu, Z.; Ming-hua, L.; Shi-yu, F.; Jia-jun, Z. Preparation of cellulose graft poly(methyl methacrylate) copolymers by atom transfer radical polymerization in an ionic liquid. *Carbohydrate Polymers* **2009**, 78, 432–438.

(313) Xin, T.-T.; Yuan, T.; Xiao, S.; He, J. Synthesis of Cellulose-Graft-Poly(methyl Methacrylate) Via Homogeneous ATRP. *Bioresources* **2011**, 6, 2941–2953.

(314) Sui, X.; Yuan, J.; Zhou, M.; Zhang, J.; Yang, H.; Yuan, W.; Wei, Y.; Pan, C. Synthesis of Cellulose-graft-Poly(N,N-dimethylamino-2-ethyl methacrylate) Copolymers via Homogeneous ATRP and Their Aggregates in Aqueous Media. *Biomacromolecules* **2008**, 9, 2615–2620.

(315) Hiltunen, M.; Siirilä, J.; Maunu, S. L. Effect of catalyst systems and reaction conditions on the synthesis of cellulose-g-PDMAam copolymers by controlled radical polymerization. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2012**, 50, 3067–3076.

(316) Raus, V.; Štěpánek, M.; Uchman, M.; Šlouf, M.; Látalová, P.; Čadová, E.; Netopilík, M.; Kříž, J.; Dybal, J.; Vlček, P. Cellulose-based graft copolymers with controlled architecture prepared in a homogeneous phase. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2011**, 49, 4353–4367.

(317) Zhong, J.-F.; Chai, X.-S.; Fu, S.-Y. Homogeneous grafting poly (methyl methacrylate) on cellulose by atom transfer radical polymerization. *Carbohydrate Polymers* **2012**, 87, 1869–1873.

(318) Yan, L.; Ishihara, K. Graft copolymerization of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine to cellulose in homogeneous media using atom transfer radical polymerization for providing new hemocompatible coating materials. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2008**, 46, 3306–3313.

(319) Wang, Z.-H.; Zhu, Y.; Chai, M.-Y.; Yang, W.-T.; Xu, F.-J. Biocleavable comb-shaped gene carriers from dextran backbones with bioreducible ATRP initiation sites. *Biomaterials* **2012**, 33, 1873–1883.

(320) Wang, Z. H.; Li, W. B.; Ma, J.; Tang, G. P.; Yang, W. T.; Xu, F. J. Functionalized Nonionic Dextran Backbones by Atom Transfer Radical Polymerization for Efficient Gene Delivery. *Macromolecules* **2011**, 44, 230–239.

(321) Patrizi, M. L.; Piantanida, G.; Coluzza, C.; Masci, G. ATRP synthesis and association properties of temperature responsive dextran copolymers grafted with poly(N-isopropylacrylamide). *European Polymer Journal* **2009**, 45, 2779–2787.

(322) Bontempo, D.; Masci, G.; De Leonardis, P.; Mannina, L.; Capitani, D.; Crescenzi, V. Versatile grafting of polysaccharides in homogeneous mild conditions by using atom transfer radical polymerization. *Biomacromolecules* **2006**, 7, 2154–2161.

(323) Chen, C.; Liu, M.; Gao, C.; Lu, S.; Chen, J.; Yu, X.; Ding, E.; Yu, C.; Guo, J.; Cui, G. A convenient way to synthesize comb-shaped chitosan-graft-poly (N-isopropylacrylamide) copolymer. *Carbohydrate Polymers* **2013**, 92, 621–628.

(324) Yuan, W.; Zhao, Z.; Gu, S.; Ren, T.; Ren, J. Synthesis and self-assembly of pH-responsive chitosan graft copolymer by the combination of atom transfer radical polymerization and click chemistry. *Materials Letters* **2011**, 65, 793–796.

(325) Munro, N. H.; Hanton, L. R.; Moratti, S. C.; Robinson, B. H. Synthesis and characterisation of chitosan-graft-poly(OEGMA) copolymers prepared by ATRP. *Carbohydrate Polymers* **2009**, 77, 496–505.

(326) Lin, C.; Zhan, H.; Liu, M.; Habibi, Y.; Fu, S.; Lucia, L. A. RAFT synthesis of cellulose-g-polymethylmethacrylate copolymer in an ionic liquid. *Journal of Applied Polymer Science* **2013**, 127, 4840–4849.

(327) Semsarilar, M.; Ladmiral, V.; Perrier, S. Synthesis of a cellulose supported chain transfer agent and its application to RAFT polymerization. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2010**, 48, 4361–4365.

(328) Fleet, R.; McLeary, J. B.; Grumel, V.; Weber, W. G.; Matahwa, H.; Sanderson, R. D. RAFT mediated polysaccharide copolymers. *European Polymer Journal* **2008**, 44, 2899–2911.

(329) Stenzel, M. H.; Davis, T. P.; Fane, A. G. Honeycomb structured porous films prepared from carbohydrate based polymers synthesized via the RAFT process. *Journal of Materials Chemistry* **2003**, 13, 2090–2097.

(330) Feng, W.; Lv, W.; Qi, J.; Zhang, G.; Zhang, F.; Fan, X. Quadruple-Responsive Nanocomposite Based on Dextran-PMAA-PNIPAM, Iron Oxide Nanoparticles, and Gold Nanorods. *Macromolecular Rapid Communications* **2012**, 33, 133–139.

(331) Hua, D.; Tang, J.; Cheng, J.; Deng, W.; Zhu, X. A novel method of controlled grafting modification of chitosan via RAFT polymerization using chitosan-RAFT agent. *Carbohydrate Polymers* **2008**, 73, 98–104.

(332) Tang, J.; Hua, D.; Cheng, J.; Jiang, J.; Zhu, X. Synthesis and properties of temperature-responsive chitosan by controlled free radical polymerization with chitosan-RAFT agent. *International Journal of Biological Macromolecules* **2008**, 43, 383–389.

(333) Morimoto, N.; Qiu, X.-P.; Winnik, F. M.; Akiyoshi, K. Dual Stimuli-Responsive Nanogels by Self-Assembly of Polysaccharides Lightly Grafted with Thiol-Terminated Poly(N-isopropylacrylamide) Chains. *Macromolecules* **2008**, *41*, 5985–5987.

(334) Daly, W. H.; Evenson†, T. S.; Iacono, S. T.; Jones, R. W. Recent developments in cellulose grafting chemistry utilizing Barton ester intermediates and nitroxide mediation. *Macromolecular Symposia* **2001**, 174, 155–164.

(335) Jiang, J.; Hua, D.; Jiang, J.; Tang, J.; Zhu, X. Synthesis and property of poly(sodium 4-styrenesulfonate) grafted chitosan by nitroxide-mediated polymerization with chitosan-TEMPO macroinitiator. *Carbohydrate Polymers* **2010**, 81, 358–364.

(336) Hua, D.; Deng, W.; Tang, J.; Cheng, J.; Zhu, X. A new method of controlled grafting modification of chitosan via nitroxide-mediated polymerization using chitosan-TEMPO macroinitiator. *International Journal of Biological Macromolecules* **2008**, 43, 43–47.

(337) Karakasyan, C.; Lack, S.; Brunel, F.; Maingault, P.; Hourdet, D. Synthesis and Rheological Properties of Responsive Thickeners Based on Polysaccharide Architectures. *Biomacromolecules* **2008**, 9, 2419–2429.

(338) Månsson, P.; Westfelt, L. Grafting of monodisperse low-molecular-weight polystyrene onto cellulose acetate. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **1981**, 19, 1509–1515.

(339) Bhattarai, N.; Matsen, F. A.; Zhang, M. PEG-Grafted Chitosan as an Injectable Thermoreversible Hydrogel. *Macromolecular Bioscience* **2005**, 5, 107–111.

(340) Lemechko, P.; Renard, E.; Guezennec, J.; Simon-Colin, C.; Langlois, V. Synthesis of dextran-graft-PHBHV amphiphilic copolymer using click chemistry approach. *Reactive and Functional Polymers* **2012**, 72, 487–494.

(341) Bokias, G.; Mylonas, Y.; Staikos, G.; Bumbu, G. G.; Vasile, C. Synthesis and Aqueous Solution Properties of Novel Thermoresponsive Graft Copolymers Based on a Carboxymethylcellulose Backbone. *Macromolecules* **2001**, 34, 4958–4964.

(342) Mourya, V. K.; Inamdar, N. N. Chitosan-modifications and applications: Opportunities galore. *Reactive and Functional Polymers* **2008**, 68, 1013–1051.

(343) Liu, L.; Li, F.; Fang, Y.; Guo, S. Regioselective Grafting of Poly(ethylene glycol) onto Chitosan and the Properties of the Resulting Copolymers. *Macromolecular Bioscience* **2006**, 6, 855–861.

(344) Bao, H.; Hu, J.; Gan, L. H.; Li, L. Stepped association of comb-like and stimuli-responsive graft chitosan copolymer synthesized using ATRP and active ester conjugation methods. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2009**, 47, 6682–6692.

(345) Pahimanolis, N.; Vesterinen, A.-H.; Rich, J.; Seppala, J. Modification of dextran using click-chemistry approach in aqueous media. *Carbohydrate Polymers* **2010**, 82, 78–82.

(346) Abeylath, S. C.; Amiji, M. M. "Click" synthesis of dextran macrostructures for combinatorial-designed self-assembled nanoparticles encapsulating diverse anticancer therapeutics. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2011**, 19, 6167–6173.

(347) Eissa, A. M.; Khosravi, E.; Cimecioglu, A. L. A versatile method for functionalization and grafting of 2-hydroxyethyl cellulose (HEC) via Click chemistry. *Carbohydrate Polymers* **2012**, 90, 859–869.

(348) Bao, H.; Li, L.; Leong, W. C.; Gan, L. H. Thermo-Responsive Association of Chitosan-graft-Poly(N-isopropylacrylamide) in Aqueous Solutions. *The Journal of Physical Chemistry B* **2010**, 114, 10666–10673.

(349) Bao, H.; Li, L.; Gan, L. H.; Ping, Y.; Li, J.; Ravi, P. Thermo- and pH-Responsive Association Behavior of Dual Hydrophilic Graft Chitosan Terpolymer Synthesized via ATRP and Click Chemistry. *Macromolecules* **2010**, 43, 5679–5687.

(350) Kulbokaite, R.; Ciuta, G.; Netopilik, M.; Makuska, R. N-PEG'ylation of chitosan via "click chemistry" reactions. *Reactive and Functional Polymers* **2009**, 69, 771–778.

(351) Yuan, W.; Zhao, Z.; Gu, S.; Ren, J. Synthesis, Characterization, and Properties of Amphiphilic Chitosan Copolymers with Mixed Side Chains by Click Chemistry. *Journal of Polymer Science Part A-Polymer Chemistry* **2010**, 48, 3476–3486.

(352) Li, X.; Yuan, W.; Gu, S.; Ren, J. Synthesis and self-assembly of tunable thermosensitive chitosan amphiphilic copolymers by click chemistry. *Materials Letters* **2010**, 64, 2663–2666.

(353) Yuan, W.; Li, X.; Gu, S.; Cao, A.; Ren, J. Amphiphilic chitosan graft copolymer via combination of ROP, ATRP and click chemistry: Synthesis, self-assembly, thermosensitivity, fluorescence, and controlled drug release. *Polymer* **2011**, 52, 658–666.

(354) Tizzotti, M.; Creuzet, C.; Labeau, M.-P.; Hamaide, T.; Boisson, F.; Drockenmuller, E.; Charlot, A.; Fleury, E. Synthesis of Temperature Responsive Biohybrid Guar-Based Grafted Copolymers by Click Chemistry. *Macromolecules* **2010**, *43*, 6843–6852.

(355) Bertoldo, M.; Zampano, G.; La Terra, F.; Villari, V.; Castelvetro, V. Amphiphilic Amylose-g-poly(meth)acrylate Copolymers through "Click" onto Grafting Method. *Biomacromolecules* **2011**, 12, 388–398.

(356) Wang, X.-L.; Zhai, Y.-L.; Tang, D.-L.; Liu, G.-Y.; Wang, Y.-Z. Self-assembly, drug-delivery behavior, and cytotoxicity evaluation of amphiphilic chitosan-graft-poly(1,4-dioxan-2-one) copolymers. *Journal of Polymer Research* **2012**, 19, 1–9.

(357) Liu, W.; Liu, Y.; Hao, X.; Zeng, G.; Wang, W.; Liu, R.; Huang, Y. Backbone-collapsed intra- and inter-molecular self-assembly of cellulose-based dense graft copolymer. *Carbohydrate Polymers* **2012**, *88*, 290–298.

(358) Zhang, Y. L.; Dou, X. W.; Jin, T. Synthesis and self-assembly behavior of amphiphilic diblock copolymer dextran-block-poly(epsilon-caprolactone) (DEX-b-PCL) in aqueous media. *Express Polymer Letters* **2010**, 4, 599–610.

(359) Chiang, W.-H.; Lan, Y.-J.; Huang, Y.-C.; Chen, Y.-W.; Huang, Y.-F.; Lin, S.-C.; Chern, C.-S.; Chiu, H.-C. Multi-scaled polymersomes from self-assembly of octadecanol-modified dextrans. *Polymer* **2012**, 53, 2233–2244.

(360) Pramod, P. S.; Takamura, K.; Chaphekar, S.; Balasubramanian, N.; Jayakannan, M. Dextran Vesicular Carriers for Dual Encapsulation of Hydrophilic and Hydrophobic Molecules and Delivery into Cells. *Biomacromolecules* **2012**, 13, 3627–3640.

PARTIE II

ELABORATION DE GLYCOPOLYMERES DEX-g-PADEGCHOL

OBJECTIFS ET STRATEGIE DE SYNTHESE

L'objectif de ce doctorat consistait à élaborer de nouveaux glycopolymères greffés d'architecture contrôlée, destinés à être employés pour la formulation de polymersomes pouvant véhiculer des principes actifs. Ces polymersomes, habituellement obtenus à partir de copolymères diblocs amphiphiles, le seront ici à partir de copolymères greffés amphiphiles, biocompatibles et biodégradables, notés Dex-g-PADEGChol. Ces glycopolymères sont composés d'un tronc dextrane hydrophile et de greffons hydrophobes présentant des groupes cholestérol poly(acrylate de diéthylène glycol cholestéryle). Le caractère amphiphile de ces copolymères devrait leur conférer la faculté de s'auto-assembler en solution. De plus, la présence des interactions cristal-liquide entre les groupements mésogènes cholestériques pourraient renforcer les propriétés mécaniques de ces auto-organisations ainsi que la membrane de la bicouche dans le cas d'éventuels polymersomes obtenus. L'architecture du copolymère (nombre des greffons, longueurs de la dorsale et des greffons) pourrait avoir une influence sur la morphologie des auto-organisations observées. Aussi, nous avons adopté une stratégie de synthèse qui permet de moduler à souhait la structure de ces copolymères.

L'étude bibliographique présentée dans le précédent chapitre a révélé qu'aucune publication ne relate la synthèse d'un glycopolymère greffé formé à partir d'un polysaccharide et de polymères synthétiques ayant des propriétés mésomorphes. La stratégie « grafting from » que nous avons employée pour élaborer les copolymères Dex-g-PADEGChol et en maîtriser l'architecture est basée sur la croissance des greffons à partir de

la dorsale polysaccharide. Plus précisément, le procédé de synthèse employé dans ces travaux de recherche est un schéma de synthèse multi-étapes (schéma I). Dans la première étape, les fonctions hydroxyle du dextrane hydrophile seront partiellement protégées par acétylation, afin d'hydrophobiser le polysaccharide et le rendre soluble dans les solvants organiques tels que le THF et le toluène. Cette solubilité permettra d'introduire facilement lors d'une deuxième étape les groupements amorceurs d'ATRP en milieu homogène. Dans la troisième étape, la croissance contrôlée des greffons ADEGChol s'effectuera par ATRP. Les conditions opératoires permettant le contrôle de l'ATRP de l'ADEGChol seront préalablement déterminées en étudiant son homopolymérisation à l'aide d'un amorceur modèle. Finalement, l'hydrolyse des groupements acétate permettra d'accéder aux copolymères Dex-g-PADEGChol désirés lors de la dernière étape et quatrième.

La deuxième partie de ce manuscrit sera divisée en trois chapitres. L'étude de la synthèse du monomère ADEGChol et la mise au point des conditions opératoires de son homopolymérisation contrôlée par ATRP seront exposées dans le premier chapitre. Le deuxième chapitre concernera l'élaboration des copolymères Dex-g-PADEGChol à partir d'un macroamorceur dérivé du dextrane. Finalement, l'étude des propriétés mésomorphes, du caractère amphiphile et les résultats préliminaires de l'auto-organisation des copolymères Dex-g-PADEGChol en solution aqueuse seront exposés dans le troisième chapitre.

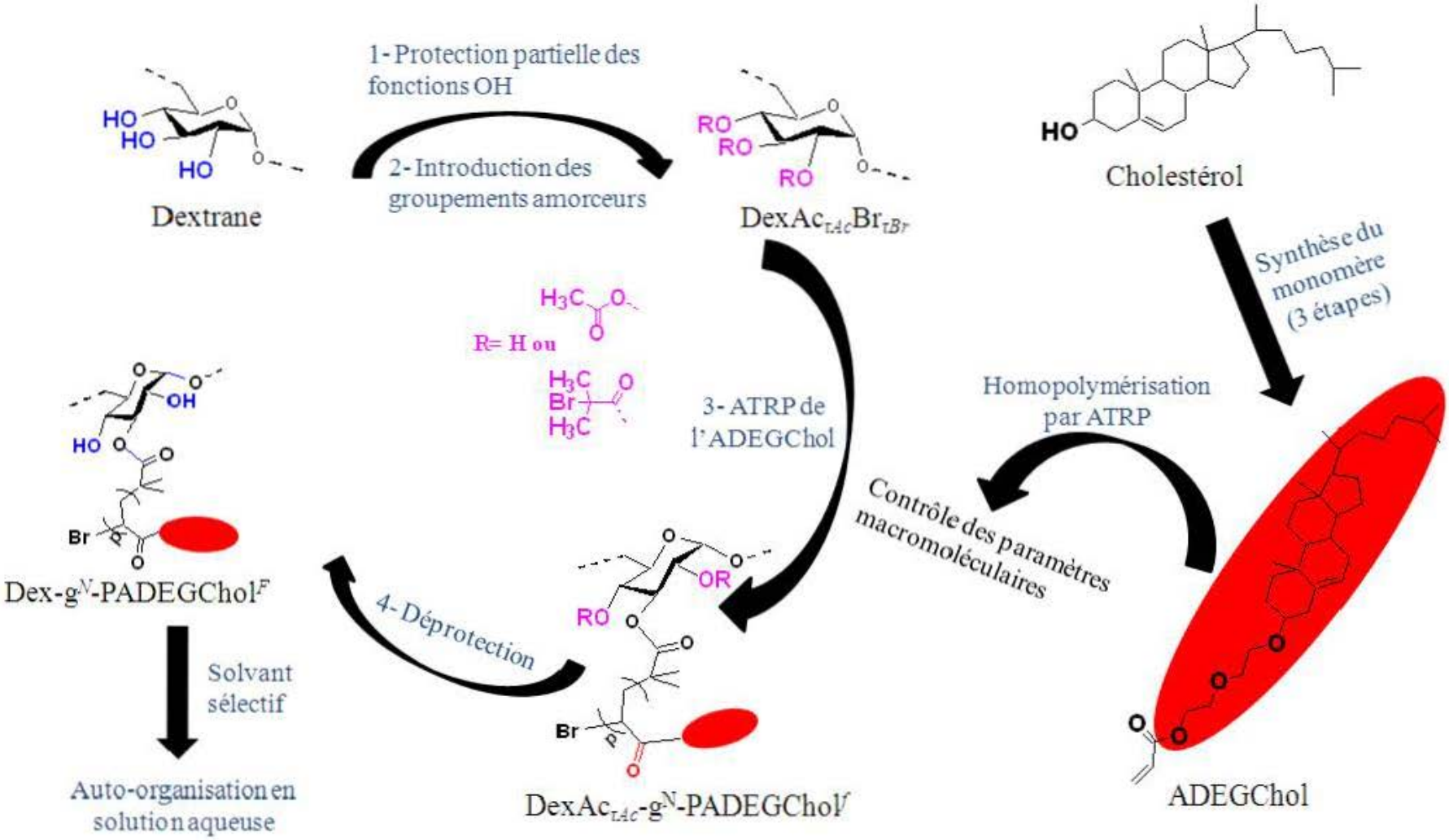


Schéma I. Stratégie de synthèse des copolymères dextrane-g- poly(acrylate de diéthylène glycol cholestéryle). τ_{Ac} et τ_{Br} sont les taux de modification en groupes acétate et amorceurs d'ATRP, respectivement pour 100 fonctions hydroxyle du dextrane. N est le nombre de greffon par 100 unités glucosidiques. F et f sont les fractions massiques en PADEGChol dans le Dex-g-PADEGChol et le DexAc-g-PADEGChol, respectivement.

CHAPITRE-I

SYNTHESE ET HOMOPOLYMERISATION DE L'ADEGCHOL PAR ATRP

I. SYNTHESE DU MONOMERE ADEGCHOL 79

I.1 CHOIX DU MONOMERE 79

I.2 SYNTHESE DU MONOMERE ADEGCHOL 80

I.2.1 Choix des conditions opératoires 80

I.2.2 Première étape : synthèse du Chol-OTs 81

I.2.3 Deuxième étape : synthèse du DEGChol 83

I.2.4 Troisième étape : synthèse du ADEGChol 84

I.3 CARACTERISATION DES DIFFERENTS INTERMEDIAIRES DE LA SYNTHESE 84

I.3.1 Par RMN ^1H 84

I.3.2 Solubilité de l'ADEGChol 87

I.4 STABILITE DES MONOMERES ACHOL ET ADEGCHOL 88

II. HOMOPOLYMERISATION DE L'ADEGCHOL PAR ATRP 89

II.1 POLYMERISATIONS RADICALAIRES PAR DESACTIVATION REVERSIBLES (PRDR) 90

II.1.1 Notion de polymérisation vivante et contrôlée 90

II.1.2 Principe d'une polymérisation radicalaire par désactivation réversible (PRDR) 91

II.1.2.1 Dissociation-Recombinaison 92

II.1.2.2 Transfert de chaîne dégénératif 93

II.1.2.3 Polymérisation par Transfert d'Atome 95

II.1.3 Polymérisation radicalaire par transfert d'atome (ATRP) 96

II.1.3.1 Mécanisme de l'ATRP 96

II.1.3.2 Paramètres influençant l'ATRP 98

a) Système catalytique 98

b) Amorceur 100

c) Solvant 101

II.1.3.3 ATRP des acrylates 102

II.2 MISE AU POINT DES CONDITIONS D'ATRP DE L'ADEGCHOL 105

II.2.1 En présence du ligand PPMI 106

II.2.2 En présence du ligand OPMI 108

II.2.2.1 Effets de la température et du rapport $[\boldsymbol{monomère}]\mathbf{0}[\boldsymbol{amorceur}]\mathbf{0}$ 109

II.2.2.2 Effet radical persistant 110

II.2.2.3 Effet du solvant 112

II.2.3 En présence du ligand PMDETA 116

II.2.3.1 Dans le toluène 116

II.2.3.2 Echange d'halogène Cu^IX (x=Br, Cl) 119

II.2.3.3 Dans le THF 120

III. CONCLUSION DU CHAPITRE 124

REFERENCES 126

CHAPITRE- I

L'obtention contrôlée de Dex-g-PADEGChol par la méthode « grafting from » à partir d'un macroamorceur dérivé du dextrane nécessite tout d'abord de mettre au point les conditions opératoires optimales permettant le contrôle de l'ATRP du monomère ADEGChol. Dans ce chapitre, la synthèse de l'ADEGChol sera dans un premier temps abordée, puis l'étude détaillée de son homopolymérisation par ATRP en présence d'un amorceur modèle sera décrite.

I.SYNTHESE DU MONOMERE ADEGCHOL

I.1 CHOIX DU MONOMERE

Depuis plusieurs décennies, la polymérisation de monomères présentant un groupement cholestérique [1], et plus précisément leur photopolymérisation, a attiré les scientifiques qui espéraient tirer profit des propriétés mésomorphes du cholestérol. L'un de ces monomères, nommé « acryloyloxyéthyl carbonate cholestéryle (Achol) », (figure I-1a) a été récemment utilisé par l'équipe de M-H. Li [2,3] pour élaborer un copolymère amphiphile en associant le polymère correspondant à un bloc poly(éthylène glycol) (PEG). Le copolymère alors obtenu a montré une capacité d'auto-organisation en solution aqueuse, adoptant plusieurs morphologies selon le rapport massique entre chacun des blocs. Cependant, le monomère AChol présente une fonction carbonate reliant le cholestérol à l'acrylate d'éthylène glycol et il s'est malheureusement avéré, durant nos premiers tests préliminaires, que cette fonction était

instable dans les conditions qui seront employées lors de la synthèse du glycopolymère, (paragraphe I.4). Pour ces raisons, nous avons entrepris la synthèse d'un autre monomère qui devait s'avérer plus stable : l'acrylate de diéthylène glycol cholestéryle (ADEGChol) (figure I-1b) qui ne contient que des fonctions éther. Un diéthylène glycol (DEG) séparera le groupement cholestérol de la fonction acrylate polymérisable, ce qui devrait améliorer la solubilité de ce monomère dans les solvants polaires.

La fonction polymérisable acrylate a été sélectionnée au lieu de la fonction méthacrylate car les polymères acryliques présentent généralement une température de transition vitreuse beaucoup moins élevée (ex. poly(acrylate de méthyle), $Tg_{,PMA}$ = 4 °C) que leurs homologues méthacryliques (ex. poly(méthacrylate de méthyle), Tg_{PMMA} = 91 °C). Aussi, nous espérons que la valeur du PADEGChol, associée à ses probables propriétés cristal-liquide thermotropiques devaient permettre aux glycopolymères Dex-g-PADEGChol d'exhiber à la fois les propriétés cristal-liquides et une aptitude à l'auto-organisation.

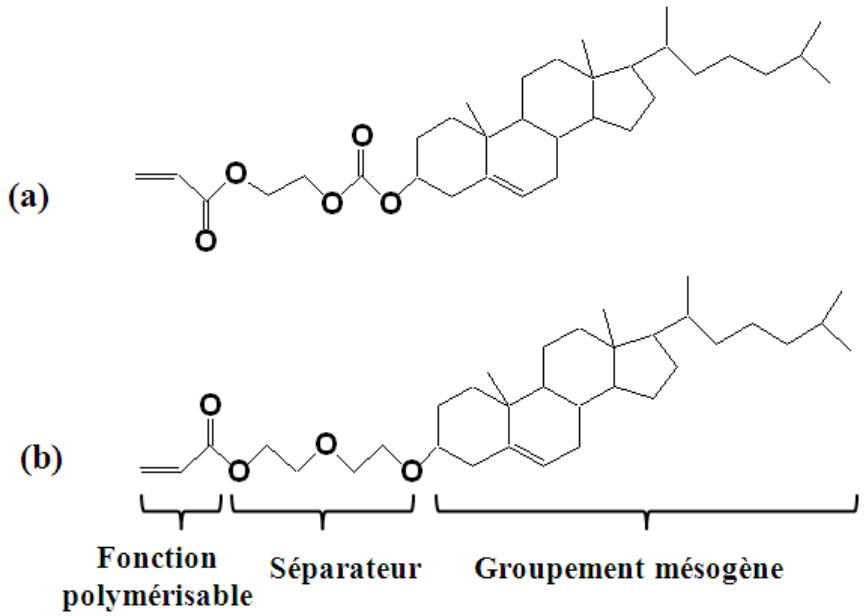


Figure I-1. ***Structures chimiques des monomères (a) Achol et (b) ADEGChol.***

I.2 SYNTHESE DU MONOMERE ADEGCHOL

I.2.1 Choix des conditions opératoires

Le schéma de synthèse de l'ADEGChol nécessite 3 étapes. Les deux premières étapes ont été décrites par Yang et al [4] et nous nous sommes inspirés de ce travail en optimisant les étapes et les rendements. Parallèlement à nos travaux, une autre équipe de recherche [5] a également récemment publié la synthèse de l'ADEGChol. Cependant, la méthodologie de

synthèse que nous avons développée permet d'obtenir un meilleur rendement global, 53% contre seulement 38% selon leur voie de synthèse [5].

Le schéma I-1 montre une comparaison de notre protocole expérimental (conditions a) avec celui rapporté dans la littérature [5] (conditions b)

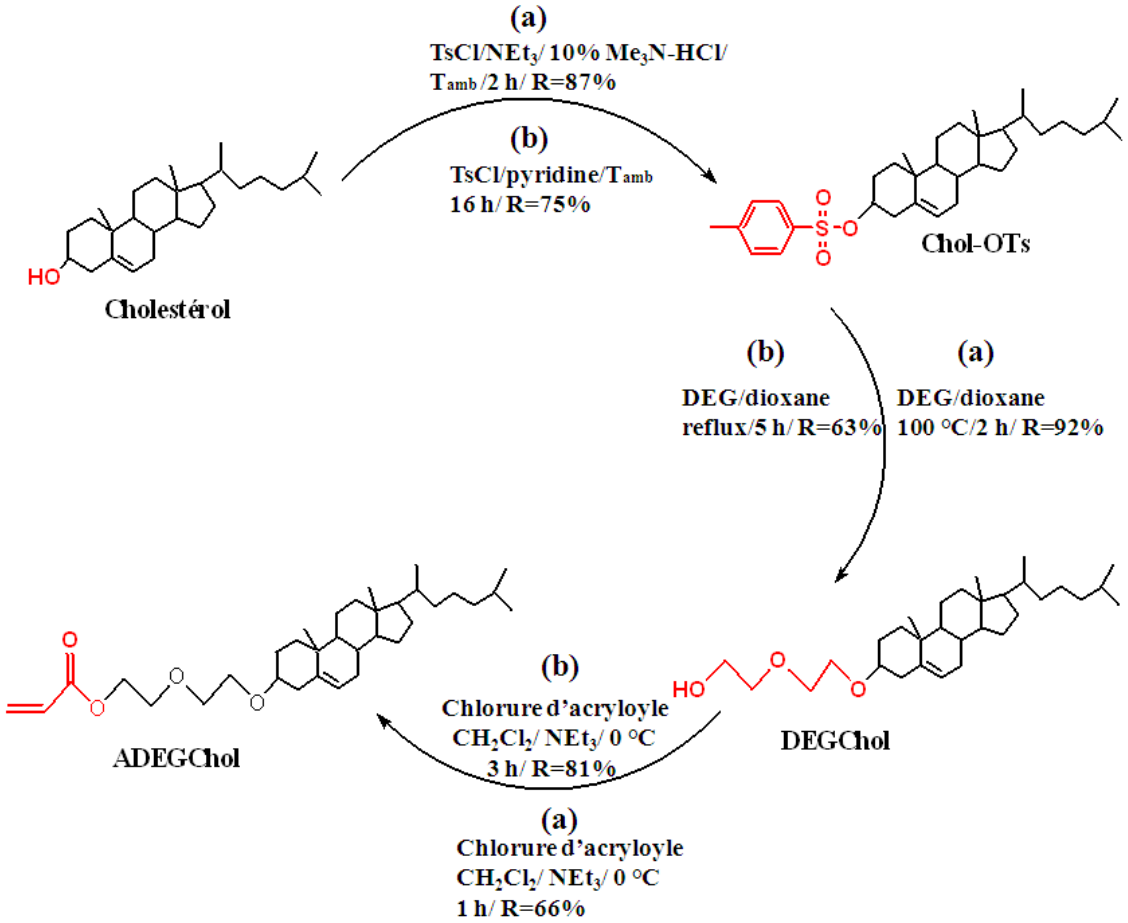


Schéma I-1 Synthèse multi-étapes du monomère ADEGChol ; (a) nos conditions opératoires, (b) conditions opératoires de la référence (5).

I.2.2 Première étape : synthèse du Chol-OTs

Cette étape est le siège de l'activation de la fonction hydroxyle du cholestérol par tosylation. Elle a été effectuée en présence du chlorure de tosyle (TsCl) et de la triéthylamine (NEe_3) à température ambiante pendant 16 h. Dans ces conditions, le rendement est alors faible (46%). Aussi, nous avons cherché à améliorer ce rendement en utilisant une étude réalisée par Y. Yoshida et al. [6] qui a montré que l'ajout d'une quantité catalytique (10% molaire) d'hydrochlorure de triméthylamine (Me_3N-HCl) au milieu réactionnel d'une tosylation accélère la vitesse de substitution des fonctions hydroxyle secondaires par le groupement tosyle et améliore considérablement son rendement. Le schéma I-2 explique le

rôle catalytique joué par Me_3N-HCl lors de cette réaction. La triméthylamine (NMe_3) présente une basicité plus faible que la triéthylamine (NEt_3). Aussi, cette dernière peut neutraliser Me_3N-HCl pour générer in situ NMe_3. En présence du TsCl, NMe_3 donne naissance à un agent de tosylation très réactif, capable de substituer facilement la fonction alcool [6]. Dans notre cas, l'utilisation de 10% molaire de Me_3N-HCl (par rapport à la quantité de NEt_3) a permis d'obtenir 87% de rendement après seulement 2 h de réaction.

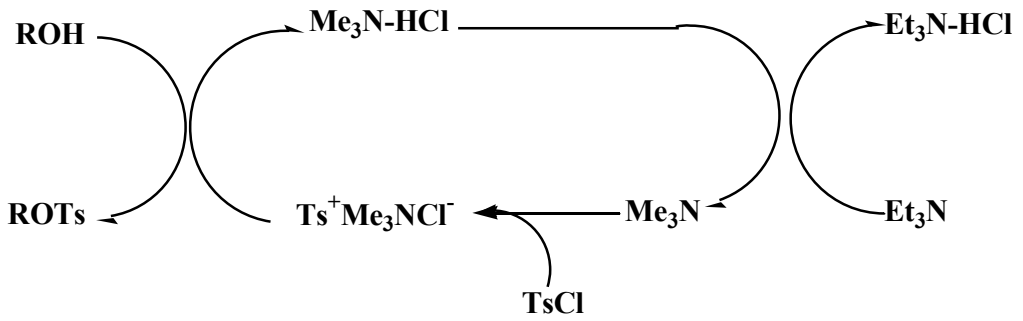


Schéma I-2. Mécanisme réactionnel de la catalyse de la tosylation d'un alcool avec le Me_3N-HCl, inspiré de la référence (6).

Liu et al. [5], quant à eux, utilisent la pyridine pour jouer à la fois le rôle de solvant et de base. Dans notre étude, la triéthylamine a été sélectionnée au lieu de la pyridine pour deux raisons. Premièrement, pour sa basicité plus élevée ce qui permet d'améliorer le rendement de la réaction. Deuxièmement, au cours d'une réaction de tosylation en présence de la pyridine, des réactions secondaires sont souvent observées entre le dérivé tosylé obtenu et les chlorures présents dans le milieu réactionnel (schéma I-3). Dans nos conditions opératoires, cette réaction est négligeable grâce au système catalytique NEt_3/ Me_3N-HCl qui capte efficacement les ions chlorure et limite leur présence dans le milieu réactionnel [6]. Ces points (basicité plus faible et réaction parasite) sont probablement la cause du faible rendement (63%) obtenu dans les conditions décrites par Liu et al. [5].

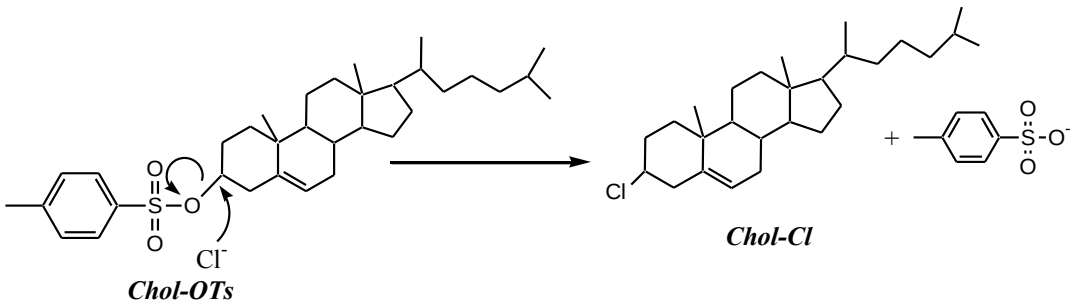


Schéma I-3. Réaction de substitution secondaire du groupement OTs par les ions chlorure.

I.2.3 Deuxième étape : synthèse du DEGChol

Lors de cette étape, le DEG est fixé sur le cholestérol par substitution nucléophile du groupement OTs. Liu et al. [5] réalise cette réaction à reflux du dioxane (116 °C) or, dans le cas des alcools secondaires, la substitution nucléophile réalisée à haute température peut être concurrencée par l'élimination. En effet, lors de nos essais préliminaires menés à 120 °C nous avons pu mettre en évidence un produit secondaire absorbant en UV dans le milieu réactionnel. L'analyse RMN ^{1}H de ce produit a montré qu'il s'agissait d'un dérivé du cholestérol produit par élimination (schéma I-4). Aussi, pour optimiser cette étape, plusieurs essais ont été effectués (tableau I-1). Ces tests montrent d'une part qu'à température ambiante aucune substitution n'est observée. Le rendement de la substitution nucléophile croit avec l'augmentation de la température. D'autre part, l'élimination rentre en concurrence avec la substitution nucléophile à partir de 60 °C et devient très importante à 120 °C. A partir de ces résultats, la température de 100 °C a été retenue pour avoir une substitution rapide du Chol-OTs par le DEG, tout en limitant le risque de la réaction d'élimination. Le rendement molaire obtenu est de 92%, contre 63% obtenu par Liu et al. [5].

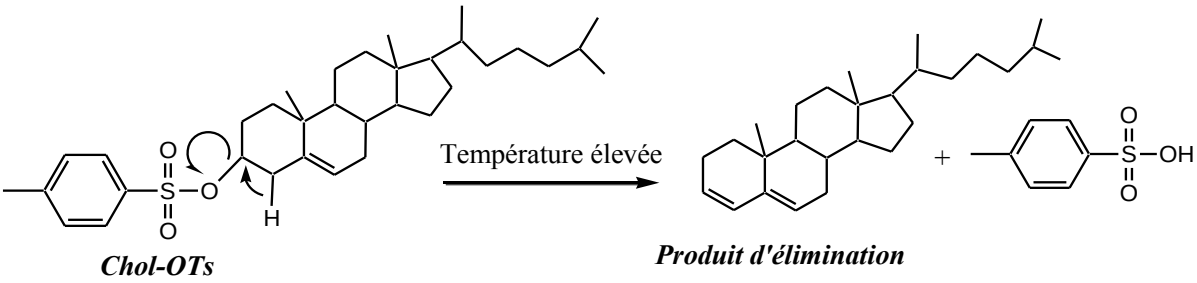


Schéma I-4. Réaction d'élimination du groupement OTs à haute température.

Tableau I-1 Effet de la température sur la 2ème étape. Expériences réalisées dans le dioxane, en utilisant le rapport molaire Chol-OTs/DEG : 1/30.

Expériences	T°C	Durée (h)	Substitution nucléophile	Elimination
1	25°C	12 h	Pas de réaction	-
2	45°C	24 h	Rendement très faible	-
3	60°C	30 h	Réaction lente	Trace
4	100°C	2 h	Réaction rapide	Trace
5	120°C	1 h	Très rapide	< 15% *

* pourcentage molaire déterminé par RMN ^{1}H dans le $CDCl_3$.

I.2.4 Troisième étape : synthèse du ADEGChol

La fonction acrylate polymérisable est introduite sur le DEGChol dans l'ultime étape, par estérification de la fonction hydroxyle du DEGChol par le chlorure d'acryloyle. La réaction est menée dans le dichlorométhane, à température ambiante et en présence de la triéthylamine. Après 1 h de réaction, nous obtenons un rendement de 66% ; tandis que Liu et al. [5] obtient 81% après 3h de réaction dans les mêmes conditions. Malgré ces valeurs, notre rendement global sur les trois étapes est de 53% contre 38% [5].

I.3 CARACTERISATION DES DIFFERENTS INTERMEDIAIRES DE LA SYNTHESE

I.3.1 Par RMN ^1H

La spectroscopie RMN du proton est l'une des techniques de base les plus employées pour obtenir des informations sur la structure et la composition des produits chimiques. Malgré une précision relative (5% d'erreur sur l'intégration d'un pic), son utilisation rapide et aisée en font une technique de choix pour notre étude.

La structure chimique complexe du cholestérol, comportant 46 protons fixés sur 24 carbones dont 6 asymétriques, rend l'identification des pics de chaque proton délicate. Cependant, l'attribution du spectre RMN ^1H du cholestérol a été relatée dans la littérature par plusieurs équipes [7,8]. Dans le spectre RMN ^1H du cholestérol réalisé dans le $CDCl_3$ (figure I-2), les pics des 44 protons portés par les carbones aliphatiques résonnent entre 0,6 ppm et 2,4 ppm. Le pic du proton porté par le carbone aliphatique n° 3 est déblindé à 3,5 ppm à cause de la fonction alcool (groupement attracteur) adjacente. De plus, la forme multiplet de ce pic témoigne du couplage entre le proton porté par le C n° 3 (C_3) et les 4 protons portés par le C_2 (H2α, H2β) ; le C_4 (H4α, H4β) et le proton de la fonction OH. Enfin, le singulet situé à 5,35 ppm correspond au proton porté par le C_6. L'analyse RMN ^1H du cholestérol dans le chloroforme ne permet pas d'observer le couplage O-H. Ceci peut être expliqué par la structure rigide du cholestérol qui induit la formation d'agrégats dans ce solvant ; les fonctions OH se positionnant au centre des agrégats.

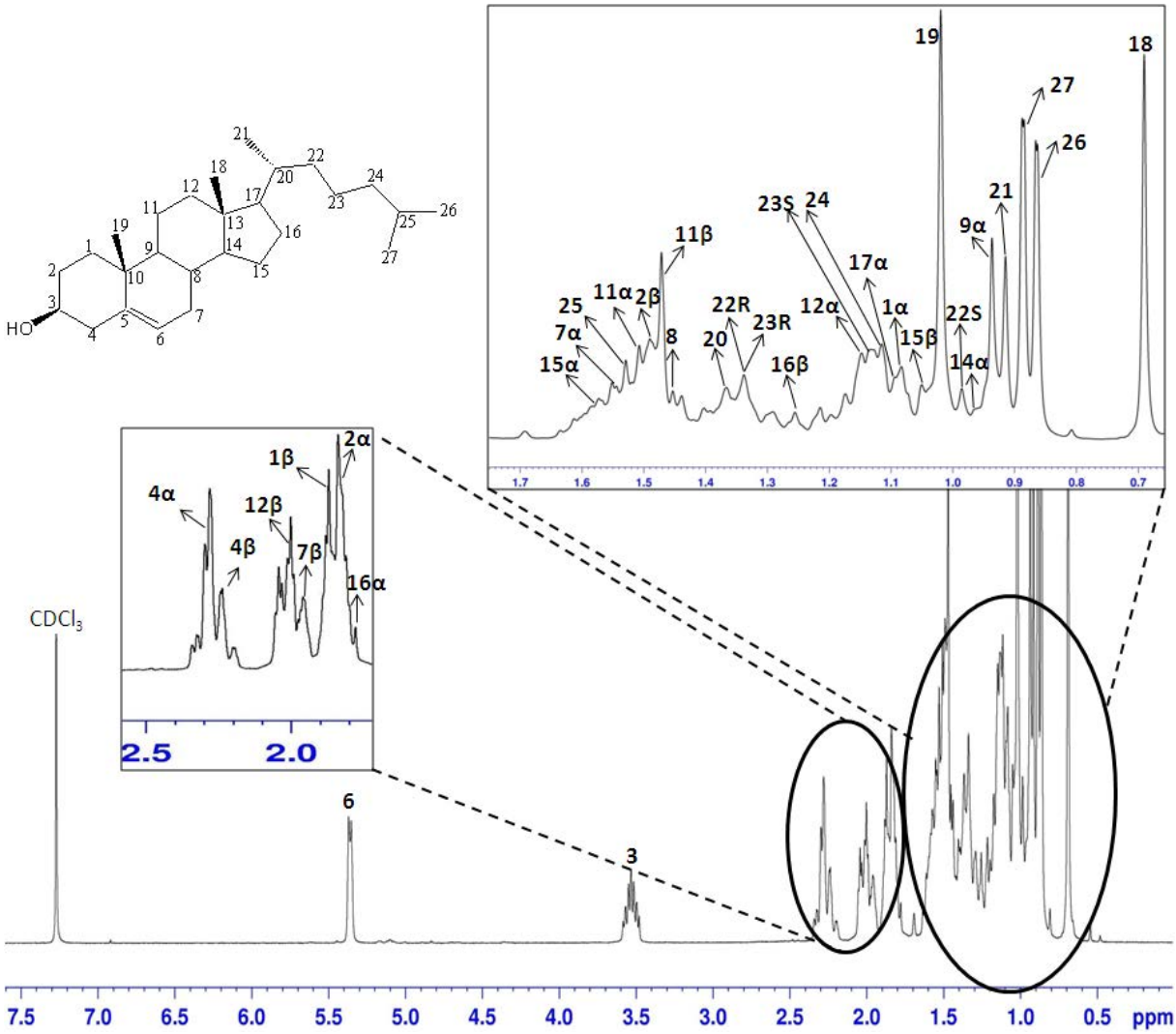


Figure I-2. Spectre RMN ^{1}H du cholestérol dans le $CDCl_3$. Attribution des pics à leur protons correspondant est inspirée des références (7,8).

Les mélanges réactionnels des différentes étapes de synthèse du schéma I-1 ont été purifiés (Partie : techniques expérimentales) puis caractérisés par RMN ^{1}H afin de vérifier la pureté de chaque composé intermédiaire. Les spectres RMN ^{1}H (figure I-4) des différents produits intermédiaires de la synthèse de l'ADEGChol montrent que les déplacements chimiques des protons portés par les carbones aliphatiques du cholestérol restent immobiles (0,6 ppm à 2,4 ppm).

Le produit de la 1ère étape (Chol-OTs) est caractérisé par l'apparition des pics relatifs aux protons du groupement tosylate [(c, doublet, 7,8 ppm), (d, doublet, 7,4 ppm) et (e, singulet, 2,4 ppm)]. Ce groupement attracteur influence le déplacement chimique du proton porté par le C_3 du cholestérol (a, multiplet, 4,4 ppm) en le déblindant vers les champs magnétiques forts (figure I-3B).

Le large massif (f, multiplet, 3,7 ppm) présent sur le spectre RMN ^{1}H du DEGChol (figure I-3C) est attribué aux huit protons du bras espaceur du diéthylène glycol (DEG). Lors de la synthèse de DEGChol, on observe alors la disparition des pics correspondant précédemment au groupe tosylate. Le pic (a) est quant à lui à nouveau blindé et résonne à 3,2 ppm. Le proton de l'alcool terminal est observé (g, singulet, 2,5 ppm).

Finalement, les trois protons de la fonction acrylate [(i, doublet 6.6 ppm), (k, quadruplet, 6.4ppm) et (m, doublet, 6 ppm)] attestent de la synthèse du monomère ADEGChol (figure I-3D). Il faut aussi mentionner la disparition du proton de l'alcool du DEG (pic g). Le pic f est alors divisé en trois pics h, i et j ; (h, multiplet, 3,7 ppm), (i, triplet, 3,8 ppm) et (j, triplet, 4,4 ppm) correspondant respectivement à 4, 2 et 2 protons. Ceci est lié à l'introduction de la fonction acrylate qui déblinde les protons mais encore plus les protons j.

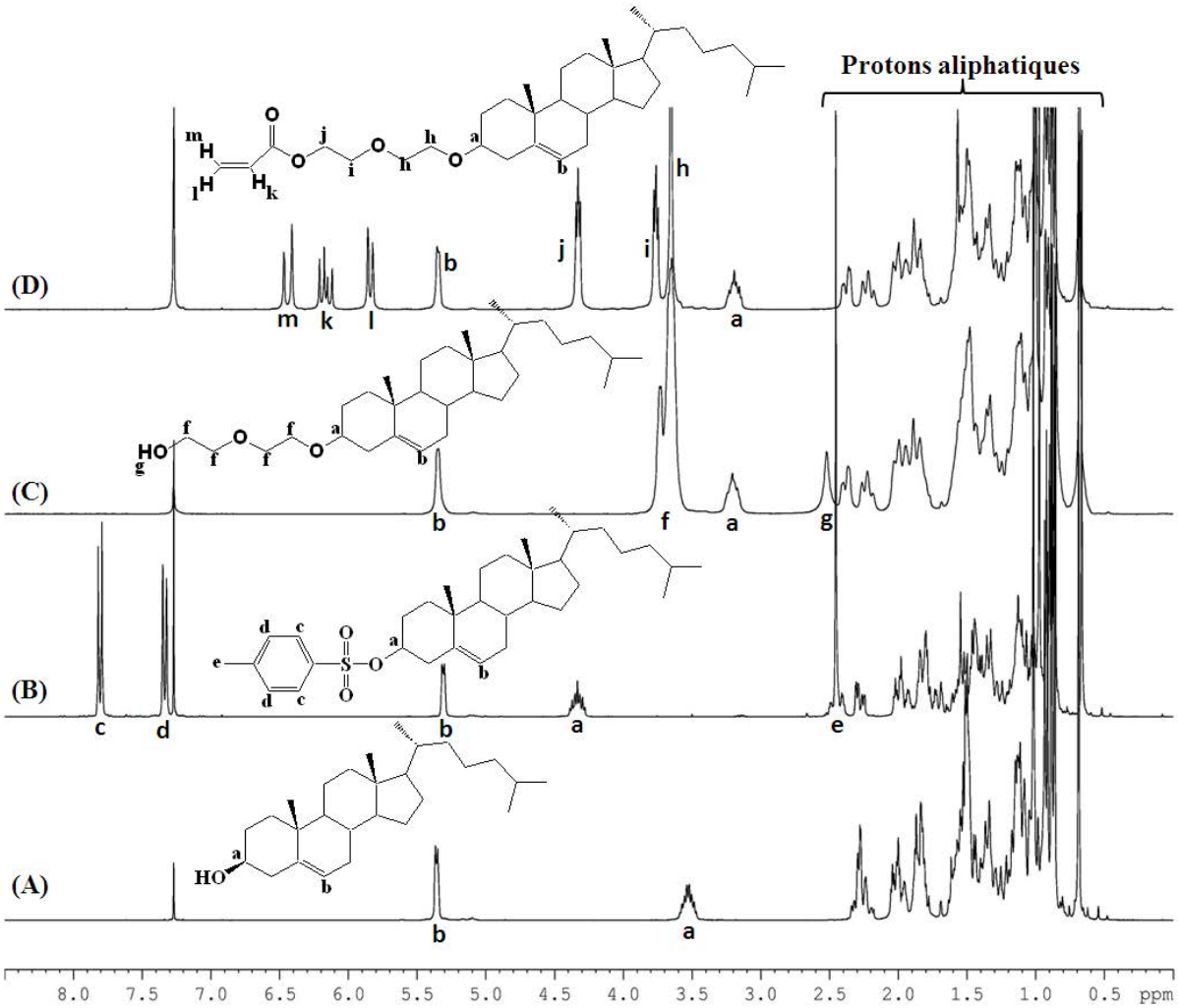


Figure I-3. Spectres RMN ^{1}H ($CDCl_3$) des produits : (A) cholestérol, (B) Chol-OTs, (C) DEGChol, (D) ADEGChol.

I.3.2 Solubilité de l'ADEGChol

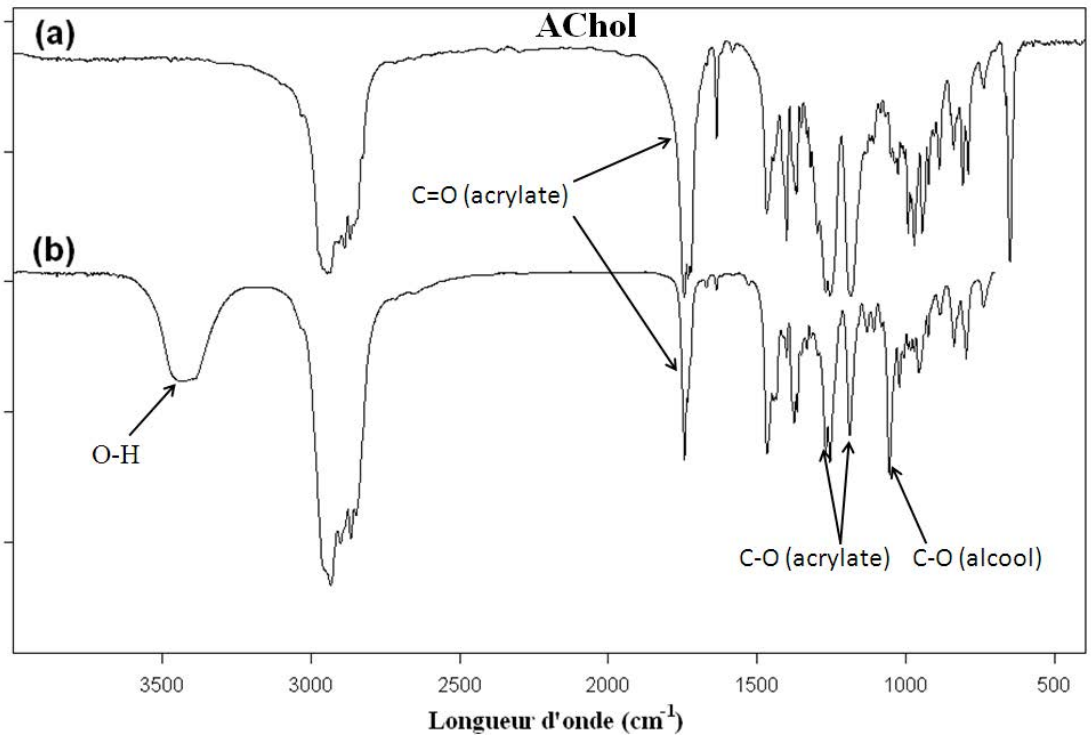
La connaissance de la solubilité de l'ADEGChol est un paramètre crucial pour la suite de notre investigation. Car contrairement au dextrane hydrophile, le groupement cholestérol est un composé très hydrophobe. Le tableau I-2 montre que l'ADEGChol n'est soluble que dans les solvants non dissociants ($\varepsilon < 20$), aprotiques et partiellement polaires ou apolaires ($\mu < 1,75$ D), à l'exception de l'acétone qui est un solvant polaire. La solubilité de l'ADEGChol dans l'acétone, alors que le cholestérol ne l'est pas, peut être justifiée par la présence du bras espaceur diéthylène glycol qui permet de modérer l'hydrophobie du cholestérol.

Tableau I-2 Solubilité du cholestérol et de l'ADEGChol. C = 1mg/ml à T_{amb}. (+) : soluble, (-) non soluble.

	Permittivité diélectrique relative	**Moment dipolaire (μ) en Debye (D)**	**Cholestérol**	**ADEGChol**
Dioxane	2,2	0,45	+	+
Toluène	2,38	0,43	+	+
$CHCl_3$	4,8	1,15	+	+
Acétate d'éthyle	6	1,78	+	+
THF	7,6	1,75	+	+
CH_2Cl_2	8,9	1,74	+	+
1-Octanol	10,3	1,75	+	+
2-Butanol	18	ND	+	+
1-Propanol	20,33	ND	+	+
Acétone	21	2,86	-	+
Ethanol	24,5	1,74	-	-
Méthanol	32,7	1,71	-	-
DMF	37	3,87	-	-
Acétonitrile	37,5	3,45	-	-
DMSO	46,7	3,9	-	-
Eau	78	1,8	-	-

I.4 STABILITE DES MONOMERES ACHOL ET ADEGCHOL

Les monomères AChol et ADEGChol ont subi séparément les conditions basiques qui seront employées ultérieurement, lors de l'ultime étape du schéma de synthèse du glycopolymère. Ceci nous a permis d'estimer leur stabilité dans ces conditions. La figure I-4 présente les spectres infrarouge (IR) des deux monomères avant et après ce test de stabilité. Dans le cas du monomère AChol, une nouvelle bande d'absorbance apparaît à 3440 cm^{-1} (figure I-4b), caractéristique des élongations O-H, après ce test de stabilité, la forme étroite de ce pic et l'apparition conjointe de la bande à 1056 cm^{-1} (élongation C-OH) montrent que la fonction carbonate a subi une hydrolyse, conduisant à la formation d'un alcool secondaire, réaction d'hydrolyse classique des fonctions alcool (schéma I-5). La persistance de la fonction acrylate C=O à 1727 cm^{-1}, caractéristique de la liaison C=O montre cependant que cette hydrolyse n'est que partielle puisque l'on n'observe pas une bande nette vers 1800 cm^{-1}, généralement observée pour les fonctions $-CO_2H$. Ces résultats témoignent, néanmoins que le monomère AChol est instable dans ces conditions basiques. Le monomère ADEGChol, quant à lui, présente le même spectre IR, avant et après le test de stabilité (figures I-4c,d), ce qui confirme la stabilité supérieure de la fonction éther sur la fonction carbonate.



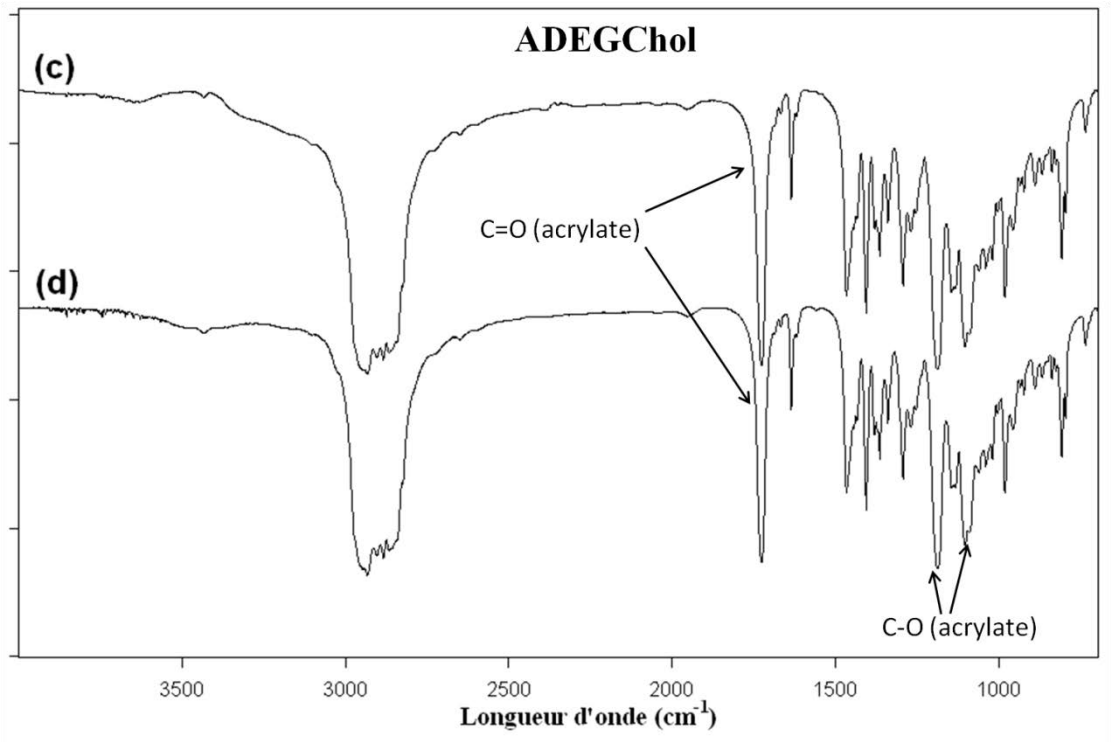


Figure I-4. Influence des conditions basiques sur la stabilité des monomères AChol et ADEGChol. Spectres Infrarouge du AChol (a) avant, (b) après le test de stabilité ; ADEGChol (c) avant, (b) après le test de stabilité.

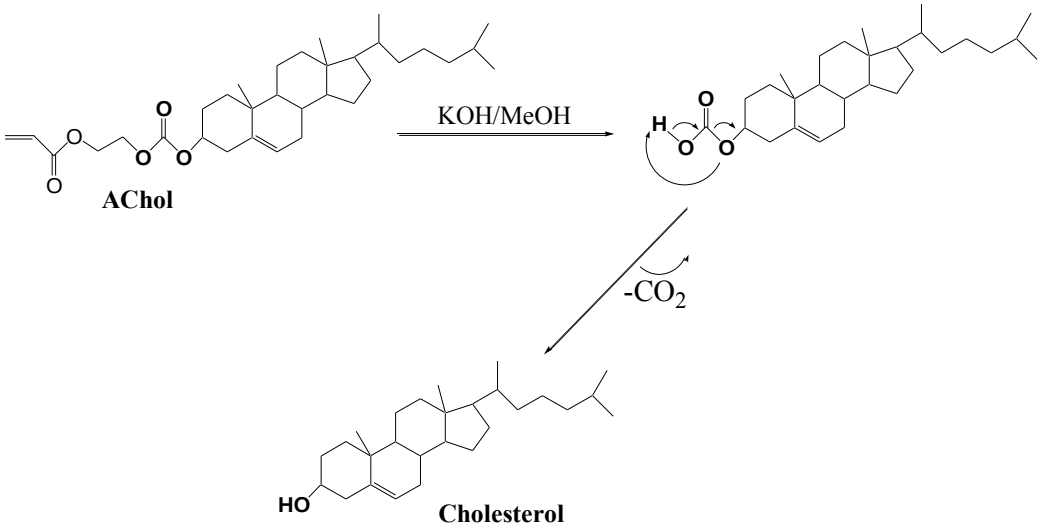


Schéma I-5. Hydrolyse de la fonction carbonate de l'AChol dans des conditions basiques.

II.HOMOPOLYMERISATION DE L'ADEGCHOL PAR ATRP

La mise au point des conditions opératoires optimales pour homopolymériser l'ADEGChol par ATRP à partir d'un amorceur modèle sera décrite dans les pages suivantes. Les conditions expérimentales retenues seront appliquées par la suite pour la croissance de greffons PADEGChol à partir des macroamorceurs dérivés du dextrane. Mais avant de

présenter les résultats obtenus, des rappels sur les polymérisations radicalaires par désactivation réversibles (PRDR) en général, et la polymérisation radicalaire par transfert d'atome (ATRP) en particulier, seront exposés dans le paragraphe suivant.

II.1 POLYMERISATIONS RADICALAIRES PAR DESACTIVATION REVERSIBLES (PRDR)

II.1.1 Notion de polymérisation vivante et contrôlée

Selon Michael Szwarc [9], une polymérisation vivante est un processus de croissance des chaînes macromoléculaires sans réactions de transferts et de terminaisons, que cette polymérisation soit anionique [10], cationique,... Mais bien que ce type de polymérisation permette de conserver le nombre de centres actifs tout le long de la polymérisation, elle ne permet pas nécessairement de contrôler les paramètres macromoléculaires des polymères (masses molaires moyennes en nombre ($\overline{M_n}$) et en masse ($\overline{M_w}$) et dispersité ($Đ = \overline{M_w} / \overline{M_n}$)) [11].

La polymérisation est dite « contrôlée » lorsque les conditions expérimentales employées permettent de contrôler les $\overline{M_n}$, $\overline{M_w}$ et d'obtenir de faibles dispersités. Pour cela, il n'est pas forcément nécessaire que les réactions de transferts et de terminaisons soient inexistantes. Il faut cependant qu'elles soient négligeables et que la vitesse d'amorçage soit très rapide par rapport à la vitesse de propagation [12,13]. Expérimentalement, le caractère contrôlé d'une polymérisation est évalué en suivant sa cinétique ainsi que l'évolution des masses molaires et des dispersités en fonction de la conversion. Ainsi, une polymérisation contrôlée présente trois principales caractéristiques :

- Une évolution linéaire du $\ln([M]_0/[M]_t)$ avec le temps ($[M]_0$ et $[M]_t$ représentent respectivement la concentration initiale et instantanée en monomère) traduit la conservation des centres actifs au cours de la polymérisation (état quasi-stationnaire). En revanche, une consommation accélérée du monomère ou la présence d'une période d'inhibition indiquent généralement la présence d'un amorçage lent. A l'opposé, un ralentissement de la cinétique est le signe d'une diminution de la concentration en centres actifs dans le milieu réactionnel, provoquée par des réactions de terminaison (figure I-5a). Les réactions de transfert quant à elles n'ont pas d'effet sur la cinétique puisqu'il y une conservation de la concentration en espèces actives (sauf pour le cas des transferts donnant des espèces trop peu réactives pour

réattaquer le monomère). Ces réactions sont d'ailleurs souvent considérées comme des réactions de terminaisons).

• Une croissance linéaire des $\overline{M_n}$ avec la conversion en monomère témoigne de la conservation du nombre de chaînes en croissance au cours de la polymérisation. Cependant, si les masses molaires obtenues sont plus faibles que les valeurs théoriques, ceci indique la présence de réactions de transfert. A l'opposé, si les $\overline{M_n}$ sont plus élevées, ceci témoigne d'un amorçage lent et partiel (efficacité non totale de l'amorceur) ou d'un couplage de chaînes par recombinaison des macroradicaux en croissance dans le cas d'une polymérisation non radicalaire (Figure I-5b).

• Une dispersité comprise entre 1 et 1,2. La réduction des dispersités avec la conversion est caractéristique des systèmes présentant un amorçage instantané et des échanges rapides entre les espèces dormantes et actives. En revanche, leur augmentation avec la conversion indique une contribution croissante des réactions de terminaisons et de transferts.

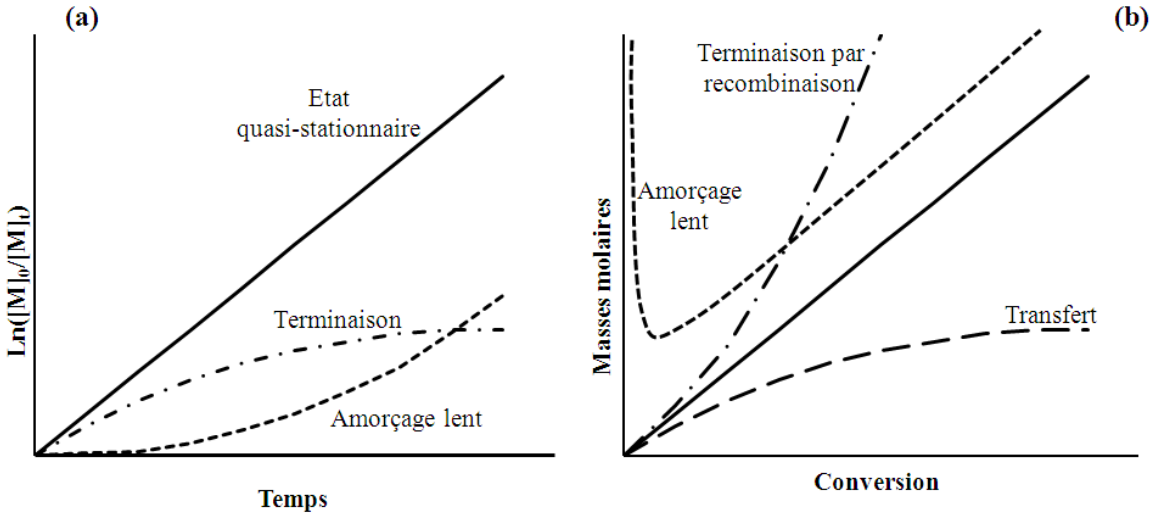


Figure I-5. Influence de la terminaison, de l'amorçage lent et du transfert sur (a) la cinétique de polymérisation, (b) l'évolution des masses molaires en fonction de la conversion.

II.1.2 Principe d'une polymérisation radicalaire par désactivation réversible (PRDR)

Le principe d'une PRDR est basé sur l'établissement d'un équilibre dynamique entre les espèces actives radicalaires (propageantes) et dormantes (non propageantes) [14,15]. Cet équilibre permet de réduire le nombre de radicaux dans le milieu réactionnel et peut être réalisé par différentes stratégies. Les espèces actives radicalaires réagissent alors avec le

monomère durant quelques millisecondes, avant leur désactivation sous forme d'espèces dormantes. La réduction du nombre des centres actifs radicalaires permet de limiter les réactions de transfert et de terminaison et d'accroître virtuellement la durée de vie des centres actifs. De plus, si l'échange entre les espèces actives et dormantes est rapide par rapport à la propagation, il permet alors d'assurer un excellent contrôle de la masse molaire, de la dispersité, et de ce fait, de l'architecture du polymère obtenu.

L'équilibre entre les centres actifs et les espèces dormantes peut être effectué selon trois mécanismes principaux : i) Dissociation-Recombinaison (Schéma I-6a), ii) Transfert de chaîne dégénératif (Schéma I-6b) et iii) Transfert d'Atome (Schéma I-6c).

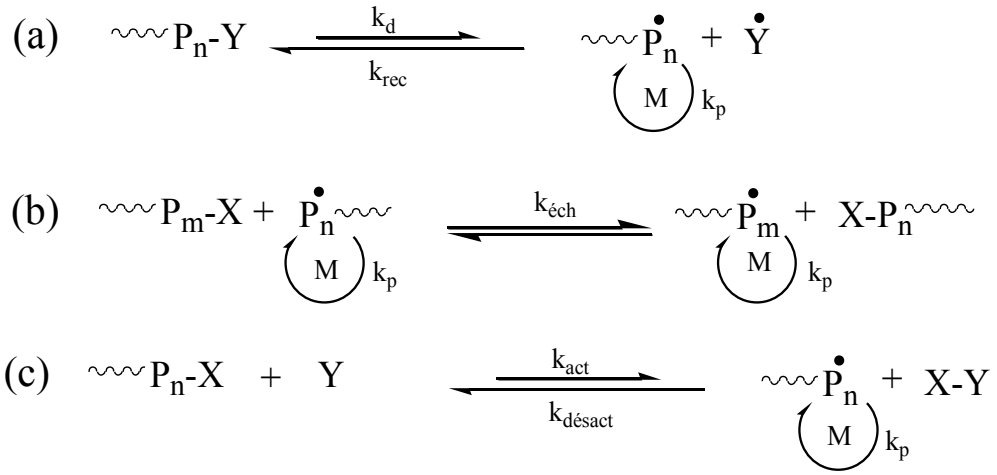


Schéma I-6. Schémas simplifiés des équilibres mis en œuvre pour contrôler une polymérisation radicalaire. (a) Dissociation-Recombinaison, (b) Transfert de chaîne dégénératif et (c) Transfert d'Atome. k_d, k_{rec}, $k_{éch}$, k_{act}, $k_{désact}$ et k_p sont respectivement les constantes de vitesses de dissociation, de recombinaison, d'échange, d'activation, de désactivation et de propagation.

II.1.2.1 Dissociation-Recombinaison

La polymérisation contrôlée par les nitroxydes (NMP) [16] est la première technique à avoir été décrite pour maîtriser la polymérisation radicalaire. Son principe est basé sur la dissociation thermique ou photochimique d'une espèce dormante (P-Y) en un radical actif P°, qui propage la polymérisation du monomère, et un radical Y°, suffisamment stable pour ne pas réagir avec le monomère mais qui peut se recombiner avec le radical P° et reformer l'espèce dormante P-Y selon un équilibre dynamique (Schéma I-6a) [15,17,18]. De plus, Y° ne doit pas réagir avec lui-même, ni participer à des réactions secondaires telles que la dismutation avec le radical P°. Le schéma I-7 représente un exemple d'une polymérisation par NMP en utilisant le radical 2,2,6,6-tétraméthyl-1-pipéridinyloxy (TEMPO) [15].

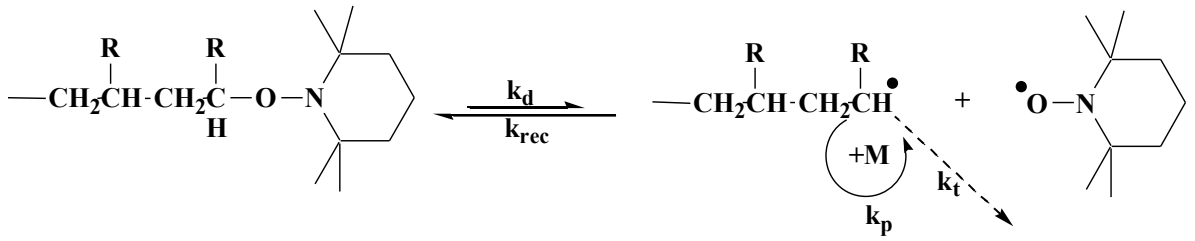


Schéma I-7. Réaction d'équilibre d'une NMP. Cas particulier du nitroxyde TEMPO. k_d, k_{rec} sont respectivement les constantes de vitesses de dissociation et de recombinaison.

La technique NMP n'a pas été retenue dans le cadre de notre étude pour plusieurs raisons :

i) Les systèmes utilisant le TEMPO ont une vitesse de polymérisation lente puisque l'équilibre est trop fortement déplacé vers les espèces dormantes.

ii) La température de polymérisation nécessaire pour rompre la liaison C-TEMPO est souvent élevée (125 °C à 140 °C).

iii) La NMP contrôlée par le TEMPO est plutôt efficace dans le cas du styrène et ses dérivés et inappropriée pour la polymérisation des acrylates [19]. Cependant, il existe d'autres nitroxydes comme le N-tertbutyl-N-(1-diéthylphosphono-2,2-diméthylpropyl) nitroxyde (DEPN) qui présente une constante de dissociation plus élevée mais nous avons estimé que l'encombrement stérique du monomère ADEGChol pourrait ralentir le processus de recombinaison entre la chaîne en croissance et le DEPN, et donc limiter le contrôle de la polymérisation.

II.1.2.2 Transfert de chaîne dégénératif

Le principe de cette technique est basé sur un échange « dégénératif » réversible entre les macroradicaux en croissance et les espèces dormantes, dans lequel un radical libre (P_n°) attaque une espèce dormante (P_m-X) pour former une nouvelle espèce dormante (P_n-X) et un nouveau radical (P_m°) pouvant, à son tour, propager la polymérisation. La permutation du site radicalaire entre les espèces contribue à la conservation de la concentration en espèces radicalaires. Cet échange peut être effectué selon deux mécanismes en fonction de la nature chimique de l'espèce X :

- Si X est un atome ou un simple groupement, alors il est transféré directement d'un radical (P_n°) à l'autre (P_m°) sans passer par un intermédiaire. Dans ce cas, on parle d'un « transfert dégénératif d'atome ». La polymérisation radicalaire contrôlée par transfert d'iode (RITP) est un exemple typique de ce mécanisme [20,21].

• Si X est un groupement porteur d'une double liaison (C=S), celle-ci est susceptible de réagir avec le radical libre ($P_n°$) selon une réaction d'addition pour former un radical intermédiaire stable ($P_n - X° - P_m$) qui se fragmente par la suite en un radical libre ($P_m°$) et en une espèce dormante P_n-X (schéma I-8, étape c). Ce mécanisme a été décrit initialement lors de la polymérisation des dérivés méthacryliques [22]. Mais actuellement, il est possible de contrôler la polymérisation de nombreux monomères en utilisant un agent de transfert (ex. thiocarbonylthio (R-S-C(=S)-Z)) et un amorceur tel que l'AIBN. Souvent le groupe Z est un groupe aryle, alkyle ou thioalkyle... Dans ce cas le mécanisme est appelé « transfert dégénératif par addition-fragmentation » (RAFT) [23]. Cette polymérisation RAFT a notamment été développée par le Pr. Rizzardo [24] et plus généralement par le « Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization » (CSIRO) [25] en Australie . Parallèlement à ces travaux, le Pr. Zard et en collaboration avec la société Rhodia avaient employé le même principe de cette polymérisation par transfert de chaîne mais en utilisant un agent de transfert présentant un groupement « alkoxy » comme groupe Z, on parle dans ce cas d'une polymérisation MADIX (MAcromolecular Design via the Interchange of Xanthates) [26]. Le mécanisme détaillé d'une polymérisation RAFT est représenté dans le schéma I-8. Le choix des deux groupes R et Z est un facteur primordial permettant d'optimiser au mieux le contrôle de la polymérisation en fonction du monomère utilisé. En effet, le radical R° formé après fragmentation doit être un bon groupement partant et réagir très rapidement avec le monomère pour amorcer les chaînes. Le groupement Z, quant à lui, doit contribuer à l'activation de la double liaison C=S lors de l'étape de l'addition et assurer l'instabilité du radical intermédiaire afin d'éviter les périodes d'inhibition ou de retard de la polymérisation observées dans certains cas, et particulièrement lors de la polymérisation des acrylates [27,28].

Notons que récemment, la polymérisation RAFT de l'ADEGChol a été utilisée, en parallèle de nos travaux par l'équipe de J. Yang. [5]. Toutefois, aucune étude cinétique n'a été relatée par ces auteurs. De plus, ils mentionnent avoir échoué à polymériser l'ADEGChol par ATRP.

Le LCPM ne possédant pas d'expertise en polymérisation RAFT lorsque ce doctorat a été initié, cette technique n'avait pas été envisagée.

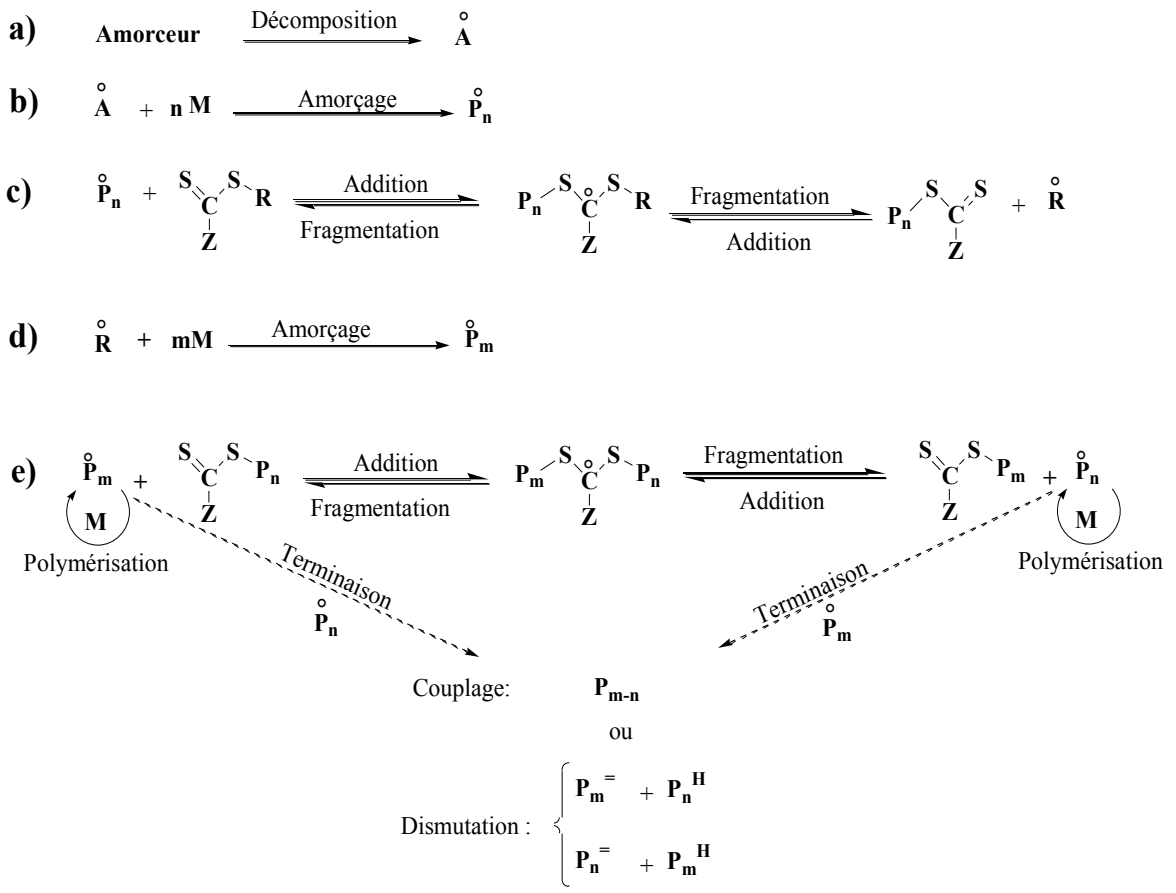


Schéma I-8. Mécanisme général de la polymérisation par RAFT. Cas des agents de transfert thiocarbonylthio.

II.1.2.3 Polymérisation par Transfert d'Atome

Le développement de cette voie de synthèse repose essentiellement sur les travaux de Matyjaszewski et Sawamoto [29–31]. Son principe est basé sur le transfert d'un atome (X), généralement halogène, porté par l'espèce dormante sur un métal de transition (Mt^n) produisant une espèce radicalaire (R°) qui peut amorcer la polymérisation (schéma I-9). Ce radical (R°) est rapidement désactivé en R-X par une réaction inverse de transfert de l'halogène porté par le complexe métallique ($Mt^{n+1}X$) [13,15]. Cette technique est appelée Polymérisation Radicalaire par Transfert d'Atome (ATRP) [13]. Au fil des années, les systèmes d'amorçage des ATRP ont été adaptés pour réduire la quantité du catalyseur métallique dans le milieu réactionnel (en milieu dispersé, en présence d'air...). Ces nouvelles techniques de polymérisation sont connues sous de nombreux noms suivant le système d'amorçage utilisé : l'ATRP inverse [32], l'ATRP SR/NI (amorçages simultanés normal et inverse) [33], l'ATRP AGET (activateurs générés par transfert d'électrons) [34,35], l'ATRP ARGET (activateurs régénérés par transfert d'électrons) [36–38], l'ICAR (ATRP en présence d'amorceur pour la régénération continue de l'activateur) [39].

Une nouvelle méthodologie de polymérisation contrôlée a récemment été développée par Percec et co.[40] et est appelée polymérisation radicalaire contrôlée par transfert d'électron (SET). Bien que cette technique permette un bon contrôle de la polymérisation des acrylates [42], elle n'a pas été envisagée dans notre cas puisque l'ADEGChol n'est pas soluble dans les solvants polaires tel que le DMSO, condition indispensable pour le bon fonctionnement de cette voie de polymérisation.

Dans le cadre de nos travaux de recherches, l'ATRP a été employée pour la polymérisation de l'ADEGChol, par sa capacité à polymériser de nombreux monomères et plus particulièrement les monomères acryliques. Le paragraphe suivant fera l'objet d'une étude plus détaillée de cette technique.

II.1.3 Polymérisation radicalaire par transfert d'atome (ATRP)

II.1.3.1 Mécanisme de l'ATRP

L'ATRP développée conjointement par Matyjaszewski et Sawamoto [13,14,29,31], est une technique de polymérisation radicalaire par désactivation réversible qui met en jeu une espèce (R-X), X est généralement un brome ou un chlore, en présence d'un métal de transition (Mt^n) possédant au moins un degré d'oxydation supérieur (n+1) et lié à un contre-ion Y par une liaison covalente ou ionique (Mt^n-Y). Ce dérivé (Mt^n-Y) est complexé par un ou plusieurs ligands (L) qui assurent sa solubilité dans le milieu réactionnel. Le complexe métallique obtenu (Mt^n-Y/L^m) agit sur R-X en coupant sa liaison C-X d'une façon homolytique, générant ainsi une espèce radicalaire active (R°) et un complexe métallique oxydé à un degré d'oxydation supérieur (X-Mt^{n+1}-Y/L^m) qui a capté l'halogène X. Les radicaux libres (R°) alors formés sont capables soit d'amorcer et de propager la polymérisation, soit de subir des réactions parasites de terminaison par couplage ou dismutation ou encore de transfert. Afin de réduire la proportion de ces réactions parasites il faut réduire la concentration des radicaux R° et déplacer l'équilibre vers la régénération d'une chaîne dormante fonctionnalisée par un atome d'halogène (P_m-X) et du métal de transition de départ (Mt^n-Y/L^m) (schéma I-9).

Selon Matyjaszewski [13], la cinétique de l'ATRP dépend essentiellement du rapport des concentrations en complexes métalliques Mt^n et Mt^{n+1} et de celle en monomère. A partir du schéma I-9, et si on suppose que les réactions de terminaison sont négligeables et que l'équilibre entre les espèces actives et dormantes est rapidement établi, la vitesse de l'ATRP à un instant t peut être exprimée par l'équation I-1. Après intégration, et si le rapport des

concentrations en complexes métalliques (Mt^n et Mt^{n+1}) reste constant, l'équation I-2 est utilisée pour décrire la cinétique de l'ATRP.

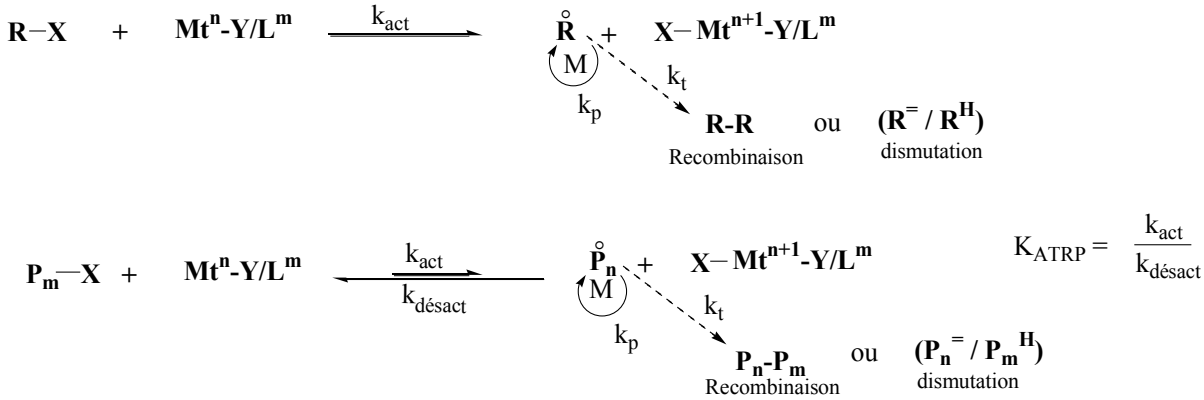


Schéma I-9. Mécanisme général de la polymérisation radicalaire par transfert d'atome (ATRP). K_{act}, $k_{désact}$, k_p, k_t, sont respectivement les constantes de vitesses d'activation, désactivation, propagation et de terminaison.

$$R_p = \frac{d[M]}{dt} = k_p[M][\dot{P_n}] = k_p K_{ATRP}[M][P_n - X](\frac{[Mt^n]}{[Mt^{n+1}]})$$ ***Equation I- 1***

$$ln\left(\frac{[M]_0}{[M]_t}\right) = k_p K_{ATRP} \frac{[P_n - X]_0 [Mt^n]_0}{[Mt^{n+1}]_0} t$$ ***Equation I- 2***

$K_{ATRP}=\frac{k_{act}}{k_{désact}}$ est la constante d'équilibre de l'ATRP. k_{act}, $k_{désact}$ et kp, sont respectivement les constantes de vitesses d'activation, de désactivation et de propagation.

Cependant, Fischer et coll [43–45] ont montré que, dans certains cas, l'évolution du $ln\left(\frac{[M]_0}{[M]_t}\right)$ n'est pas simplement linéaire avec le temps à cause de l'effet « radical persistant ». En effet, dans les premiers instants de la polymérisation, si la quantité de Mt^{n+1} est insuffisante pour établir l'équilibre thermodynamique de l'ATRP, alors (~5%) des radicaux libres (R°) (ou des chaînes de polymères en croissance (P_n°)) seront sacrifiés via des réactions de terminaison irréversibles jusqu'à atteindre la valeur seuil nécessaire de Mt^{n+1}. Dans ce cas, le $ln\left(\frac{[M]_0}{[M]_t}\right)$ évolue linéairement avec $t^{2/3}$ (équation I-3) et non avec t.

Dans le cas des ATRP utilisant les complexes métalliques à base de cuivre, l'ajout d'une faible quantité de Cu^{II} (5% à 10%) aux premiers instants de la polymérisation permet d'assurer l'établissement rapide de l'équilibre ATRP et de limiter ces réactions de terminaison. Dans ces conditions, la cinétique de polymérisation peut effectivement être décrite par les équations I-1 et I-2 [46].

$$ln\left(\frac{[M]_0}{[M]_t}\right) = \frac{3}{2}k_p([P_n - X]_0[Mt^n]_0)^{\frac{1}{3}}\left(\frac{K_{ATRP}}{3k_t}\right)^{\frac{1}{3}} t^{\frac{2}{3}}$$ ***Equation I- 3***

k_t est la constante de vitesse de terminaison.

La dispersité (Đ) [13], quant à elle, dépend seulement de la concentration en Mt^{n+1} et du rapport $\frac{k_p}{k_{désact}}$. Elle peut être exprimée par l'équation I-4 en fonction de la conversion.

$$Đ = \frac{\overline{M_w}}{\overline{M_n}} = 1 + \left(\frac{[RX]_0\, k_p}{[Mt^{n+1}]\, k_{désact}}\right)\left(\frac{2}{conversion} - 1\right)$$ ***Equation I- 4***

II.1.3.2 Paramètres influençant l'ATRP

Outre le monomère, le milieu réactionnel d'une ATRP en solution comporte quatre composants : un système catalytique (catalyseur métallique et ligand), un amorceur et un solvant. Le choix de chacun de ces composants est primordial pour réussir le contrôle d'une ATRP.

a) <u>Système catalytique</u>

Ce composant est l'un des facteurs le plus important car il détermine le déplacement plus ou moins marqué de l'équilibre réactionnel vers les espèces dormantes et l'échange dynamique entre espèces dormantes et actives. Il est composé d'un métal de transition et d'un ligand. Plusieurs prérequis sont nécessaires pour qu'un système catalytique soit efficace [13] :

- Amorçage rapide et quantitatif pour avoir une croissance simultanée des chaînes de polymère et par conséquent une faible Đ.
- Equilibre déplacé vers la formation de l'espèce dormante, afin de réduire la concentration des radicaux libres dans le mélange réactionnel et limiter par conséquent les réactions de terminaisons irréversibles.
- Activation rapide des chaînes dormantes pour avoir une vitesse de polymérisation raisonnable.
- Absence de réactions parasites pour certains monomères comme la β-H élimination ou l'oxydation/réduction des radicaux libres.

❖ Métal de transition

Trois caractéristiques sont exigées pour qu'un métal soit efficace en ATRP. Il doit avoir:

i) Au moins deux états d'oxydation facilement accessibles et séparés par un seul électron (passage de l'état M^n à M^{n+1}).

ii) Une affinité aux halogènes.

iii) Une sphère de coordination expansible pour accueillir les atomes d'halogène. Plusieurs métaux de transition ont été employés tels que le Ti [47], Mo [48], Re [49], Fe [50], Ru [51], Rh [52], Ni [53], Pd [54], mais le cuivre [55] reste le métal de transition le plus utilisé en ATRP, notamment sous forme $Cu^{I}Br$ ou $Cu^{I}Cl$. Ceci s'explique par son faible coût, sa polyvalence et son efficacité.

❖ Ligand

La complexation du métal de transition par le ligand permet sa solubilisation dans le milieu réactionnel et d'ajuster à la fois son potentiel redox et son caractère halogénophile [56]. Les ligands azotés sont les plus étudiés en ATRP, contrairement aux ligands sulfurés, oxygénés ou phosphorés. En effet, ces derniers présentent un effet électronique inapproprié et des interactions fortes, donc défavorables avec le métal de transition [13,56]. La structure, le nombre de sites de coordination et la nature chimique du ligand influencent considérablement la constante d'équilibre de l'ATRP (K_{ATRP}) (Figure I-6) [56]. En effet, plus le nombre de sites de coordination augmente dans le ligand plus l'activité du Mt^n-y/L^m augmente.

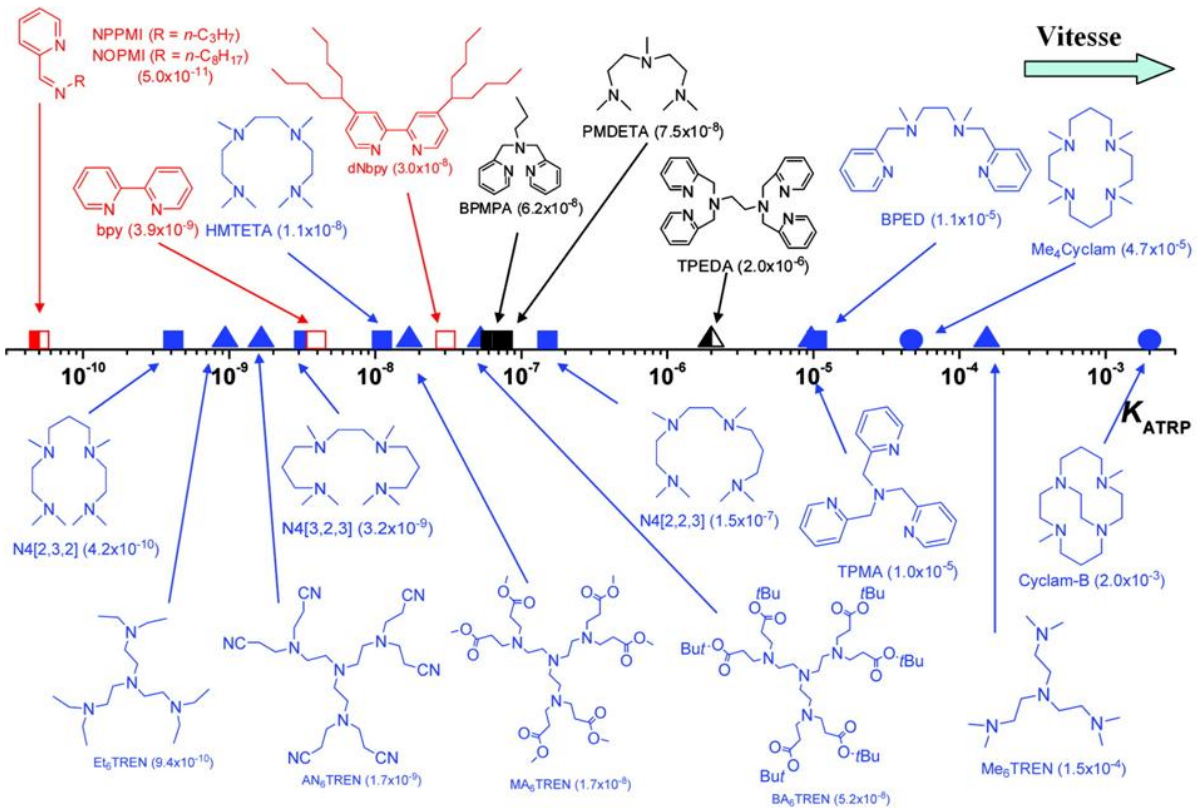


Figure I-6. Influence d'une variété de ligands azotés sur la constante d'équilibre K_{ATRP} des polymérisations amorcées par 2-bromoisobutanoate d'éthyle (EiBr) en présence de $Cu^{I}Br$ dans l'acétonitrile à 22 °C. Couleur : rouge (N2), noir (N3), bleu (N4). Symbole : ⍑ (linéaire), Δ (étoile), ○ (cyclique), plein (amine/imine), vide (pyridine), moitié plein (mixte amine et pyridine) [56].

b) <u>Amorceur</u>

L'amorceur est également un paramètre important pour maîtriser une ATRP. Un bon amorceur doit rapidement amorcer la propagation et ne pas conduire à des réactions secondaires. Les dérivés halogénés (RX), et plus précisément les halogénures d'alkyle, sont les plus couramment employés [13,15]. La vitesse de polymérisation est alors du 1er ordre selon la concentration en RX. Afin d'avoir un bon contrôle de la masse molaire et une faible dispersité, l'halogène X doit rapidement et sélectivement migrer entre la chaîne en croissance et le métal de transition complexé. Le meilleur contrôle est obtenu avec les dérivés bromés puis les chlorés (avec une plus faible efficacité). Les autres halogènes ne sont pas ou peu utilisés soit par ce que la liaison C-X est très stable (X= Fluor), soit parce que la liaison C-X se rompt hétérolytiquement (X= Iode).

La plupart du temps les halogènes X et Y sont de même nature (X = Y = Br ou Cl). Mais dans certains cas, la présence mixte d'un mélange des deux halogènes, Br et Cl, est utilisé pour améliorer le contrôle de l'ATRP en utilisant un amorceur R-Br et un système catalytique

avec Y = Cl. Ce procédé est intitulé *« échange d'halogène »* [57,58]. Il est employé lors de la polymérisation d'un monomère très actif à partir d'un amorceur peu réactif (k_{act} faible) ; ce cas de figure étant à priori peu favorable au contrôle de la polymérisation. Ainsi, lorsqu'un amorceur porteur d'un Cl terminal est utilisé en présence de $Cu^{I}Cl$, l'amorçage de l'ATRP peut être lent. Dans ce cas certaines molécules d'amorceurs se dissocient en radicaux donnant naissance à des chaînes en croissance qui s'allongent très rapidement à cause de la réactivité élevée du monomère alors que d'autres molécules amorceurs n'ont toujours pas pu amorcer et sont toujours sous la forme R-Cl. Ceci conduit au final à un polymère de grande dispersité (schéma I-10a). En revanche, si l'amorceur porte un brome terminal et si le catalyseur utilisé est de type $Cu^{I}Cl$, les premières chaînes en croissance formées se désactiveront en fixant un chlore, ce qui réduit leur réactivité ultérieure. La liaison C-Cl est en effet plus difficile à rompre que la liaison C-Br. Par conséquent les molécules amorceurs dotées de brome terminal qui ne se sont pas dissociées ont plus de temps pour amorcer la polymérisation. Cet échange d'halogène permet d'améliorer le contrôle de la croissance des chaînes et réduire la dispersité du polymère (schéma I-10b) [57].

c) Solvant

L'ATRP a été réalisée avec succès en masse, en solution et dans des systèmes hétérogènes (émulsion, suspension,…). Plusieurs solvants tels que le benzène, le toluène, l'anisole, l'acétate d'éthyle, l'acétone, le DMF, les alcools, le DMSO ou l'eau ont été utilisés [13]. Plusieurs facteurs doivent être pris en considération lors du choix du solvant [59] :

i) Le transfert au solvant et les réactions secondaires (telles que l'élimination des acides halogéniques (HX)) doivent être minimisés.

ii) L'interaction entre le solvant et le complexe métallique doit être négligeable afin de ne pas perturber la complexation du métal par le ligand.

iii) La polarité du solvant qui influence la vitesse de polymérisation [60].

Ainsi, la vitesse d'ATRP dans les solvants polaires est plus rapide que dans les solvants apolaires. Ceci est justifié par l'augmentation de la constante d'équilibre de l'ATRP (K_{ATRP}) avec la polarité du solvant. En effet, la constante d'activation (k_{act}) augmente proportionnellement avec la polarité, tandis que la constante de désactivation $k_{désact}$ est inversement proportionnelle à cette grandeur [60].

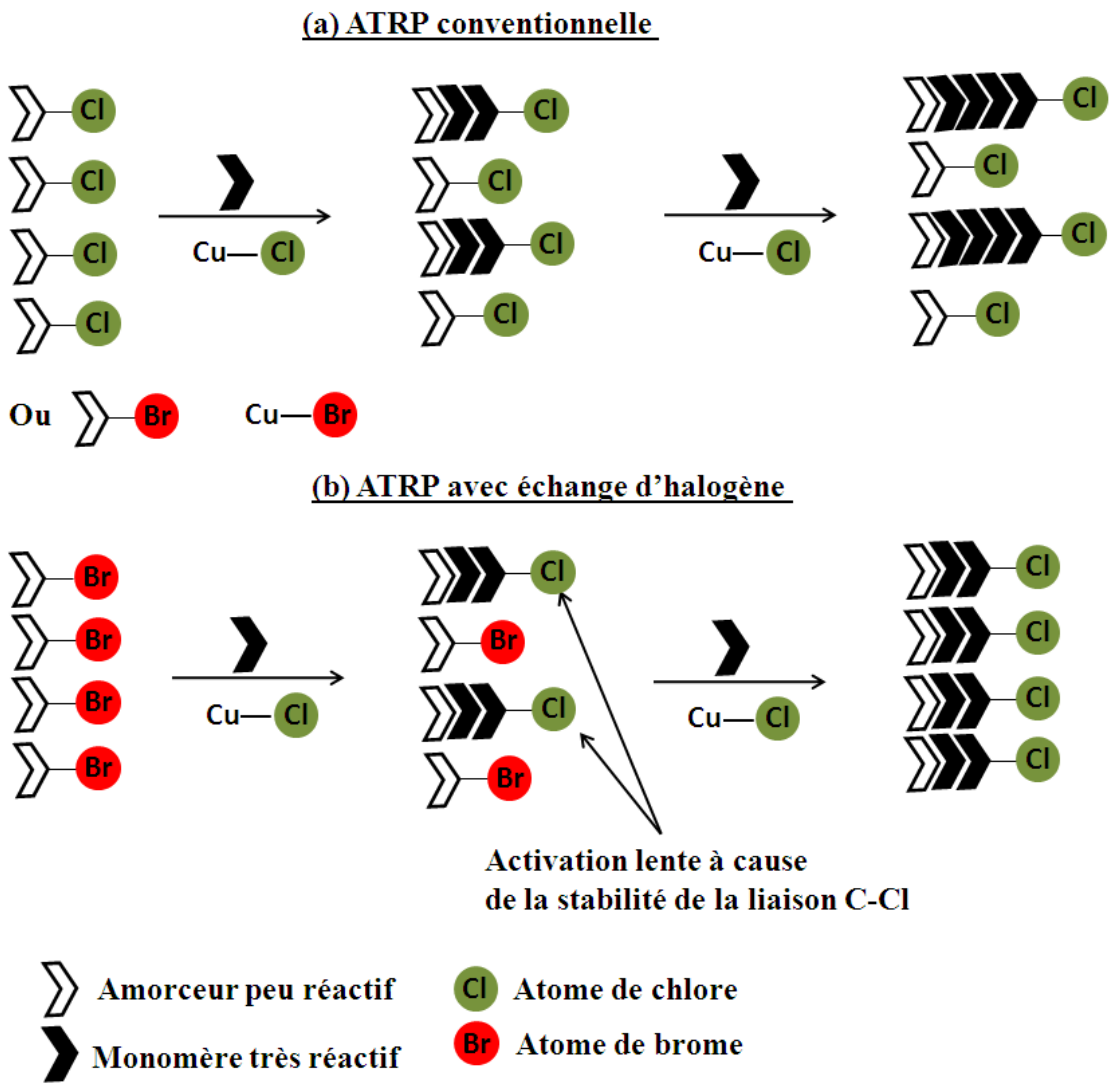


Schéma I-10. Comparaison de la croissance des chaînes de polymère en utilisant (a) l'ATRP conventionnelle, (b) l'ATRP avec échange d'halogène. (schéma inspiré de la référence [57]).

II.1.3.3 ATRP des acrylates

De nombreux monomères ont été polymérisés par ATRP tels que les monomères styrèniques, (méth)acrylates, acides (méth)acryliques, (méth)acrylamides, diènes et acrylonitriles. Dans les mêmes conditions opératoires, chaque monomère présente ses propres constante d'équilibre d'ATRP et vitesse de polymérisation [13,15]. La constante d'équilibre K_{ATRP} des méthacrylates est par exemple plus élevée que celle des acrylates $K_{ATRP}^{MMA} >> K_{ATRP}^{MA}$ [61].

L'ATRP contrôlée des acrylates (figure I-7) a été réalisée avec succès en masse et en solution. Les amorceurs les plus employés sont les halogénures d'alkyles, comme le 2-bromopropionate de méthyle [62] et le 2-bromoisobutanoate d'éthyle (E*i*Br) [63], ainsi que des composés tels que le chlorure de 4-toluènesulfonyle [61] ou le chlorure de benzyle [64]. Le fer [65] et

le cuivre sont les métaux de transition les plus efficaces pour l'ATRP des acrylates. Cependant, le cuivre reste néanmoins le catalyseur le plus utilisé, car il permet à la fois d'avoir une vitesse de polymérisation relativement rapide et un déplacement de l'équilibre vers la formation des espèces dormantes, ce qui facilite le contrôle de la polymérisation [59].

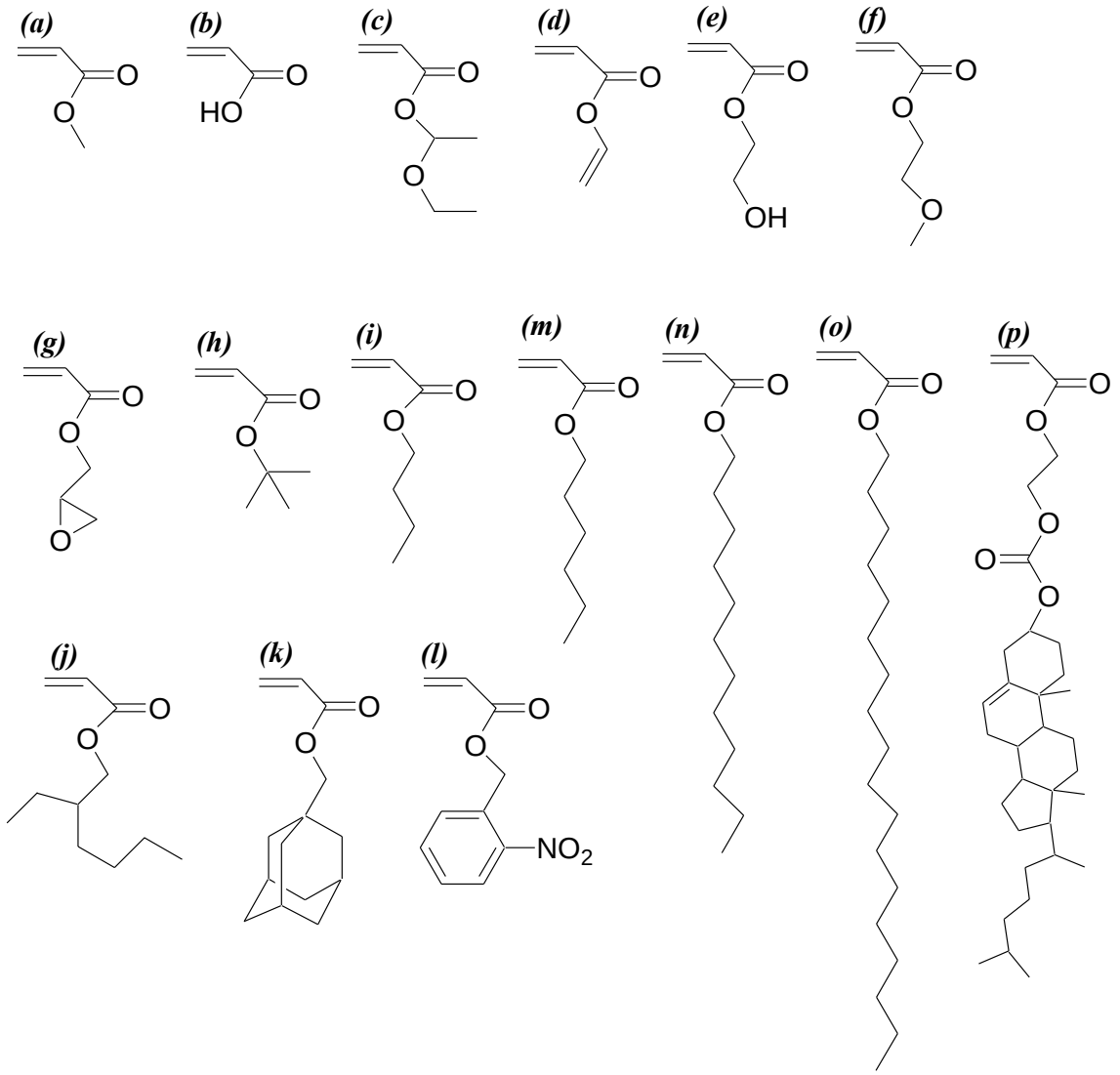


Figure I-7. Structures chimiques de quelques monomères acryliques polymérisés avec succès par ATRP : (a) acrylate de méthyle [69], (c) acrylate d'éthoxyéthyle [67], (d) acrylate d'allyle [70], (e) acrylate d'hydroxyéthyle [64], (f) acrylate de méthoxyéthyle [71], (g) acrylate de glycidyle [72], (h) acrylate de tert-butyle [62], (i) acrylate de butyle [73], (j) acrylate de 2-éthylhexyle [74], (k) acrylate d'adamantyle [75], (m) acrylate d'hexyle [76], (n) acrylate de lauryle [77–79], (o) acrylate d'octadécyle [63,80], (p) acryloyloxyéthyl carbonate cholestéryle [2,3]. L'ATRP n'est pas contrôlée pour l'acide acrylique (b)[66] et l'acrylate de nitrobenzyle (l) [68].

La nature du groupement alkyle des acrylates a une grande influence sur leur ATRP. En effet, l'ATRP en présence de certains groupements est impossible. C'est le cas par exemple de l'acide acrylique (figure I-7b) qui de part sa fonction acide participe à des réactions

secondaires avec le complexe métallique et quaternise les ligands azotés [66]. L'une des solutions utilisées pour obtenir le poly(acide acrylique) avec des paramètres macromoléculaires contrôlées est alors d'effectuer l'ATRP d'un dérivé d'acide acrylique protégé comme l'acrylate d'éthoxyéthyle ou de tert-butyle (figures I-7c ou h), suivie d'une déprotection dans des conditions spécifiques [67]. L'ATRP de l'acrylate de nitrobenzyle (figure I-7*l*) est également très difficile à contrôler à cause des nombreuses attaques secondaires des radicaux libres sur le cycle aromatique, le groupe nitro ou encore sur les hydrogènes benzyliques [68].

La nature chimique du groupement alkyle peut également avoir des conséquences dramatiques sur la solubilité du complexe métallique dans le milieu réactionnel et par conséquent sur le contrôle de la polymérisation. En effet, lors de l'ATRP en masse des acrylates porteurs de groupements alkyle plus ou moins hydrophobes tels que le butyle [73,81,82], le tert-butyle [62] ou l'hexyle [76] (figures I-7h, i et m), les complexes métalliques cuivriques ($Cu^{I}X$ et/ou $Cu^{II}X_2$) se sont avérés peu ou pas solubles en présence des ligands conventionnels comme la 2,2'-bipyridine (bpy) [76] et la N,N,N',N'',N''- pentaméthyl diéthylènetriamine (PMDETA) [73,76,81,82,62]. Cette insolubilité est essentiellement due à l'incompatibilité chimique entre la nature polaire du catalyseur métallique et la nature apolaire des monomères et polymères correspondants. Ce phénomène n'a pas été observé avec d'autres monomères acrylates porteurs de groupements moins apolaires comme le méthyle [69], le méthoxyéthyle [71] ou l'hydroxyméthyle [64] (figures I-7a, f et e). L'une des solutions utilisées pour mener à bien ces ATRP a alors été de soit les effectuer dans des solvants relativement polaires tels que le THF [76], ou l'acétone [76,82,62], acétate d'éthyle [81], soit de rajouter 10% d'un solvant polaire (DMF par exemple) au milieu réactionnel [73].

Les acrylates porteurs des groupements plus hydrophobes tels que l'acrylate de lauryle [77–79] ou l'acrylate d'octadécyle [63,80] (figures I-7n,o) sont solubles uniquement dans les solvants apolaires tels que le toluène ou le xylène [77]. Cependant, dans ces solvants et en présence de tels acrylates, le catalyseur métallique Cu^{II}, nécessaire au contrôle de l'ATRP, est insoluble. Matyjaszewski et coll. [77] ont amélioré la solubilité de ce catalyseur en employant des ligands hydrophobes tels que la 4,4'-di(5-nonyl)-2,2'-bipyridine (dNbpy) qui présente de longues chaînes alkyle, sans pour autant observer un contrôle de l'ATRP. Récemment [79], l'utilisation d'un solvant peu polaire (anisole) a permis le contrôle de l'ATRP de l'acrylate de lauryle en présence de PMDETA, malgré la solubilité partielle du Cu^{II} dans le milieu réactionnel. L'utilisation des ligands de type N-(alkyl)-2-pyridylméthanimine développés par Haddleton [83], et plus précisément du N-(octyl)-2-pyridylméthanimine (OPMI) (le plus hydrophobe des

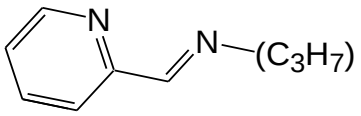
pyridylméthanimines) a permis de solubiliser les catalyseurs métalliques en masse [80] ou dans le xylène [78], en présence des acrylates de lauryle [78] et d'octadécyle [80]. Grâce à l'OPMI l'amélioration de la compatibilité chimique entre les catalyseurs métalliques et les monomères a permis d'observer un bon contrôle de l'ATRP de ces monomères.

Le monomère AChol (figure I-7P), possède une structure chimique proche du monomère ADEGChol et a été polymérisé avec succès par ATRP [2]. La polymérisation de l'AChol a été effectuée dans le toluène à 80 °C en utilisant le système catalytique $Cu^{I}Br$/4,4'-di(n-nonyl)-2,2'-bipyridine. Malheureusement, aucune indication sur le contrôle de la polymérisation n'a été fournie. Comme il a été mentionné précédemment, le monomère ADEGChol a été récemment synthétisé parallèlement à nos travaux de recherche. Cependant, après avoir échoué dans l'ATRP de ce monomère, ce groupe de recherche a privilégié la polymérisation RAFT [5]. Aucun détail sur les conditions opératoires tentées par cette équipe pour mener l'ATRP n'a été fourni.

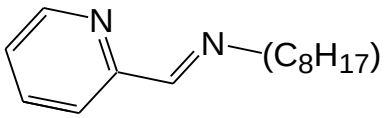
Afin d'optimiser les conditions favorables au contrôle de l'ATRP du monomère ADEGChol, il a été nécessaire d'étudier l'effet de différents paramètres tels que le solvant, la température et le choix du ligand. C'est ce qui sera décrit dans le paragraphe suivant.

II.2 MISE AU POINT DES CONDITIONS D'ATRP DE L'ADEGCHOL

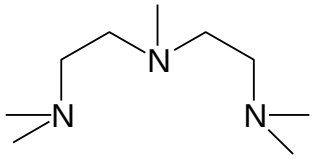
Les macroamorceurs à base de dextrane que nous utiliserons *in fine* pour synthétiser les glycopolymères sont solubles dans les solvants organiques apolaires. Aussi, compte tenu de la solubilité de l'ADEGChol et du PADEGChol, le toluène et le THF sont les 2 solvants que nous avons sélectionnés pour optimiser les conditions expérimentales de l'ATRP de l'ADEGChol. Un amorceur halogénure d'alkyle modèle le 2-bromoisobutanoate d'éthyle (E*i*Br), a été sélectionné pour mener cette étude puisqu'il est l'un des amorceurs les plus utilisés pour amorcer l'ATRP des acrylates et qu'il possède la même structure chimique que les groupements amorceurs qui seront fixés au dextrane lors de la deuxième étape du schéma I (introduction de la partie II). Le cuivre, associé à deux types de ligands azotés, bidentés (N-(alkyl)-PMI) et tridenté (PMDETA) (figure I-8), a été employé afin d'étudier l'influence de ces complexes métalliques sur le contrôle de l'ATRP de l'ADEGChol.



N-(n-propyl)-2-pyridylméthanimine
(PPMI)



N-(n-octyl)-2-pyridylméthanimine
(OPMI)



N,N,N',N',N''- pentaméthyl diéthylènetriamine
(PMDETA)

Figure I-8. Ligands utilisés lors de l'ATRP de l'ADEGChol.

II.2.1 En présence du ligand PPMI

La première polymérisation de l'ADEGChol que nous avons réalisée a été amorcée par l'E*i*Br, dans le toluène à 60°C en présence du $Cu^{I}Br$ et du ligand N-(propyl)-2-pyridylméthanimine (PPMI) (figure I-8). On peut alors observer qu'un précipité se forme dans le milieu réactionnel dès les premiers instants de la polymérisation. Ceci indique que l'un ou les deux complexes métalliques $Cu^{I}Br$/PPMI et/ou $Cu^{II}Br_2$/PPMI n'est pas soluble dans ces conditions. Effectivement, des essais de solubilité ont montré l'insolubilité de ces deux complexes métalliques dans ces conditions opératoires. L'ajout de 10% de DMF (solvant polaire) au milieu réactionnel, qui a permis d'améliorer la solubilité des catalyseurs cuivrique lors de l'ATRP de l'acrylate de butyle dans le toluène [73], s'est avéré inefficace dans notre cas.

Malgré l'hétérogénéité du milieu réactionnel, un suivi cinétique de la polymérisation a été réalisé, en effectuant régulièrement des prélèvements du milieu réactionnel sous azote. Dans chaque cas, le mélange brut obtenu a été analysé par RMN ^{1}H dans le $CDCl_3$ (figure I-9). Le taux de conversion a été estimé pour chaque prélèvement à l'aide de l'équation I-5 où l'aire totale des pics correspondants aux protons vinyliques (m, k, l) du monomère résiduel (entre 5,8 et 6,6 ppm) est comparée à l'aire du pic relatif au proton (b) caractéristique du groupement cholestérol (situé à 3,2 ppm). Le pic (a) peut aussi être utilisé. Cependant, il n'est pas intéressant de comparer les aires des pics (j) et (h_2) car ceux-ci se superposent dès que la conversion atteint 50%.

$$\boldsymbol{X}(\%) = \mathbf{1} - \frac{(A_{H_m} + A_{H_k} + A_{H_l})}{3 \times A_{H_b}}$$ ***Equation I- 5***

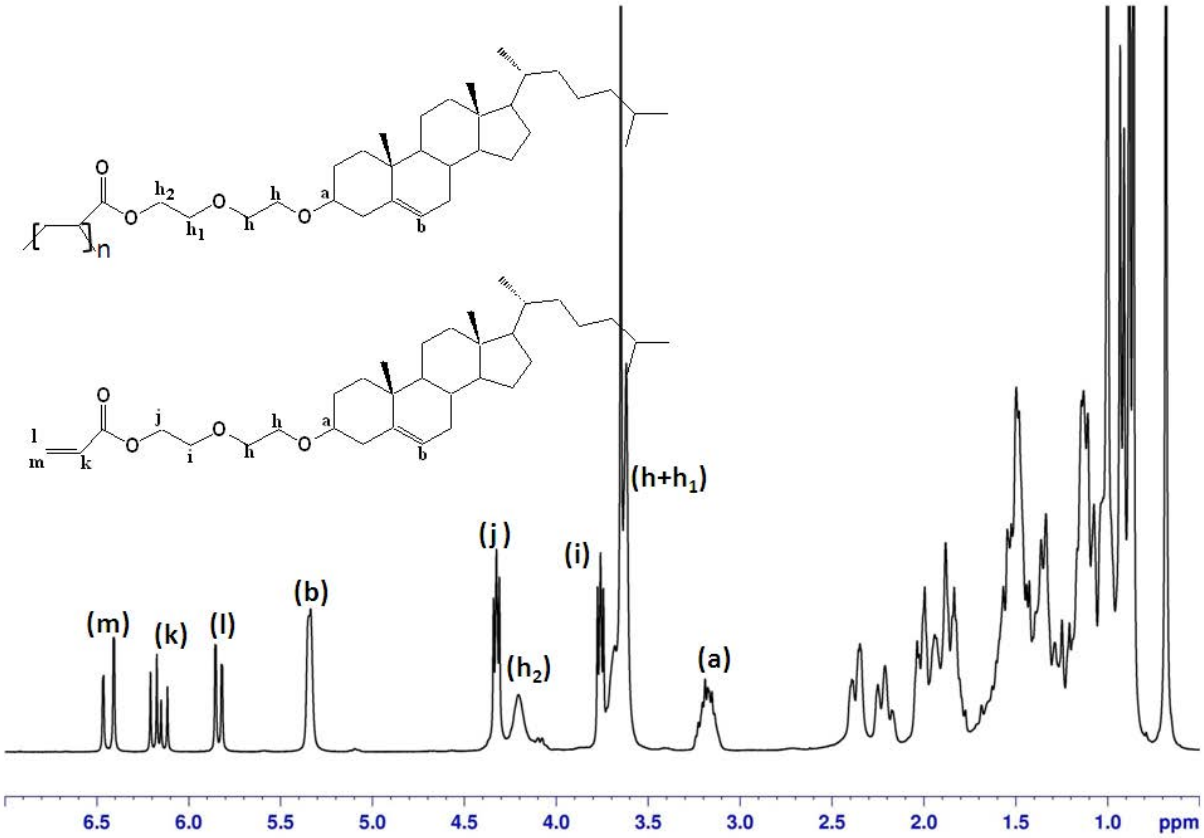


Figure I-9. Spectre RMN ^1H dans le $CDCl_3$ d'un prélèvement brut du milieu réactionnel de l'ATRP de l'ADEGChol .

Sous ces conditions expérimentales, l'étude cinétique (figure I-10) montre une consommation très lente du monomère au cours du temps, seulement 20% du monomère ont été consommés après 21 h de polymérisation et 66% après cinq jours. La solubilité partielle du catalyseur métallique $Cu^{I}Br$ dans le milieu réactionnel est probablement la cause directe de cette vitesse lente. En effet, cette solubilité partielle conduit à une production lente des radicaux libres dans le milieu réactionnel. La figure I-10 montre également une évolution non linéaire du $\ln([M]_0/[M]_t)$ en fonction du temps, ce qui témoigne d'une diminution régulière du nombre des radicaux libres au cours du temps, et par conséquent de la présence des réactions de terminaison irréversibles. Ceci peut être expliqué par l'insolubilité du catalyseur métallique $Cu^{II}Br_2$ dans le milieu réactionnel. Ce dernier est censé réduire la concentration des espèces actives en les transformant en espèces dormante. Sa précipitation dans le milieu réactionnel ne permet pas à cet équilibre espèces active/ dormante de s'établir, ce qui favorise les réactions de terminaison irréversibles. L'insolubilité de $Cu^{I}Br$ et de $Cu^{II}Br_2$ dans ces conditions opératoires est liée à la nature chimique du PPMI qui est inadapté aux monomères apolaires tel que l'ADEGChol. Ce phénomène a également été observé lors de l'ATRP de l'acrylate d'octadecyle [80].

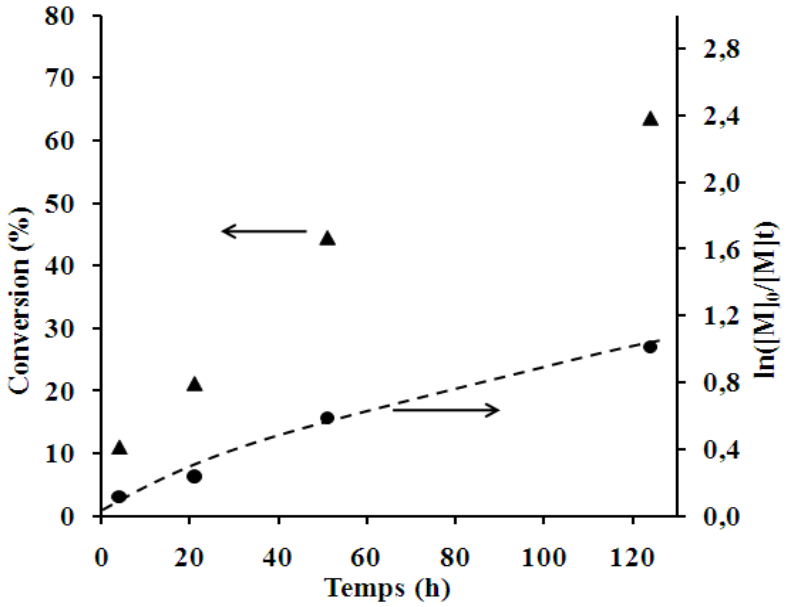


Figure I-10. Evolution du ln([M]$_0$/[M]$_t$) et du taux de conversion en fonction du temps pour l' ATRP de l'ADEGChol dans le toluène à 60°C. [ADEGChol]$_0$/[EBiB]$_0$/[Cu^{I}Br]$_0$/[PPMI]$_0$ = 20/1/1/2. [ADEGChol]$_0$ = 1 mol/L.

A la vue de ces résultats, plusieurs conclusions peuvent être énoncées :

i) Malgré la vitesse lente de polymérisation, l'ATRP de l'ADEGChol semble réalisable, contrairement aux conclusions de Liu et al. [5].

ii) Le ligand PPMI ne permet pas de solubiliser totalement Cu^{I}Br et Cu^{II}Br$_2$ dans un solvant apolaire en présence de l'ADEGChol.

Afin d'améliorer la solubilité des complexes métalliques et d'obtenir un bon contrôle de l'ATRP de ce monomère, nous avons étudié l'ATRP en sélectionnant deux autres ligands (OPMI et le PMDETA) (figure I-8).

II.2.2 En présence du ligand OPMI

Le N-(n-octyl)-2-pyridylméthanimine (OPMI) appartient à la famille des ligands N-(n-alkyl)-2-pyridylméthanimine développée par Haddleton et al. [83] en 1999. Nous avons choisi de tester l'ATRP de l'ADEGChol en présence de ce ligand car sa synthèse est relativement facile (Partie : techniques expérimentales) et surtout par ce qu'il a permis de solubiliser les complexes métalliques et de contrôler l'ATRP de nombreux acrylates hydrophobes tels que l'acrylate de butyle [84], l'acrylate de lauryle [78] et l'acrylate d'octadécyle [80,85].

II.2.2.1 Effets de la température et du rapport $\frac{[monomère]_0}{[amorceur]_0}$

Plusieurs conditions opératoires d'ATRP de l'ADEGChol ont été testées avec le ligand OPMI, mais seules les polymérisations caractéristiques seront présentées dans ce manuscrit. On peut néanmoins signaler qu'avec l'OPMI on observe que le milieu réactionnel est homogène dès les premiers instants et le demeure pendant toute la durée de la polymérisation. Ceci témoigne de l'efficacité de ce ligand à solubiliser le catalyseur métallique dans les solvants apolaires en présence des monomères hydrophobes. Comme précédemment, les prélèvements réalisés au cours de la polymérisation ont été analysés par RMN ^{1}H pour estimer le taux de conversion et, après précipitation par un mélange Ethanol/Acétone, des analyses SEC-MALLS dans le THF ont été réalisées.

La figure I-11 représente les cinétiques d'ATRP observées dans différentes conditions opératoires. L'ATRP effectuée à 60 °C avec un rapport $\frac{[monomère]_0}{[amorceur]_0} = 50$ montre une polymérisation relativement lente. En effet, après 5 h de polymérisation, seuls 36 % du monomère est consommé. Malheureusement, on observe une désactivation rapide des centres actifs. Ceci témoigne de l'apparition des réactions de terminaison irréversibles. En conservant le rapport $\frac{[monomère]_0}{[amorceur]_0} = 50$ et en réalisant des expériences à 100 °C (avec une concentration constante en monomère) une légère accélération de l'ATRP est observée (figure I-11). En augmentant le rapport $\frac{[monomère]_0}{[amorceur]_0}$ à 100, tout en conservant la concentration initiale en monomère (diminution de la concentration en amorceur), l'évolution du $\ln([M]_0/[M]_t)$ en fonction du temps est alors ralentie. L'analyse des polymères obtenus par SEC-MALLS dans le THF permet d'observer l'augmentation des longueurs de chaînes, accompagnée d'une disparition progressive des oligomères au fil du temps (figure I-12). Ces oligomères (dimères, trimères,...) ont effectivement été identifiés à des taux de conversion très faibles. L'observation de ces oligomères est le résultat de plusieurs facteurs : la forte masse molaire du monomère (524 g/mol) et l'excellente séparation des composés par SEC-MALLS dans cette gamme de masses molaires. Il peut également s'agir d'une faible proportion de chaînes mortes, due à des réactions de terminaison en début de polymérisation, et dont la proportion se réduit avec l'avancement de la polymérisation (quand la conversion augmente). Cependant, malgré l'accélération de l'ATRP, l'évolution du $\ln([M]_0/[M]_t)$ en fonction du temps n'est toujours pas linéaire.

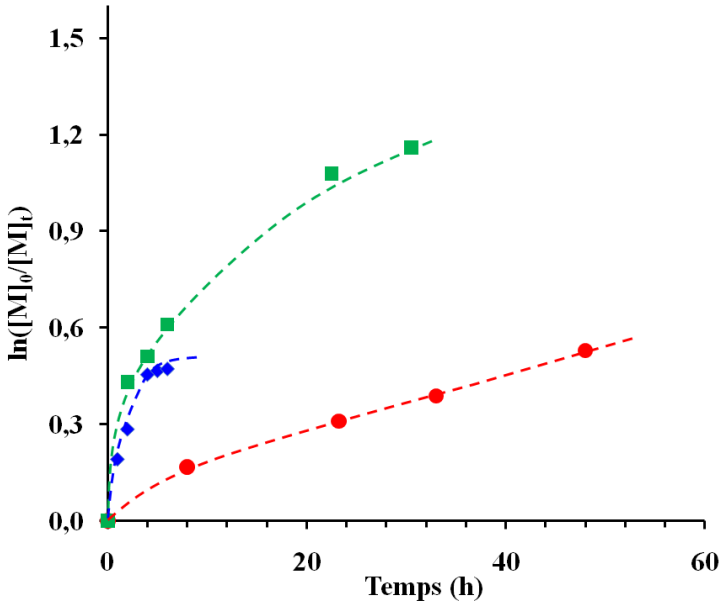


Figure I-11. Evolution du ln([M]$_0$/[M]$_t$)) en fonction du temps. ATRP de l'ADEGChol réalisées dans le toluène en présence du ligand OPMI; [ADEGChol]$_0$/[EiBr]$_0$/[Cu^{I}Br] $_0$/[OPMI]$_0$=x/1/1/2. x= 50 pour les expériences à (♦) 60 °C et (■)100 °C. (●) x= 100 pour l'expérience à 80 °C. [ADEGChol]$_0$ = 1,9 mol/L.

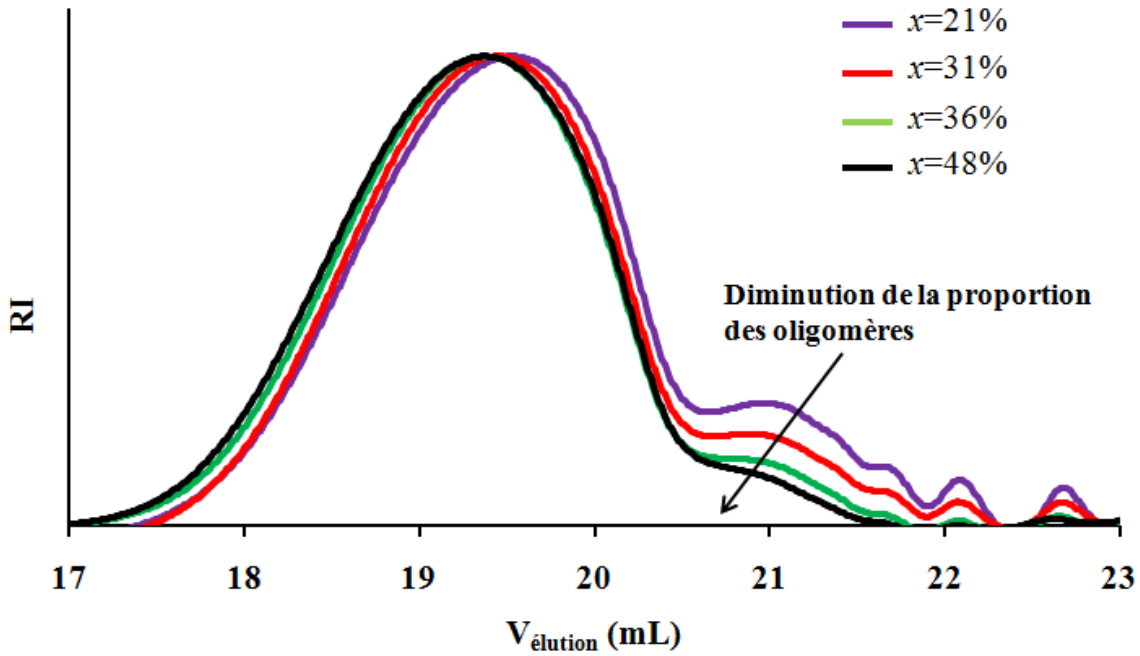


Figure I-12. Chromatogrammes SEC-MALLS dans le THF des PADEGChol obtenus lors de l'ATRP réalisée dans le toluène à 80°C ; [ADEGChol]$_0$/[EiBr]$_0$/[Cu^{I}Br]$_0$/[OPMI]$_0$ = 100/1/1/2. [ADEGChol]$_0$ = 1,9 mol/L. (x= conversion).

II.2.2.2 Effet radical persistant

La perte de la linéarité observée dans la figure I-11 pourrait être expliquée par la présence d'une quantité initiale insuffisante de Cu^{II}Br$_2$. En effet, afin d'atteindre la

concentration minimale en $Cu^{II}Br_2$ nécessaire pour le contrôle de l'ATRP, le système sacrifie une faible proportion de radicaux par des réactions de terminaison irréversibles. Ce phénomène est appelé « l'effet radical persistant » et a été décrit par Fischer [43–46] (paragraphe II.1.3.1). Dans ce cas, l'évolution du $\ln([M]_0/[M]_t)$ devient proportionnelle à $t^{2/3}$ et non à t.

L'analyse de nos résultats précédemment obtenus selon le modèle de Fischer montre une évolution linéaire du $\ln([M]_0/[M]_t)$ en fonction de $t^{2/3}$ (figure I-13). Ceci témoigne de « l'effet radical persistant» lorsque l'OPMI est employé comme ligand. Autrement dit, cela démontre l'existence de réactions de terminaisons dès le début de la polymérisation. L'ajout d'une faible quantité de $Cu^{II}Br_2$ (10%) dans le milieu réactionnel dès les premiers instants de la polymérisation permet d'observer une linéarité du $\ln([M]_0/[M]_t)$ en fonction du temps, jusqu'à 24% de conversion (figure I-14). Cependant, la vitesse globale de l'ATRP dans ces conditions demeure très lente (seulement 25% de monomère sont consommés après 56 h de polymérisation). La présence du $Cu^{II}Br_2$ dans le milieu réactionnel aux premiers instants de l'ATRP permet donc bien de réduire la concentration en radicaux dès les premiers instants via l'établissement immédiat de l'équilibre activation/ désactivation (rendant négligeable les réactions de terminaison irréversibles qui perturbent le contrôle de l'ATRP). Cependant une plus forte proportion de $Cu^{II}Br_2/Cu^{I}Br$ réduit la vitesse globale de l'ATRP, liée à la diminution de la concentration en centres actifs.

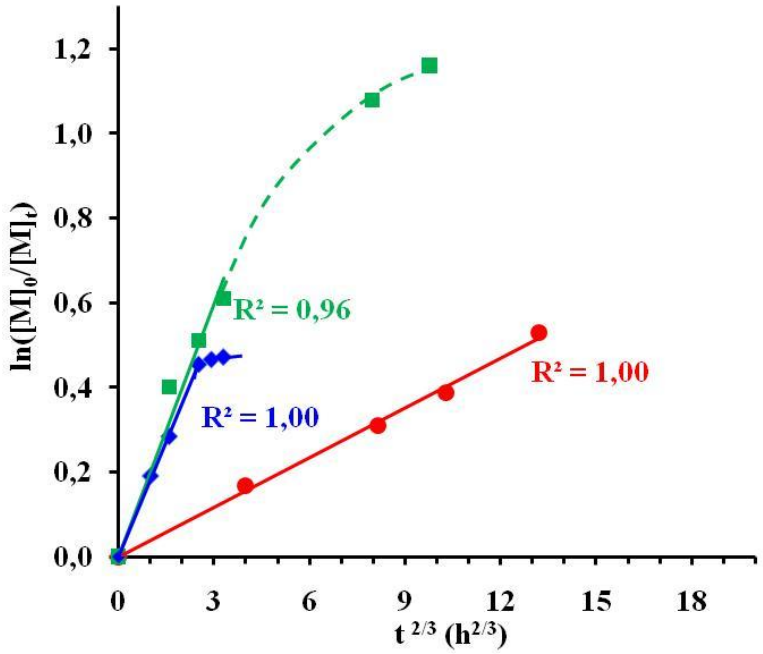


Figure I-13. Evolution du $\ln([M]_0/[M]_t)$ en fonction de $t^{2/3}$. ATRP de l'ADEGChol réalisées dans le toluène en présence du ligand OPMI. $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^{I}Br]_0/[OPMI]_0$=x/1/1/2. x= 50 pour les expériences effectuées à (♦) 60 °C et à (■) 100 °C. (●) x= 100 est utilisé pour l'expérience réalisée à 80 °C. $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L.

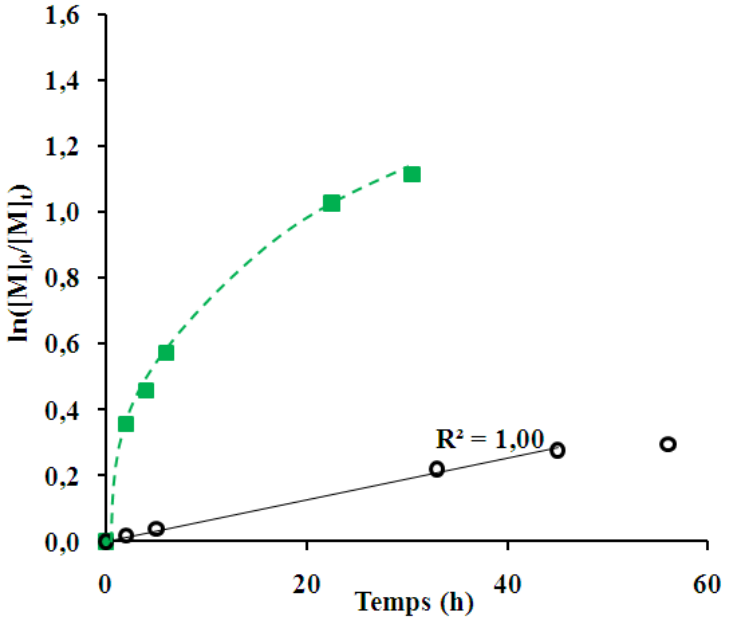


Figure I-14. Evolution du ln([M]$_0$/[M]$_t$) en fonction du temps. ATRP de l'ADEGChol réalisées dans le toluène à 100 °C en présence du ligand OPMI; [ADEGChol]$_0$/[EiBr]$_0$/[Cu^{I}Br]$_0$/[OPMI]$_0$ =50/1/1/2. (■) en absence de Cu^{II}Br$_2$, (○) en présence de 10% de Cu^{II}Br$_2$. [ADEGChol]$_0$ = 1,9 mol/L.

II.2.2.3 Effet du solvant

Comme il a été précédemment mentionné, la constante d'équilibre (K_{ATRP}) est fortement influencée par la polarité du solvant. L'augmentation de la polarité du solvant provoque une augmentation de la concentration des centres actifs dans le milieu réactionnel et par conséquent l'accélération de la vitesse de polymérisation. Ceci est le résultat de l'amplification de la constante de vitesse d'activation (k_{act}) et la diminution de la constante de vitesse de désactivation ($k_{désact}$) [60]. La faible polarité du toluène utilisé jusqu'à présent peut être la cause d'une polymérisation lente dans notre cas. Aussi, nous avons réalisé une étude de l'ATRP de l'ADEGChol dans le THF, solvant plus polaire que le toluène, en utilisant un rapport [monomère]$_0$/[amorceur]$_0$ =50. Dans le THF, le milieu réactionnel est parfaitement homogène. L'utilisation du THF à la place du toluène à 60°C provoque effectivement l'accélération de la cinétique dès les premiers instants (figure I-15). Hélas, le contrôle de l'ATRP n'est toujours pas atteint.

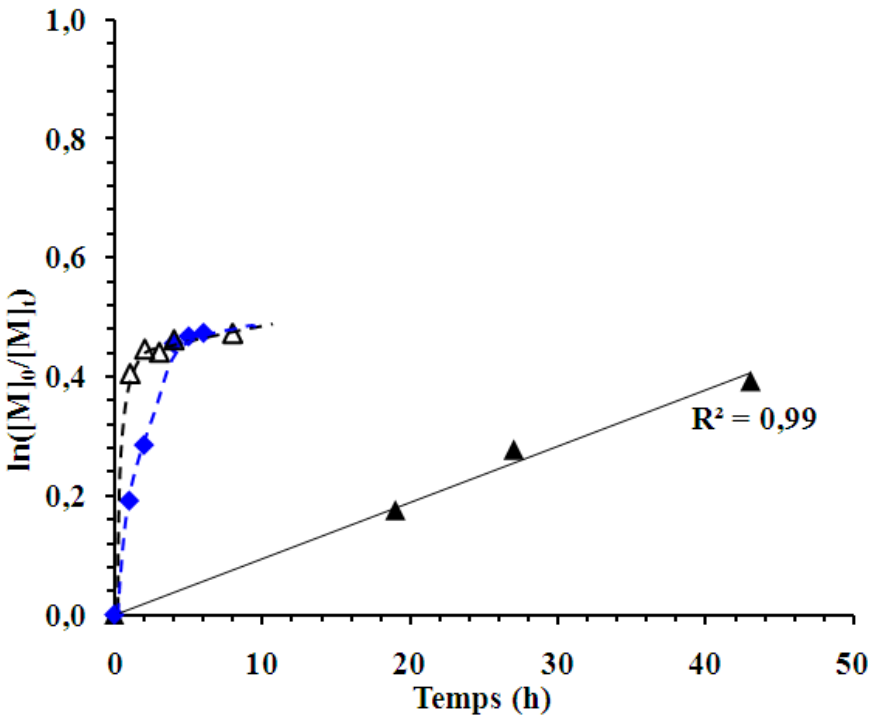


Figure I-15. Evolution du ln([M]$_0$/[M]$_t$) en fonction du temps. ATRP de l'ADEGChol réalisées en présence du ligand OPMI à 60°C. [ADEGChol]$_0$/[EiBr]$_0$/[Cu^{I}Br]$_0$/[OPMI]$_0$ =x/1/1/2. [ADEGChol]$_0$ = 1,9 mol/L. Expériences réalisées (♦) dans le toluène (x=50) et dans le THF (▲) x=100 et (△) x=50.

En comparant les expériences menées dans les mêmes conditions (concentration en monomère, température et solvant (THF)) mais avec un rapport $\frac{[monomère]_0}{[amorceur]_0}$ égal à 50 et 100, on peut voir que l'évolution du ln([M]$_0$/[M]$_t$) en fonction du temps est ralentie lorsque la concentration en amorceur diminue. Hélas, dans le cas $\frac{[monomère]_0}{[amorceur]_0} = 100$, la cinétique n'a pas été étudiée au-delà et l'apparition de terminaison n'est pas encore visible. Les prélèvements effectués lors de la polymérisation effectuée dans les conditions ($\frac{[monomère]_0}{[amorceur]_0} = 100$, THF) ont été purifiés puis analysés par SEC-MALLS dans le THF (figure I-16). On peut alors observer la présence d'oligomères et de chaînes plus longues dont la croissance est poursuivie jusqu'à 32% de conversion.

L'évolution des masses molaires en fonction de la conversion a été suivie dans les deux solvants, les masses molaires sont supérieures aux valeurs théoriques, avec des dispersités comprises entre 1,2 et 2 (figure I-17). On observe également parfois des valeurs qui n'évoluent pas, témoignage de la désactivation des centres actifs déjà mis en évidence.

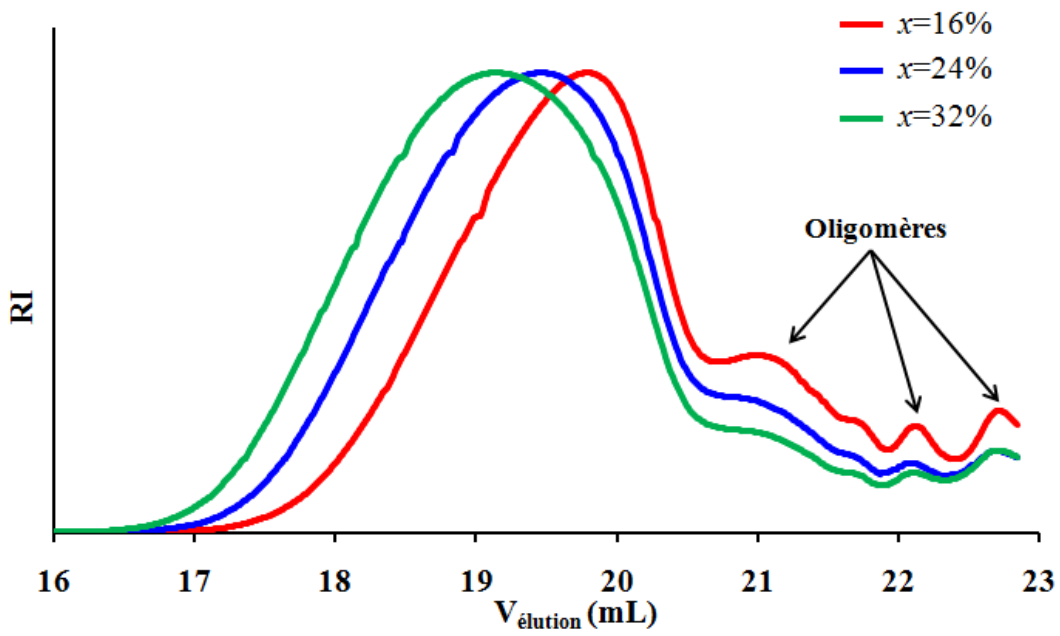


Figure I-16. ***Chromatogrammes SEC-MALLS dans le THF des PADEGChol obtenus lors de l'ATRP réalisée dans le THF à 60°C ; [ADEGChol]$_0$/[EiBr]$_0$/[Cu^{I}Br]$_0$/[OPMI]$_0$ = 100/1/1/2. [ADEGChol]$_0$ = 1,9 mol/L. (x= conversion).***

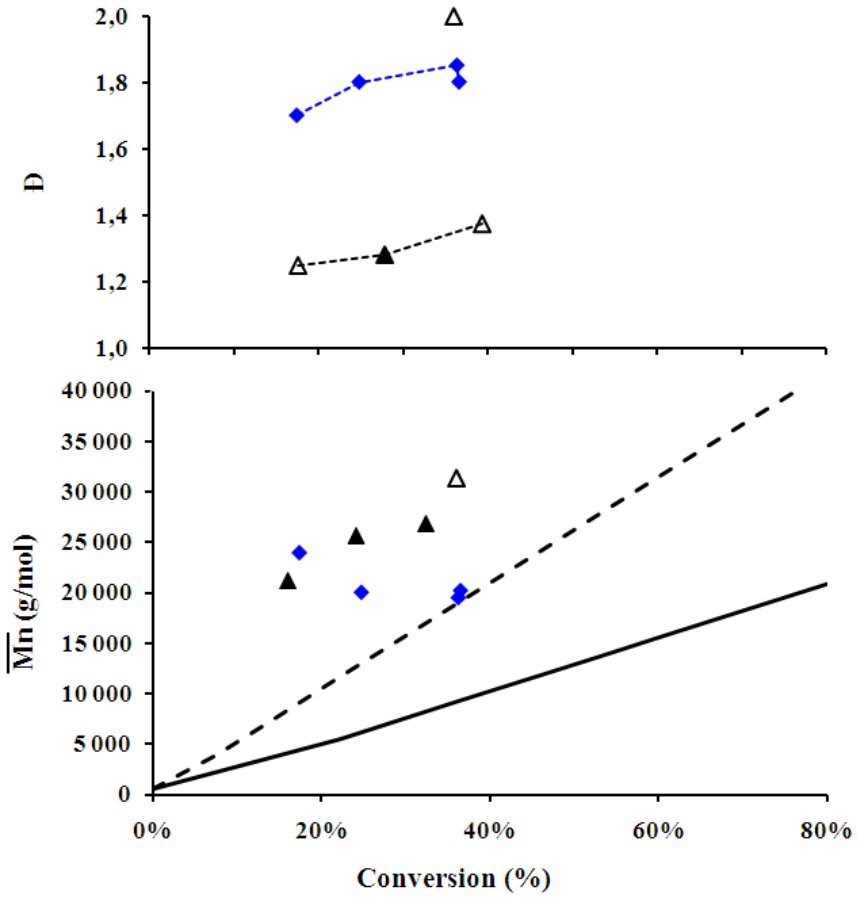


Figure I-17. Evolution des $\overline{Mn}$ (symboles pleins) et des Đ (symboles vides) en fonction de la conversion. ATRP de l'ADEGChol [ADEGChol]$_0$/[EiBr]$_0$/[Cu^{I}Br]$_0$/[OPMI]$_0$=x/1/1/2, [ADEGChol]$_0$ = 1,9 mol/L. Expériences réalisées (♦) dans le toluène (x=50) et dans le THF : (▲) x=100 et (Δ) x=50. $\overline{Mn_{théoriques}}$: (—) x=50 et (- - -) x=100.

Une étude réalisée par Matyjaszewski et al. [86] sur le système catalytique Cu^{I}/OPMI dans les solvants apolaires a montré que ce système forme un complexe métallique $[Cu^{I}(OPMI)_2]^+$ actif et un anion $[Cu^{II}Br_2]^-$ qui ne participe pas au processus d'activation de l'ATRP. En d'autres termes seule la moitié de la quantité du Cu^{I} est efficace en ATRP dans ces conditions. A l'opposé, dans des solvants polaires comme l'acétonitrile, seuls les complexes actifs $[Cu^{I}(OPMI)_2]^+$ sont formés (schéma I-11). En conséquence, la constante d'activation du système Cu^{I}/OPMI est deux fois moins élevée dans les solvants apolaires que dans les solvants polaires. Le non contrôle de l'ATRP observée dans notre cas pourrait alors être attribué à l'activation imparfaite de l'amorceur par les complexes Cu^{I}/OPMI dans les solvants apolaires (toluène) ou peu polaire (THF). Malheureusement, nous n'avons pas pu tester des solvants plus polaires (tableau I-2) car le monomère ADEGChol y est insoluble.

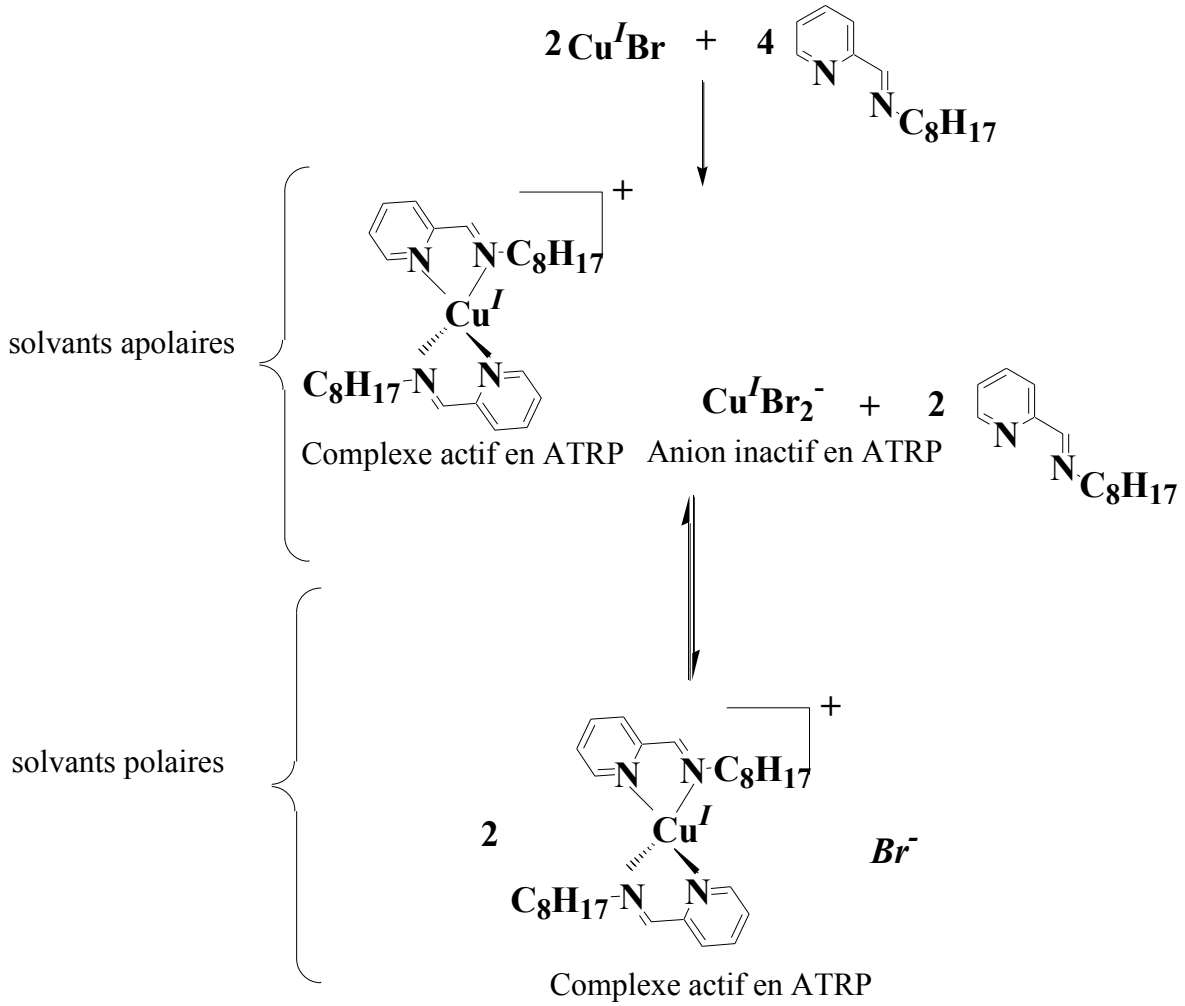


Schéma I-11. Equilibre de formation des complexes de Cu^{I} en présence du ligand OPMI dans les solvants polaires et apolaires.

Toutes les conditions opératoires étudiées jusqu'à présent, en présence du ligand OPMI, n'ont pas permis de contrôler de façon satisfaisante l'ATRP de l'ADEGChol. D'autres conditions expérimentales ont été testées comme l'utilisation du catalyseur $Cu^{I}Cl$ au lieu de $Cu^{I}Br$ afin de contrôler l'ATRP par le procédé « d'échange d'halogène » [57], mais n'ont conduit à aucune amélioration du contrôle.

Au vue de ces résultats, et bien que l'OPMI ait été utilisé pour contrôler l'ATRP d'autres monomères hydrophobes [78–80], nous avons conclu qu'il ne permet de contrôler la polymérisation de l'ADEGChol. Nous avons par la suite testé un autre ligand (PMDETA) réputé dans la littérature pour sa forte capacité de complexation du Cu^{I} et sa grande activité [87].

II.2.3 En présence du ligand PMDETA

Le PMDETA (figure I-9) est un ligand azoté tridenté commercial. La constante d'équilibre (K_{ATRP}) évaluée en présence de ce ligand est 1500 fois plus élevée que celle évaluée en présence du ligand OPMI [56]. Il a été utilisé lors de l'ATRP de nombreux monomères acryliques et récemment pour contrôler l'ATRP de l'acrylate de lauryle et d'octadécyle [79].

Au cours de notre étude, différentes conditions opératoires ont été testées en présence de PMDETA afin de déterminer les conditions optimales pour contrôler l'ATRP de l'ADEGChol. Le rapport $[Cu^{I}]/[PMDETA]$ a été fixé à 1/1 comme suggéré dans la littérature afin d'obtenir la constante d'activation (k_{act}) maximale [87]. Plusieurs facteurs influençant l'ATRP ont été étudiés, plus particulièrement, l'effet du contre ion $Cu^{I}X$ (X= Br ou Cl) et du solvant (toluène et THF). Dans les paragraphes suivants nous présenterons les résultats obtenus dans chaque cas.

II.2.3.1 Dans le toluène

Dans un premier temps, l'étude de l'ATRP de l'ADEGChol en présence du PMDETA a été réalisée dans le toluène. Le milieu réactionnel dans ces conditions est homogène au début de la polymérisation, mais au fur et à mesure de l'avancement de la polymérisation, une faible quantité d'un précipité est progressivement observée. Ceci montre que le complexe formé avec Cu^{I} est soluble dans le milieu réactionnel alors que le Cu^{II} formé y est partiellement soluble. La superposition des cinétiques d'ATRP de l'ADEGChol réalisées en présence des ligands OPMI et PMDETA, dans les mêmes conditions opératoires (figure I-18) montre une consommation très rapide du monomère lorsque le ligand PMDETA est employé (61% de

conversion après seulement 150 min de polymérisation). L'évolution linéaire du $\ln([M]_0/[M]_t)$ en fonction du temps témoigne de la concentration constante en centres actifs au cours de la polymérisation lorsqu'elle est menée avec la PMDETA.

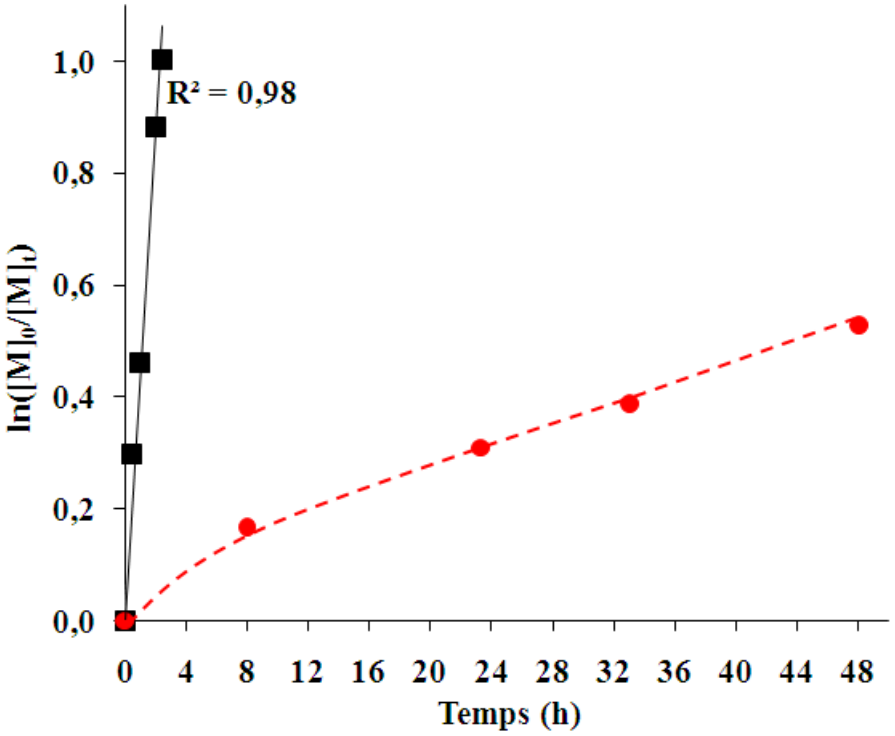


Figure I-18. Evolution du $\ln([M]_0/[M]_t)$ en fonction du temps. ATRP de l'ADEGChol réalisées dans le toluène à 80°C. $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^IBr]_0/[ligand]_0$ =100/1/1/z. $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L. (●) OPMI (z=2) et (■) PMDETA (z=1).

L'analyse SEC-MALLS des prélèvements effectués (figure I-19) montrent des chromatogrammes monomodaux, avec toujours la présence d'oligomères de faibles masses molaires lorsque le PMDETA est employé. L'évolution des chromatogrammes vers les faibles volumes d'élutions en fonction de la conversion témoigne de la croissance des chaînes de polymères. On peut observer également que le chromatogramme obtenu à 63% de conversion présente le même volume d'élution que celui à 59%, ce qui est probablement un signe de la présence des réactions de transfert. L'évolution des masses molaires en fonction de la conversion (figure I-20) confirme la présence de ces réactions de transfert puisqu'au-delà de 40% de conversion les masses molaires expérimentales sont inférieures à celles théoriquement prévues lorsque le PMDETA est employé. Néanmoins, dans ce cas, les masses molaires obtenues sont plus proches des masses molaires théoriques que celles évaluées en présence du ligand OPMI.

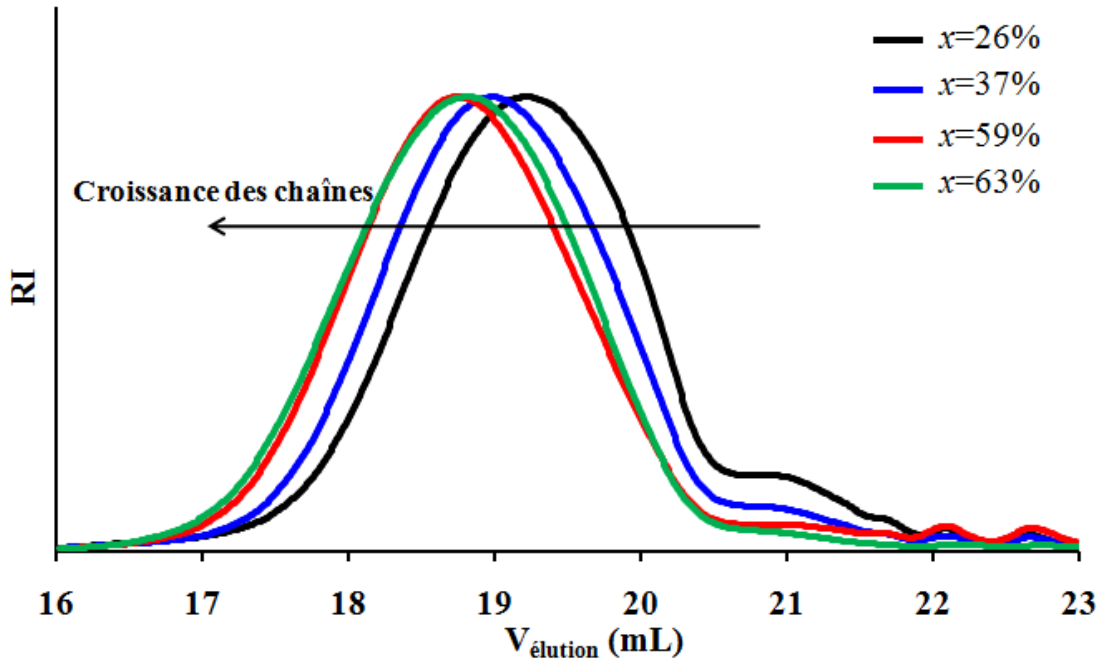


Figure I-19. Chromatogrammes SEC-MALLS dans le THF des PADEGChol obtenus lors de l'ATRP réalisée dans le toluène à 80 °C. [ADEGChol]$_0$/[EiBr]$_0$/[Cu^{I}Br]$_0$/[PMDETA]$_0$ = 100/1/1/1. [ADEGChol]$_0$ = 1,9 mol/L. (X= conversion).

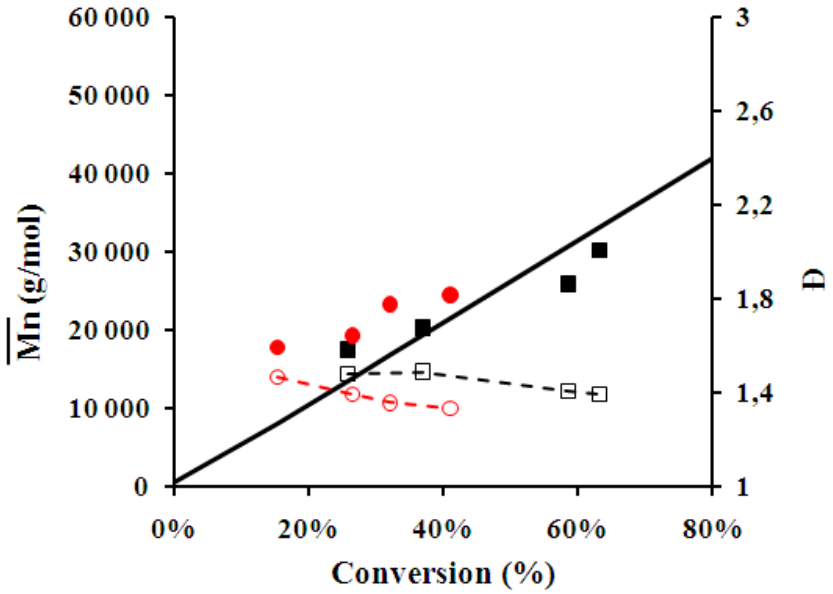


Figure I-20. Évolution des $\overline{Mn}$ (symboles pleins) et des Đ (symboles vides) en fonction de la conversion. ATRP de l'ADEGChol réalisées dans le toluène à 80°C. [ADEGChol]$_0$/[EiBr]$_0$/[Cu^{I}Br] $_0$/[ligand]$_0$=100/1/1/z, [ADEGChol]$_0$ = 1,9 mol/L. en présence du ligand : (●) OPMI (z=2) et (■) PMDETA (z=1).— : $\overline{Mn_{théoriques}}$. (dn/dc = 0,111).

Ces premiers résultats permettent de conclure que le ligand PMDETA permet de mieux contrôler l'ATRP de l'ADEGChol que le ligand OPMI, bien que Cu^{II}Br$_2$ ne soit que partiellement soluble dans le toluène et que des réactions de transfert soient observées au-delà

de 40% de conversion. Afin d'améliorer le contrôle de cette ATRP dans le toluène, nous avons testé la technique « échange d'halogène ».

II.2.3.2 Echange d'halogène $Cu^{I}X$ (x=Br, Cl)

Comme indiqué précédemment (paragraphe II.1.3.b), ce procédé est basé sur l'utilisation de $Cu^{I}Cl$ au lieu de $Cu^{I}Br$ en présence d'un amorceur R-Br. Cet échange d'halogène permet, au cours de la polymérisation de générer une liaison C-Cl difficilement clivable par rapport à la liaison C-Br. Généralement, il permet de mieux contrôler la croissance des chaînes de polymères ($\overline{M_n}$) et par conséquent d'obtenir des polymères avec de plus faibles dispersités. Dans notre cas, la figure I-21 montre que les deux ATRP en présence du $Cu^{I}Br$ et $Cu^{I}Cl$ ont des vitesses de polymérisation semblables et on observe la conservation de la concentration en centres actifs, ce qui se traduit par une évolution linéaire du $\ln([M]_0/[M]_t)$ en fonction du temps. Une légère déviation de la droite est cependant observée après 49% de conversion en présence de $Cu^{I}Cl$, probablement due à une légère désactivation causée par l'introduction d'une faible quantité d'oxygène lors du troisième prélèvement puisque l'on trouve ensuite une évolution linéaire.

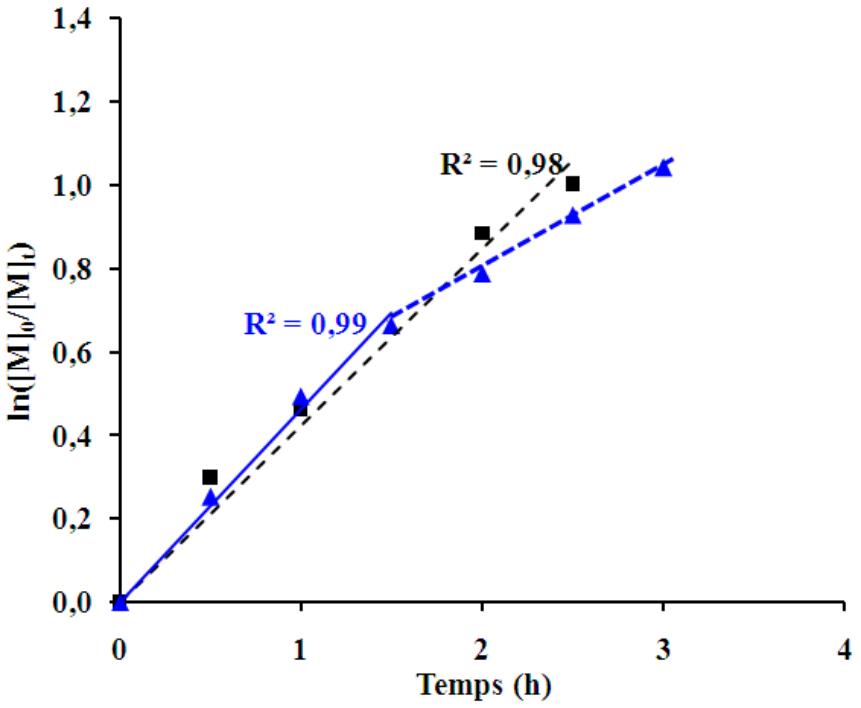


Figure I-21. Evolution du $\ln([M]_0/[M]_t)$ en fonction du temps. De l'ATRP de l'ADEGChol réalisée dans le toluène à 80°C. $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^{I}X]_0/[PMDETA]_0$ =100/1/1/1. $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L. (■) X = Br, (▲) X= Cl.

L'évolution des masses molaires en fonction de la conversion, représentée dans la figure I-22, montre que les $\overline{Mn}$ sont beaucoup plus éloignées des masses théoriques en présence de $Cu^{I}Cl$ qu'en présence de $Cu^{I}Br$; les dispersités sont également très élevées (Đ >1,6). Ceci signifie que le $Cu^{I}Cl$ ne permet pas d'améliorer le contrôle de l'ATRP dans notre cas. Ce procédé est en effet, plutôt utilisé lors de la copolymérisation de deux monomères de réactivités différentes, ou lors de l'amorçage par un macroamorceur constitué d'unités monomères ayant une réactivité différente de celle du deuxième monomère à polymériser.

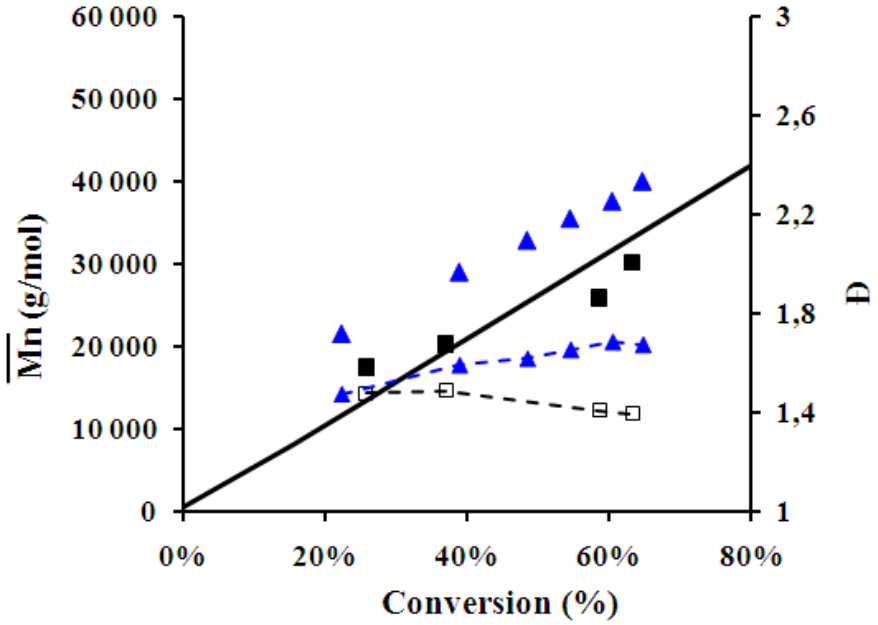


Figure I-22. Évolution des $\overline{Mn}$ (symboles pleins) et des Đ (symboles vides) en fonction de la conversion. ATRP de l'ADEGChol réalisée dans le toluène à 80 °C. $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^{I}X]_0/[PMDETA]_0$ = 100/1/1/1, $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L. (■) X = Br, (▲) X= Cl .— : $\overline{Mn_{théoriques}}$. (dn/dc = 0,111).

II.2.3.3 Dans le THF

Nous avons également étudié l'ATRP de l'ADEGChol dans le THF en présence du ligand PMDETA dans diverses conditions expérimentales (rapport $\frac{[ADEGChol]_0}{[EiBr]_0}$, présence ou non de $Cu^{II}Br_2$ à t=0) mais avec une concentration constante en monomère de 1,9 mol/L. Notons que dans ces conditions le complexe métallique $Cu^{I}Br$/PMDETA était parfaitement soluble tout au long de la polymérisation. Notons que le complexe métallique $Cu^{I}Br$/PMDETA formé est soluble tout au long de la polymérisation. La figure I-23 montre une évolution linéaire du $\ln([M]_0/[M]_t)$ en fonction du temps, dans toutes les conditions opératoires utilisées ce qui est le témoin de la conservation du nombre de centres actifs au

cours de la polymérisation. Lorsque $\frac{[ADEGChol]_0}{[EiBr]_0}$ augmente de 50 à 100 à concentration constante en monomère, une plus faible concentration en amorceur est introduite dans le milieu réactionnel, d'où une pente plus faible des droites $\ln([M]_0/[M]_t)$ en fonction du temps, conformément à l'équation I-2 (paragraphe II.3.1). Ainsi, l'augmentation du rapport $\frac{[ADEGChol]_0}{[EiBr]_0}$ entraine une réduction de la vitesse de polymérisation, c'est pourquoi l'évolution linéaire du $\ln([M]_0/[M]_t)$ est observée (durant la période étudiée) jusqu'à 74% de conversion, malgré la solubilité partielle du $Cu^{II}Br_2$, pour $\frac{[ADEGChol]_0}{[EiBr]_0} = 50$; alors qu'elle n'est observée que jusqu'à 30% lorsque $\frac{[ADEGChol]_0}{[EiBr]_0} = 100$ est employé.

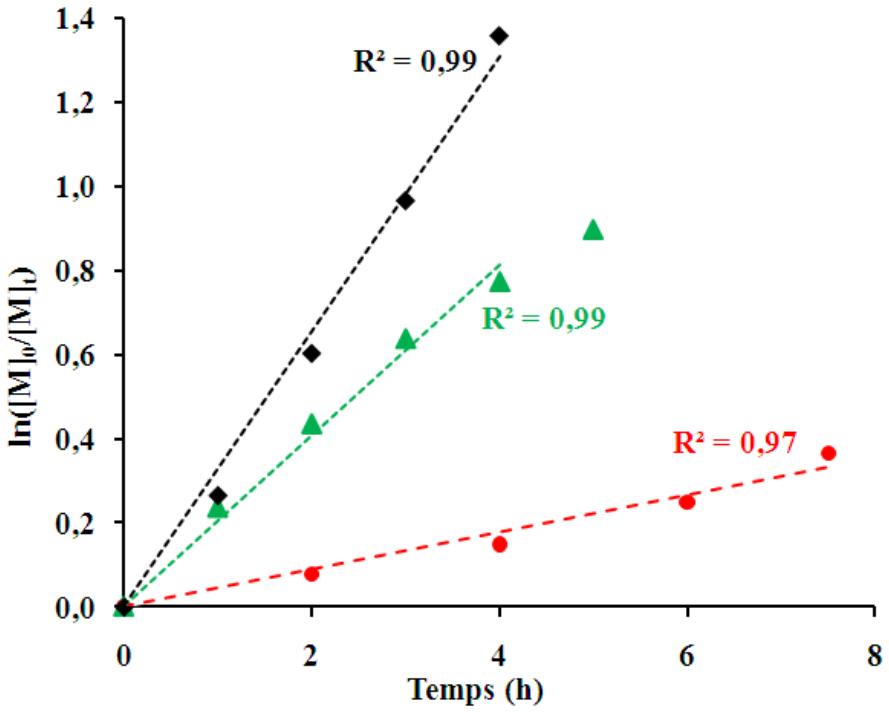


Figure I-23. Evolution du $\ln([M]_0/[M]_t)$ en fonction du temps. ATRP de l'ADEGChol dans le THF à 60 °C. $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^IBr]_0/[Cu^{II}Br_2]_0/[PMDETA]_0$ =x/1/1/y/1. $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L. (♦) x=50, y=0. (▲) x=50, y=0,1, (●) x=100, y= 0.

La figure I-24 montre une évolution linéaire des masses molaires en fonction de la conversion. Les $\overline{M_n}$ déterminées dans le cas du rapport $\frac{[ADEGChol]_0}{[EiBr]_0} = 50$ sont très proches des masses molaires théoriques avec des dispersités comprises entre 1,25 et 1,3. Dans ce cas, l'efficacité d'amorçage estimée est proche de 100%. En revanche, dans le cas de l'ATRP menée avec un rapport $\frac{[ADEGChol]_0}{[EiBr]_0} = 100$, les masses molaires sont plus élevées que les masses théoriques. L'efficacité d'amorçage est plus faible dans ce cas et est alors estimée à

79%. Ces résultats témoignent du bon contrôle de l'ATRP d'ADEGChol dans le THF, en présence du ligand PMDETA.

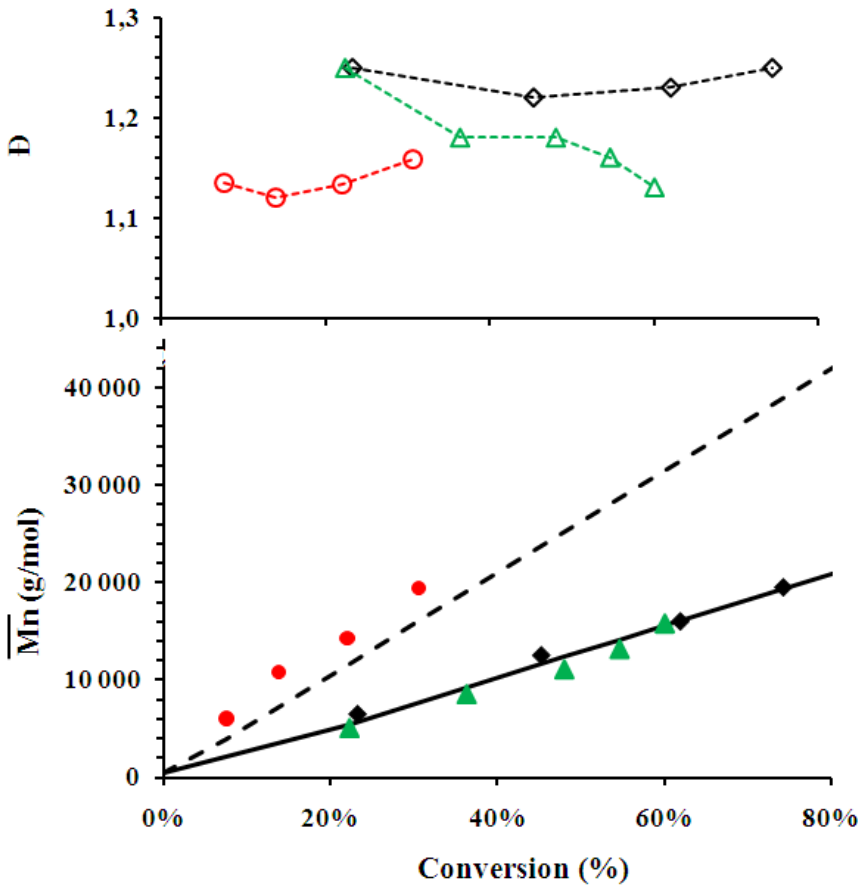


Figure I-24. Évolution des $\overline{Mn}$ (symboles pleins) et des Đ (symboles vides) en fonction de la conversion. ATRP de l'ADEGChol réalisée dans le THF à 60 °C. $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^IBr]_0/[Cu^{II}Br_2]_0/[PMDETA]_0$ =x/1/1/y/1. $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L. x=50 : (♦) y=0, (▲) y=0,1, (—) $\overline{Mn_{théorique}}$. x=100 : (●) y= 0, (- - -) $\overline{Mn_{théorique}}$. dn/dc = 0,111.

L'analyse SEC-MALLS dans le THF des prélèvements effectués dans le cas de ces ATRP (figure I-25a) montre une évolution des chromatogrammes vers les faibles volumes d'élution avec l'augmentation de la conversion. Ceci témoigne de la croissance des chaînes de polymère. En revanche, la présence des oligomères est toujours visible aux faibles taux de conversion (23%). Comme nous l'avons mentionné précédemment, ces oligomères peuvent être soit le résultat d'un amorçage lent par rapport à l'équilibre de l'ATRP, soit le résultat d'un manque de Cu^{II} en début de polymérisation. Ce dernier est effectivement partiellement soluble dans le THF en présence de PMDETA.

Afin de vérifier cette dernière hypothèse, une faible quantité de Cu^{II} a été initialement ajoutée au milieu réactionnel. L'expérience réalisée avec $Cu^{II}Br_2$ introduit à t_0 peut être alors

comparée à celle réalisée, dans les mêmes conditions, sans $Cu^{II}Br_2$. Comme prévu par la théorie [46], la vitesse de polymérisation est plus faible lorsqu'on ajoute $Cu^{II}Br_2$ à l'instant initial (figure I-23). Les masses molaires estimées par SEC-MALLS ne semblent pas être influencées par la présence ou non de $Cu^{II}Br_2$ au démarrage de la polymérisation. Elles demeurent relativement proches des masses molaires théoriques, avec des dispersités qui diminuent de 1,25 à 1,1 avec l'augmentation de la conversion (figure I-24). L'analyse SEC-MALLS dans le THF (figure I-25b) montre quant à elle la persistance des oligomères aux faibles taux de conversion (22%), ce qui confirme l'amorçage lent de notre ATRP.

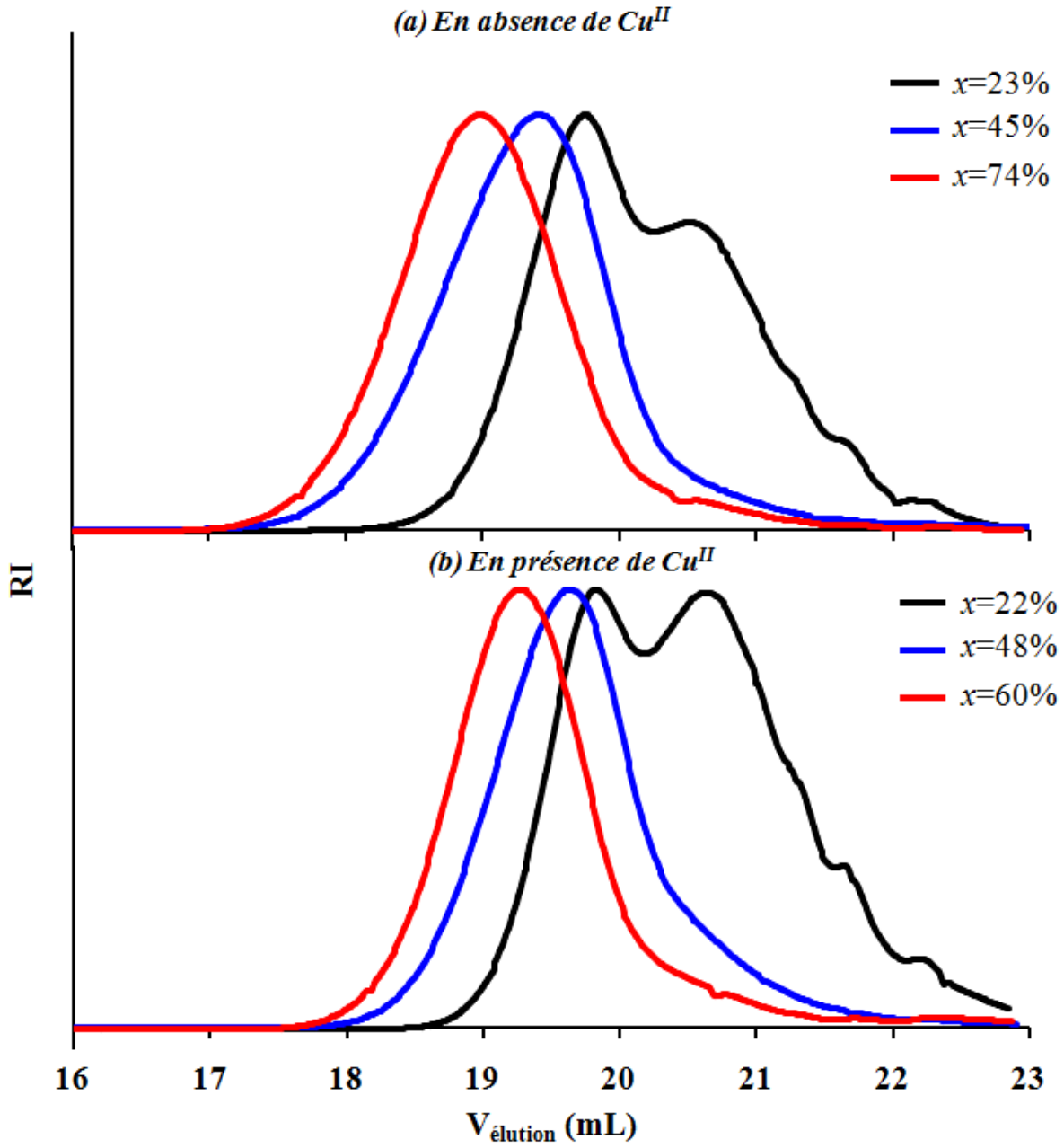


Figure I-25. ***Chromatogrammes SEC-MALLS dans le THF des PADEGChol obtenus lors de l'ATRP réalisée dans le THF à 60 °C ; $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^IBr]_0/[PMDETA]_0$ = 100/1/1/1. $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L.(a) en absence de Cu^{II}, (b) en présence de 10% de Cu^{II}. (x=conversion).***

Au vue de ces résultats, on peut conclure que la polymérisation de l'ADEGChol peut être contrôlée par ATRP en utilisant le système catalytique $Cu^{I}Br$/PMDETA dans le THF à 60°C, si le rapport $\frac{[ADEGChol]_0}{[EiBr]_0}$ visé n'est pas trop élevé. Si le rapport $\frac{[ADEGChol]_0}{[EiBr]_0}$ est égal à 100 est employé, la polymérisation est relativement lente dans les conditions testées (30% de conversion après 7,5 h) et l'efficacité d'amorçage n'est que de 79%. A l'opposé, cette efficacité est totale lorsque le $\frac{[ADEGChol]_0}{[EiBr]_0}$ est égal à 50 est employé le contrôle de l'ATRP est parfait jusqu'à 74% de conversion. Malgré la solubilité imparfaite du Cu^{II} en présence du ligand PMDETA, la faible quantité Cu^{II} soluble dans le milieu réactionnel semble suffisante pour contrôler l'ATRP. L'introduction du $Cu^{II}Br_2$ dès le début de la polymérisation n'améliore pas le contrôle de l'ATRP.

III.CONCLUSION DU CHAPITRE

Les conditions opératoires de la synthèse du monomère ADEGChol ont été mises au point avec succès en trois étapes. Dans les conditions basiques qui seront utilisées pour la déprotection du copolymère DexAc-g-PADEGChol, la stabilité de l'ADEGChol a été confirmée contrairement au monomère Achol qui possède une fonction carbonate.

Les conditions opératoires favorables au contrôle de l'ATRP du monomère ADEGChol ont été étudiées à partir d'un amorceur modèle, l'E*i*Br. L'E*i*Br présente une structure similaire à celle des groupements amorceurs qui seront présents sur le macroamorceur DexAcBr utilisé par la suite pour la croissance des greffons. Deux solvants, l'un apolaire (toluène) et l'autre polaire (THF), ont été testés. De la même façon, deux types de ligands : pyridylméthanimines (PPMI, OPMI) et PMDETA ont été évalués pour contrôler au mieux l'ATRP de ce monomère. Un certain nombre d'observations ont pu être révélées au cours de cette investigation et sont résumées ci-dessous :

- Le ligand PPMI ne permet pas de solubiliser les catalyseurs métalliques $Cu^{I}Br$ et $Cu^{II}Br_2$ en présence du monomère ADEGChol et des solvants testés.

- La solubilisation des catalyseurs métalliques $Cu^{I}Br$ et $Cu^{II}Br_2$ dans le milieu est obtenue avec OPMI que se soit dans le toluène ou le THF. En revanche, la vitesse de l'ATRP de l'ADEGChol en présence du système $Cu^{I}Br$/OPMI est très lente et aucun contrôle de la polymérisation n'est atteint.

- Malgré la solubilité partielle du $Cu^{II}Br_2$ en présence du ligand PMDETA, l'ATRP de l'ADEGChol est très rapide et un contr
- ôle des paramètres macromoléculaires est observé dans le THF à 60 °C en utilisant le rapport $\frac{[ADEGChol]_0}{[EiBr]_0} = 50$. Ces conditions optimales seront employées par la suite pour obtenir des glycopolymères Dex-g-PADEGChol dont la synthèse est décrite dans le prochain chapitre de ce manuscrit.

REFERENCES

(1) Shannon, P. J. Photopolymerization in cholesteric mesophases. *Macromolecules* **1984**, 17, 1873–1876.

(2) Jia, L.; Cao, A.; Lévy, D.; Xu, B.; Albouy, P.-A.; Xing, X.; Bowick, M. J.; Li, M.-H. Smectic polymer vesicles. *Soft Matter* **2009**, 5, 3446–3451.

(3) Pinol, R.; Jia, L.; Gubellini, F.; Levy, D.; Albouy, P.-A.; Keller, P.; Cao, A.; Li, M.-H. Self-assembly of PEG-b-Liquid crystal polymer: The role of smectic order in the formation of nanofibers. *Macromolecules* **2007**, 40, 5625–5627.

(4) Yang, J.; Li, Q. B.; Li, Y.; Jia, L.; Fang, Q.; Cao, A. Chemical preparation and characterization of new biodegradable aliphatic polyesters end-capped with diverse steroidal moieties. *Journal of Polymer Science Part A-Polymer Chemistry* **2006**, 44, 2045–2058.

(5) Liu, Y.; Wang, Y.; Zhuang, D.; Yang, J.; Yang, J. Bionanoparticles of amphiphilic copolymers polyacrylate bearing cholesterol and ascorbate for drug delivery. *Journal of Colloid and Interface Science* **2012**, 377, 197–206.

(6) Yoshida, Y.; Sakakura, Y.; Aso, N.; Okada, S.; Tanabe, Y. Practical and efficient methods for sulfonylation of alcohols using Ts(Ms)Cl/Et_3N and catalytic $Me_3H{\cdot}HCl$ as combined base: Promising alternative to traditional pyridine. *Tetrahedron* **1999**, 55, 2183–2192.

(7) Giordani, C.; Wakai, C.; Okamura, E.; Matubayasi, N.; Nakahara, M. Dynamic and 2D NMR studies on hydrogen-bonding aggregates of cholesterol in low-polarity organic solvents. Journal *of Physical Chemistry B* **2006**, 110, 15205–15211.

(8) Wilson, W. K.; Sumpter, R. M.; Warren, J. J.; Rogers, P. S.; Ruan, B.; Schroepfer, G. J. Analysis of unsaturated C27 sterols by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Lipid Research* **1996**, 37, 1529–1555.

(9) Szwarc, M. "Living" Polymers. *Nature* **1956**, 178, 1168–1169.

(10) Baskaran, D.; Müller, A. H. E. Anionic vinyl polymerization—50 years after Michael Szwarc. *Progress in Polymer Science* **2007**, 32, 173–219.

(11) Coessens, V.; Pintauer, T.; Matyjaszewski, K. Functional polymers by atom transfer radical polymerization. *Progress in Polymer Science* **2001**, 26, 337–377.

(12) Braunecker, W. A.; Matyjaszewski, K. Controlled/living radical polymerization: Features, developments, and perspectives. *Progress in Polymer Science* **2007**, 32, 93–146.

(13) Matyjaszewski, K.; Xia, J. H. Atom transfer radical polymerization. *Chemical Reviews* **2001**, 101, 2921–2990.

(14) Greszta, D.; Mardare, D.; Matyjaszewski, K. "Living" radical polymerization. 1. Possibilities and limitations. *Macromolecules* **1994**, 27, 638–644.

(15) Goto, A.; Fukuda, T. Kinetics of living radical polymerization. *Progress in Polymer Science* **2004**, 29, 329–385.

(16) Georges, M. K.; Veregin, R. P. N.; Kazmaier, P. M.; Hamer, G. K. Narrow molecular weight resins by a free-radical polymerization process. *Macromolecules* **1993**, 26, 2987–2988.

(17) Sciannamea, V.; Jerome, R.; Detrembleur, C. In-situ nitroxide-mediated radical polymerization (NMP) processes: Their understanding and optimization. *Chemical Reviews* **2008**, 108, 1104–1126.

(18) Hawker, C. J.; Bosman, A. W.; Harth, E. New Polymer Synthesis by Nitroxide Mediated Living Radical Polymerizations. *Chemical Reviews* **2001**, 101, 3661–3688.

(19) Debuigne, A.; Radhakrishnan, T.; Georges, M. K. Stable Free Radical Polymerization of Acrylates Promoted by α-Hydroxycarbonyl Compounds. *Macromolecules* **2006**, 39, 5359–5363.

(20) David, G.; Boyer, C.; Tonnar, J.; Ameduri, B.; Lacroix-Desmazes, P.; Boutevin, B. Use of Iodocompounds in Radical Polymerization. *Chemical Reviews* **2006**, 106, 3936–3962.

(21) Boyer, C.; Lacroix-Desmazes, P.; Robin, J.-J.; Boutevin, B. Reverse Iodine Transfer Polymerization (RITP) of Methyl Methacrylate. *Macromolecules* **2006**, 39, 4044–4053.

(22) Krstina, J.; Moad, G.; Rizzardo, E.; Winzor, C. L.; Berge, C. T.; Fryd, M. Narrow Polydispersity Block Copolymers by Free-Radical Polymerization in the Presence of Macromonomers. *Macromolecules* **1995**, 28, 5381–5385.

(23) Destarac, M. On the Critical Role of RAFT Agent Design in Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer (RAFT) Polymerization. *Polymer Reviews* **2011**, 51, 163–187.

(24) Chiefari, J.; Chong, Y. K.; Ercole, F.; Krstina, J.; Jeffery, J.; Le, T. P. T.; Mayadunne, R. T. A.; Meijs, G. F.; Moad, C. L.; Moad, G.; Rizzardo, E.; Thang, S. H. Living free-radical polymerization by reversible addition-fragmentation chain transfer: The RAFT process. *Macromolecules* **1998**, 31, 5559–5562.

(25) Le, T. P.; Moad, G.; Rizzardo, E.; Thang, S. H. Polymerization with living characteristics. Int. Pat.9801478, **1998**.

(26) Biadatti, T.; Charmot, D.; Corpart, P.; Michelet, D.; Zard, S. Method for block polymer synthesis by controlled radical polymerisation. WO 9858974, **1998**.

(27) Barner-Kowollik, C.; Buback, M.; Charleux, B.; Coote, M. L.; Drache, M.; Fukuda, T.; Goto, A.; Klumperman, B.; Lowe, A. B.; Mcleary, J. B.; Moad, G.; Monteiro, M. J.; Sanderson, R. D.; Tonge, M. P.; Vana, P. Mechanism and kinetics of dithiobenzoate-mediated RAFT polymerization. I. The current situation. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2006**, 44, 5809–5831.

(28) Perrier, S.; Barner-Kowollik, C.; Quinn, J. F.; Vana, P.; Davis, T. P. Origin of Inhibition Effects in the Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer (RAFT) Polymerization of Methyl Acrylate. *Macromolecules* **2002**, 35, 8300–8306.

(29) Wang, J.-S.; Matyjaszewski, K. Controlled/"living" radical polymerization. atom transfer radical polymerization in the presence of transition-metal complexes. *Journal of the American Chemical Society* **1995**, 117, 5614–5615.

(30) Wang, J.-S.; Matyjaszewski, K. Controlled/"Living" Radical Polymerization. Halogen Atom Transfer Radical Polymerization Promoted by a Cu(I)/Cu(II) Redox Process. *Macromolecules* **1995**, 28, 7901–7910.

(31) Nishikawa, T.; Ando, T.; Kamigaito, M.; Sawamoto, M. Evidence for Living Radical Polymerization of Methyl Methacrylate with Ruthenium Complex: Effects of Protic and Radical Compounds and Reinitiation from the Recovered Polymers. *Macromolecules* **1997**, 30, 2244–2248.

(32) Matyjaszewski, K.; Patten, T. E.; Xia, J. Controlled/"Living" Radical Polymerization. Kinetics of the Homogeneous Atom Transfer Radical Polymerization of Styrene. *Journal of the American Chemical Society* **1997**, 119, 674–680.

(33) Tang, W.; Matyjaszewski, K. Kinetic Modeling of Normal ATRP, Normal ATRP with [Cu-II](o), Reverse ATRP and SR&NI ATRP. *Macromolecular Theory and Simulations* **2008**, 17, 359–375.

(34) Jakubowski, W.; Matyjaszewski, K. Activator Generated by Electron Transfer for Atom Transfer Radical Polymerization. *Macromolecules* **2005**, 38, 4139–4146.

(35) Min, K.; Gao, H.; Matyjaszewski, K. Preparation of Homopolymers and Block Copolymers in Miniemulsion by ATRP Using Activators Generated by Electron Transfer (AGET). *Journal of the American Chemical Society* **2005**, 127, 3825–3830.

(36) Jakubowski, W.; Min, K.; Matyjaszewski, K. Activators Regenerated by Electron Transfer for Atom Transfer Radical Polymerization of Styrene. *Macromolecules* **2006**, 39, 39–45.

(37) Min, K.; Gao, H.; Matyjaszewski, K. Use of Ascorbic Acid as Reducing Agent for Synthesis of Well-Defined Polymers by ARGET ATRP. *Macromolecules* **2007**, 40, 1789–1791.

(38) Matyjaszewski, K.; Dong, H.; Jakubowski, W.; Pietrasik, J.; Kusumo, A. Grafting from Surfaces for "Everyone": ARGET ATRP in the Presence of Air. *Langmuir* **2007**, 23, 4528–4531.

(39) Mueller, L.; Jakubowski, W.; Tang, W.; Matyjaszewski, K. Successful Chain Extension of Polyacrylate and Polystyrene Macroinitiators with Methacrylates in an ARGET and ICAR ATRP. *Macromolecules* **2007**, 40, 6464–6472.

(40) Rosen, B. M.; Percec, V. Single-Electron Transfer and Single-Electron Transfer Degenerative Chain Transfer Living Radical Polymerization. *Chemical Reviews* **2009**, 109, 5069–5119.

(41) Wang, Y.; Zhong, M.; Zhu, W.; Peng, C.-H.; Zhang, Y.; Konkolewicz, D.; Bortolamei, N.; Isse, A. A.; Gennaro, A.; Matyjaszewski, K. Reversible-Deactivation Radical Polymerization in the Presence of Metallic Copper. Comproportionation–Disproportionation Equilibria and Kinetics. *Macromolecules* **2013**, 46, 3793–3802.

(42) Samanta, S. R.; Levere, M. E.; Percec, V. SET-LRP of hydrophobic and hydrophilic acrylates in trifluoroethanol. *Polymer Chemistry* **2013**, 4, 3212–3224.

(43) Fischer, H. The Persistent Radical Effect In "Living" Radical Polymerization. *Macromolecules* **1997**, 30, 5666–5672.

(44) Fischer, H. The persistent radical effect in controlled radical polymerizations. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **1999**, 37, 1885–1901.

(45) Fischer, H. The Persistent Radical Effect: A Principle for Selective Radical Reactions and Living Radical Polymerizations. *Chemical Reviews* **2001**, 101, 3581–3610.

(46) Zhang, H.; Klumperman, B.; Ming, W.; Fischer, H.; van der Linde, R. Effect of Cu(II) on the Kinetics of the Homogeneous Atom Transfer Radical Polymerization of Methyl Methacrylate. *Macromolecules* **2001**, 34, 6169–6173.

(47) Kabachii, Y. A.; Kochev, S. Y.; Bronstein, L. M.; Blagodatskikh, I. B.; Valetsky, P. M. Atom transfer radical polymerization with Ti(III) halides and alkoxides. *Polymer Bulletin* **2003**, 50, 271–278.

(48) Le Grognec, E.; Claverie, R.; Poli, R. Radical polymerization of styrene controlled by half-sandwich Mo(III)/Mo(IV) couples: All basic mechanisms are possible. *Journal of the American Chemical Society* **2001**, 123, 9513–9524.

(49) Chan, S. H.; Lam, L. S. M.; Tse, C. W.; Man, K. Y. K.; Wong, W. T.; Djurisic, A. B.; Chan, W. K. Photosensitivity of functional polystyrene and poly(methyl methacrylate) synthesized by controlled radical polymerization. *Macromolecules* **2003**, 36, 5482–5490.

(50) Yu, H.; Zhang, Z.; Cheng, Z.; Zhu, J.; Zhou, N.; Zhang, W.; Zhu, X. ATRP of Styrene Catalyzed by Elemental Fe(0) and Br-2: An Easy and Economical ATRP Process. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2012**, 50, 2182–2187.

(51) He, D.; Noh, S. K.; Lyoo, W. S. In Situ-Generated Ru(III)-Mediated ATRP from the Polymeric Ru(III) Complex in the Absence of Activator Generation Agents. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2011**, 49, 4594–4602.

(52) Zhang, W.; Shiotsuki, M.; Masuda, T. Synthesis of substituted polyacetylenes grafted with polystyrene chains by the macromonomer method and their characterization. *Macromolecular Chemistry and Physics* **2006**, 207, 933–940.

(53) Duquesne, E.; Habimana, J.; Degee, P.; Dubois, P. Nickel-catalyzed supported ATRP of methyl methacrylate using cross-linked polystyrene triphenylphosphine as ligand. *Macromolecules* **2005**, 38, 9999–10006.

(54) Lecomte, P.; Drapier, I.; Dubois, P.; Teyssié, P.; Jérôme, R. Controlled Radical Polymerization of Methyl Methacrylate in the Presence of Palladium Acetate, Triphenylphosphine, and Carbon Tetrachloride. *Macromolecules* **1997**, 30, 7631–7633.

(55) Pintauer, T.; Matyjaszewski, K. Atom transfer radical addition and polymerization reactions catalyzed by ppm amounts of copper complexes. *Chemical Society Reviews* **2008**, 37, 1087–1097.

(56) Tang, W.; Kwak, Y.; Braunecker, W.; Tsarevsky, N. V.; Coote, M. L.; Matyjaszewski, K. Understanding Atom Transfer Radical Polymerization: Effect of Ligand and Initiator Structures on the Equilibrium Constants. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, 130, 10702–10713.

(57) Peng, C.-H.; Kong, J.; Seeliger, F.; Matyjaszewski, K. Mechanism of Halogen Exchange in ATRP. *Macromolecules* **2011**, 44, 7546–7557.

(58) Matyjaszewski, K.; Shipp, D. A.; Wang, J.-L.; Grimaud, T.; Patten, T. E. Utilizing Halide Exchange To Improve Control of Atom Transfer Radical Polymerization. *Macromolecules* **1998**, 31, 6836–6840.

(59) Matyjaszewski, K.; Davis, T. P.; Handbook of Radical Polymerization. Eds.; **2003**.

(60) Bergenudd, H.; Coullerez, G.; Jonsson, M.; Malmstr m, E. Solvent Effects on ATRP of Oligo(ethylene glycol) Methacrylate. Exploring the Limits of Control. *Macromolecules* **2009**, 42, 3302–3308.

(61) Shipp, D. A.; Wang, J.-L.; Matyjaszewski, K. Synthesis of Acrylate and Methacrylate Block Copolymers Using Atom Transfer Radical Polymerization. *Macromolecules* **1998**, 31, 8005–8008.

(62) Davis, K. A.; Matyjaszewski, K. Atom Transfer Radical Polymerization of tert-Butyl Acrylate and Preparation of Block Copolymers. *Macromolecules* **2000**, 33, 4039–4047.

(63) Qin, S. H.; Saget, J.; Pyun, J. R.; Jia, S. J.; Kowalewski, T.; Matyjaszewski, K. Synthesis of block, statistical, and gradient copolymers from octadecyl(meth)acrylates using atom transfer radical polymerization. *Macromolecules* **2003**, 36, 8969–8977.

(64) Vargun, E.; Usanmaz, A. Polymerization of 2-hydroxyethyl acrylate in bulk and solution by chemical initiator and by ATRP method. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2005**, 43, 3957–3965.

(65) Ibrahim, K.; Löfgren, B.; Seppälä, J. Synthesis of tertiary-butyl acrylate polymers and preparation of diblock copolymers using atom transfer radical polymerization. *European Polymer Journal* **2003**, 39, 2005–2010.

(66) Patten, T. E.; Matyjaszewski, K. Atom Transfer Radical Polymerization and the Synthesis of Polymeric Materials. *Advanced Materials* **1998**, 10, 901–915.

(67) Van Camp, W.; Du Prez, F. E.; Bon, S. a. F. Atom transfer radical polymerization of 1-ethoxyethyl (meth)acrylate: Facile route toward near-monodisperse poly((meth) acrylic acid). *Macromolecules* **2004**, 37, 6673–6675.

(68) Schumers, J.-M.; Fustin, C.-A.; Can, A.; Hoogenboom, R.; Schubert, U. S.; Gohy, J.-F. Are o-Nitrobenzyl (Meth)acrylate Monomers Polymerizable by Controlled-Radical Polymerization? *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2009**, 47, 6504–6513.

(69) Davis, K. A.; Paik, H. J.; Matyjaszewski, K. Kinetic investigation of the atom transfer radical polymerization of methyl acrylate. *Macromolecules* **1999**, 32, 1767–1776.

(70) Lejnieks, J.; Mourran, A.; Tillmann, W.; Keul, H.; Möller, M. Thin film of Poly(acrylic acid-co-allyl acrylate) as a Sacrificial Protective Layer for Hydrophilic Self Cleaning Glass. *Materials* **2010**, 3, 3369–3384.

(71) Bednarek, M.; Jankova, K.; Hvilsted, S. Novel polymers based on atom transfer radical polymerization of 2-methoxyethyl acrylate. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2007**, 45, 333–340.

(72) Matyjaszewski, K.; Coca, S.; Jasieczek, C. B. Polymerization of acrylates by atom transfer radical polymerization. Homopolymerization of glycidyl acrylate. *Macromolecular Chemistry and Physics* **1997**, 198, 4011–4017.

(73) Reyes, M.; Yu, X.; Shipp, D. A. Kinetic Analysis of the Atom Transfer Radical Polymerization of Butyl Acrylate Mediated by Cu(I)Br/N,N,N′,N′,N″-Pentamethyldiethylenetriamine. *Macromolecular Chemistry and Physics* **2001**, 202, 3268–3272.

(74) Haloi, D. J.; Roy, S.; Singha, N. K. Copper catalyzed atom transfer radical copolymerization of glycidyl methacrylate and 2-ethylhexyl acrylate. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2009**, 47, 6526–6533.

(75) Kavitha, A. A.; Singha, N. K. High temperature resistant tailor-made poly(meth)acrylates bearing adamantyl group via atom transfer radical polymerization. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2008**, 46, 7101–7113.

(76) Datta, H.; Singha, N. K. Atom transfer radical polymerization of hexyl acrylate and preparation of its "All-acrylate" block copolymers. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2008**, 46, 3499–3511.

(77) Beers, K. L.; Matyjaszewski, K. The atom transfer radical polymerization of lauryl acrylate. *Journal of Macromolecular Science-Pure and Applied Chemistry* **2001**, 38, 731–739.

(78) Liénafa, L.; Monge, S.; Robin, J.-J. A versatile synthesis of poly(lauryl acrylate) using N-(n-octyl)-2-pyridylmethanimine in copper mediated living radical polymerization. *European Polymer Journal* **2009**, 45, 1845–1850.

(79) Dutertre, F.; Pennarun, P.-Y.; Colombani, O.; Nicol, E. Straightforward synthesis of poly(lauryl acrylate)-b-poly(stearyl acrylate) diblock copolymers by ATRP. *European Polymer Journal* **2011**, 47, 343–351.

(80) Street, G.; Illsley, D.; Holder, S. J. Optimization of the synthesis of poly(octadecyl acrylate) by atom transfer radical polymerization and the preparation of all comblike amphiphilic diblock copolymers. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2005**, 43, 1129–1143.

(81) Roos, S. G.; Müller, A. H. E. Evidence for chain transfer in the atom transfer radical polymerization of butyl acrylate. *Macromolecular Rapid Communications* **2000**, 21, 864–867.

(82) Cai, Y.; Hartenstein, M.; Müller, A. H. E. Synthesis of Amphiphilic Graft Copolymers of n-Butyl Acrylate and Acrylic Acid by Atom Transfer Radical Copolymerization of Macromonomers. *Macromolecules* **2004**, 37, 7484–7490.

(83) Haddleton, D. M.; Crossman, M. C.; Dana, B. H.; Duncalf, D. J.; Heming, A. M.; Kukulj, D.; Shooter, A. J. Atom transfer polymerization of methyl methacrylate mediated by alkylpyridylmethanimine type ligands, copper(I) bromide, and alkyl halides in hydrocarbon solution. *Macromolecules* **1999**, 32, 2110–2119.

(84) Zhang, H.; Van Der Linde, R. Atom transfer radical polymerization ofn-butyl acrylate catalyzed by CuBr/N-(n-hexyl)-2-pyridylmethanimine. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2002**, 40, 3549–3561.

(85) Penfold, H. V.; Holder, S. J.; McKenzie, B. E. Octadecyl acrylate – Methyl methacrylate block and gradient copolymers from ATRP: Comb-like stabilizers for the preparation of micro- and nano-particles of poly(methyl methacrylate) and poly(acrylonitrile) by non-aqueous dispersion polymerization. *Polymer* **2010**, 51, 1904–1913.

(86) Tang, W.; Nanda, A. K.; Matyjaszewski, K. Effect of [Pyridylmethanimine]/[CuI] Ratio, Ligand, Solvent and Temperature on the Activation Rate Constants in Atom Transfer Radical Polymerization. *Macromolecular Chemistry and Physics* **2005**, 206, 1171–1177.

(87) Nanda, A. K.; Matyjaszewski, K. Effect of [PMDETA]/[Cu(I)] Ratio, Monomer, Solvent, Counterion, Ligand, and Alkyl Bromide on the Activation Rate Constants in Atom Transfer Radical Polymerization. *Macromolecules* **2003**, 36, 1487–1493.

CHAPITRE-II

SYNTHESE DE GLYCOPOLYMERE DEX-G-PADEGCHOL

I. SYNTHESE DES MACROAMORCEURS A BASE DE DEXTRANE 127

I.1 PROTECTION PARTIELLE DU DEXTRANE (1ERE ETAPE)..... 127

I.1.1 Choix de la méthode de protection 128

I.1.2 Conditions opératoires de l'acétylation 129

I.1.3 Evaluation du taux d'acétylation du dextrane..... 130

I.1.4 Stabilité du dextrane dans les conditions d'acétylation 133

I.2 INTRODUCTION DES GROUPEMENTS AMORCEURS (2EME ETAPE) 134

I.2.1 Choix des composants du milieu réactionnel 134

I.2.2 *Estimation du* τ_{Br}..... 135

II. SYNTHESE DES GLYCOPOLYMERES DEX-G-PADEGCHOL 138

II.1 CROISSANCE DES GREFFONS A PARTIR DES DEXACBR (3EME ETAPE) ... 138

II.1.1 Calcul du taux de conversion 139

II.1.2 Vérification de la croissance des greffons PADEGChol..... 140

II.1.2.1 Par RMN ^{1}H 140

II.1.2.2 Par SEC-MALLS 141

II.1.3 Synthèse de glycopolymères DexAc-g-PADEGChol 143

II.2 HYDROLYSE DES FONCTIONS ACETATE DU DEXAC-G-PADEGCHOL (4EME ETAPE) 148

II.2.1 Mises au point des conditions opératoires de la déprotection 148

II.2.2 Déprotection des glycopolymères DexAc-g-PADEGChol..... 150

II.2.3 Stabilité du glycopolymère Dex-g-PADEGChol 154

II.2.3.1 Stabilité de la dorsale dextrane..... 156

II.2.3.2 Stabilité des greffons PADEGChol 157

III. CONCLUSIONS DU CHAPITRE 160

REFERENCES 162

CHAPITRE- II

Ce chapitre sera consacré à l'élaboration des copolymères greffés amphiphiles Dex-g-PADEGChol via la méthode « grafting from ». Pour cela, la stratégie de synthèse multi-étapes précédemment décrite dans l'introduction de cette partie II sera utilisée (schéma II-1). Pour rappel, la première étape consiste à protéger partiellement les fonctions hydroxyle du dextrane hydrophile afin de rendre ce dernier soluble dans les solvants organiques peu polaires comme le toluène ou le THF. Ceci permet, dans une seconde étape, d'introduire en milieu homogène les groupements amorceurs qui assureront l'amorçage puis la croissance des greffons PADEGChol par ATRP lors de la troisième étape. Pour assurer le contrôle des paramètres macromoléculaires des glycopolymères finaux, les conditions opératoires optimales de l'homopolymérisation de l'ADEGChol, préalablement déterminées dans le chapitre précédent, seront employées. Finalement, la déprotection des fonctions hydroxyle du glycopolymère Dex-g-PADEGChol sera effectuée en milieu faiblement basique lors de la quatrième étape. Chaque intermédiaire fera l'objet de caractérisations détaillées et leur stabilité, ou éventuelle dégradation, sera examinée.

I.SYNTHESE DES MACROAMORCEURS A BASE DE DEXTRANE

I.1 PROTECTION PARTIELLE DU DEXTRANE (1ERE ETAPE)

Comme il a déjà été mentionné, le dextrane est un polysaccharide naturel très hydrophile, soluble dans l'eau et dans quelques solvants organiques polaires tels que le DMSO, le formamide, l'éthylène glycol ou le glycérol. Il est soluble également dans des

mélanges de solvants comme le DMAc ou le DMF en présence de LiCl. Or, le monomère choisi, l'ADEGChol, n'est soluble que dans les solvants peu polaires et ne l'est pas dans les solvants précités. Aussi, afin de polymériser ce monomère à partir d'un amorceur dérivé du dextrane en milieu homogène, il est d'abord nécessaire d'introduire des groupements hydrophobes sur les fonctions hydroxyle du dextrane pour avoir un solvant commun entre le dérivé polysaccharide et l'ADEGChol et pour pouvoir introduire les groupements amorceurs (2ème étape) qui amorceront l'ATRP de l'ADEGChol lors de la 3ème étape.

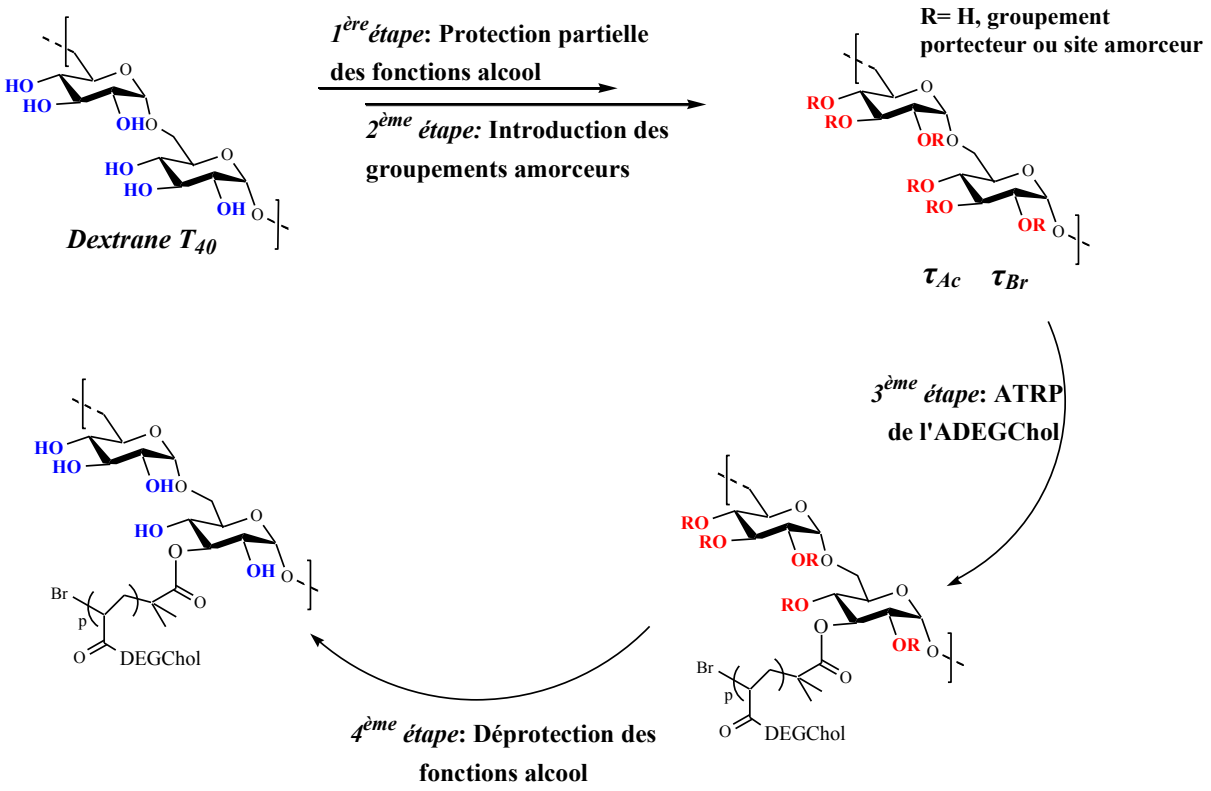


Schéma II-1 Stratégie de synthèse du glycopolymère Dex-g-PADEGChol.

I.1.1 Choix de la méthode de protection

Il existe de nombreuses méthodes pour protéger les fonctions alcool comme par exemple l'éthérification (ex. silylation) ou l'estérification (ex. acétylation)[1]. Dans certains cas, la silylation peut être une méthode efficace. Elle a ainsi été utilisée pour la synthèse des glycopolymères Dex-g-PLA [2]. Mais dans notre cas, cette méthode a été écartée car des tests préliminaires avaient démontré une forte déprotection prématurée des fonctions hydroxyle d'un dextrane partiellement silylé dans les conditions que nous utiliserons par la suite pour introduire les groupements amorceurs d'ATRP. En revanche, la protection des fonctions hydroxyle par les acétates persiste dans ces conditions opératoires. Cette dernière méthode a été utilisée par exemple pour introduire des groupements hydrophobes sur les fonctions

hydroxyle du dextrane lors de la synthèse du glycopolymère Dex-g-PMMA [3]. Ces fonctions acétates ont également été utilisées pour modifier d'autres polysaccharides comme la cellulose [4,5] ou le chitosane [6]. Dans le cadre de ce doctorat, nous nous sommes inspirés des travaux précédemment réalisés au sein de notre laboratoire pour élaborer des dérivés hydrophobisés du dextrane que nous noterons $DexAc_{\tau Ac}$ [3], avec τ_{Ac} est le taux de modification du dextrane pour 100 fonctions hydroxyle.

I.1.2 Conditions opératoires de l'acétylation

Conformément aux études précédentes, l'acétylation du dextrane a été effectuée à l'aide de l'anhydride acétique activé par une quantité catalytique de N,N-diméthylaminopyridine (DMAP), en présence de pyridine utilisée comme base, dans le DMSO à 50 °C pendant 24 h [3]. A température, temps de réaction et rapport molaire OH/DMAP/pyridine fixés, le taux d'acétylation (τ_{Ac}) augmente linéairement avec le ratio molaire initial entre l'anhydride acétique et les fonctions hydroxyle du dextrane (anhydride/OH) [3]. L'étude de la stabilité du dextrane dans ces conditions opératoires avaient cependant montré une dégradation croissante de la chaîne du dextrane en fonction de la quantité molaire d'anhydride acétique utilisée [3]. En effet, lorsque le taux d'acétylation est seulement de 10% ($DexAc_{10}$), une légère diminution de la masse molaire ($\overline{M_n}$) du dextrane est observée (de 34 300 g/mol à 32 200 g/mol), alors que la $\overline{M_n}$ chute jusqu'à 18 300 g/mol pour un taux de modification supérieur à 80 % ($DexAc_{80}$). Cette dégradation est expliquée par l'hydrolyse acide des chaînes de dextrane en présence de l'acide acétique formé au cours de l'estérification, bien que cet acide devrait être neutralisé par le système basique pyridine/DMAP. Afin de neutraliser plus efficacement cet acide et d'éviter par conséquent l'hydrolyse du squelette dextrane, nous avons utilisé la triéthylamine au lieu de la pyridine comme base (schéma II-2). Les résultats de la stabilité du dextrane dans ces nouvelles conditions seront exposés dans les prochains paragraphes.

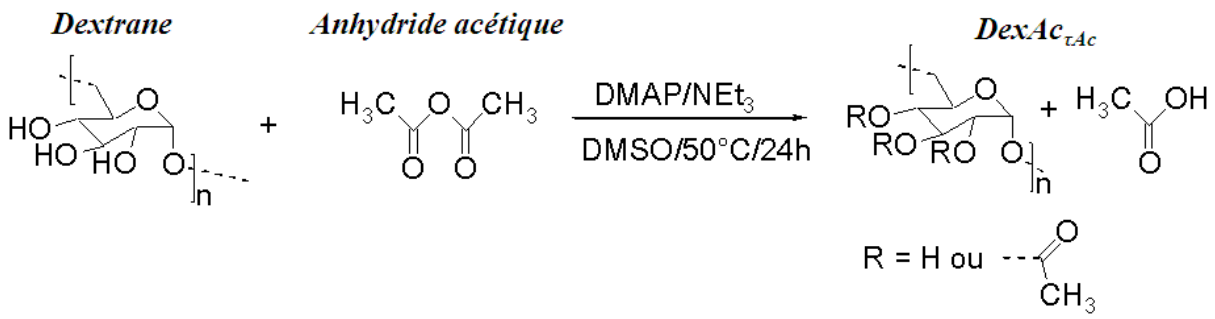


Schéma II-2 Acétylation partielle des fonctions hydroxyle du dextrane.

De plus, la solubilité des dérivés du dextrane évoluent selon leur taux de d'acétylation (tableau II-1). En effet, au-delà de 50% de modification, les dérivés du dextrane partiellement acétylés (DexAc) deviennent solubles dans les solvants peu polaires comme le chloroforme, le THF et le toluène comme on peut le voir dans le tableau II-1. DMSO reste le seul solvant qui permet de solubiliser les $DexAc_{\tau AC}$ quel que soit leur taux d'acétylation à température ambiante, cependant un léger chauffage préalable à 40 °C est nécessaire pour des taux de modification supérieurs à 80%. Dans notre cas, nous avons privilégié des taux de substitution à des valeurs proches de 65% - 70% en utilisant un rapport anhydride acétique/OH égal à 0,7 afin d'avoir des solvants communs entre les macroamorceurs et le monomère ADEGChol (THF ou toluène par exemple).

Tableau II-1 Influence du taux d'acétylation du dextrane sur sa solubilité. [DexAc]=1 mg/mL à 25 °C.

Solvant	**Taux d'acétylation**									
	0%	**10%**	**20%**	**30%**	**40%**	**50%**	**60%**	**70%**	**80%**	**90%**
Eau	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Ethanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DMSO	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Acétone	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
THF	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Chloroforme	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Toluène	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+

I.1.3 Evaluation du taux d'acétylation du dextrane

L'acétylation partielle du dextrane a été vérifiée par RMN ^{1}H à la fois dans le DMSO-d_6 et dans le $CDCl_3$. La figure II-1a montre le spectre RMN ^{1}H du dextrane natif dans le DMSO-d_6 [2,3]. Le pic du proton anomère ($H_{anomère}$) résonne vers 4,65 ppm sous forme d'un singulet. Les pics correspondant aux fonctions hydroxyle (OH^2, OH^3, OH^4 portées respectivement par les carbones 2, 3 et 4) sont des doublets, respectivement situés à 4,45 ppm, 4,82 ppm et 4,9 ppm. Le large massif (3 ppm à 3,8 ppm) correspond aux six protons glucosidiques (H^2, H^3,

H^4, H^5 et aux deux protons H^6). Le spectre RMN ^1H du dérivé $DexAc_{64}$ dans le DMSO-d_6 (figure II-1b) montre l'apparition d'un nouveau pic à 2 ppm, caractéristique des protons méthyle des fonctions acétate. Un changement de l'allure des massifs (M_1 et M_2) correspondants aux protons glucosidiques, anomère et des fonctions hydroxyle peut également être observé. Ce changement provient du déblindage des protons situés sur le même carbone que les fonctions acétate [3]. En effet, lorsqu'une fonction OH est modifiée (par exemple OH^3), le proton H^3 voit son déplacement chimique évoluer de la zone (3 ppm – 3,8 ppm) à la zone (4,3 ppm -5,7 ppm). Les déplacements chimiques des protons voisins (H^2 et H^4) subissent eux aussi un déblindage, mais dans une moindre mesure. Ainsi, le massif M_1 (4,2 ppm – 5,7 ppm) n'est donc plus représentatif uniquement du proton anomère et des fonctions OH résiduelles ; mais également des hydrogènes glucosidiques situés sur les carbones porteurs des fonctions acétate. Aussi, M_1 correspond toujours à 4 protons quel que soit le taux d'acétylation [3]. Dans le $CDCl_3$, des études [7] avaient révélé que les fonctions hydroxyle résiduelles de dextrane partiellement modifié sont invisibles par RMN ^1H. Par conséquent, les massifs M_1 et M_2 observés dans la figure II-1c représentent uniquement les six protons glucosidiques et le proton anomère.

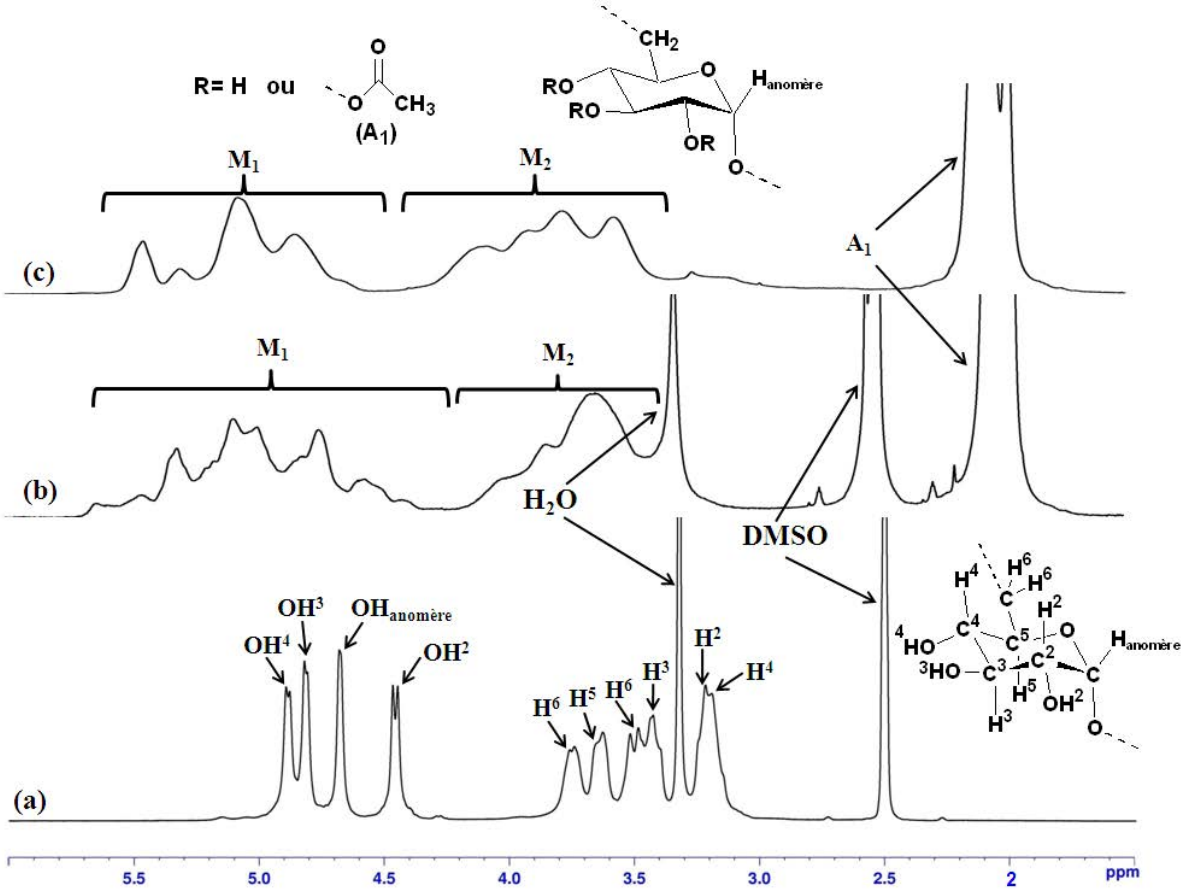


Figure II-1 Spectres RMN ^1H du dextrane T_{40} dans le DMSO-d_6 (a), $DexAc_{64}$ dans le DMSO-d_6 (b) et dans le $CDCl_3$ (c).

Le taux de modification (τ_{Ac}) du dextrane partiellement acétylé peut être estimé à partir des spectres RMN ^{1}H réalisés dans le DMSO-d_6 ou dans le $CDCl_3$.

Dans le cas du DMSO-d_6, τ_{Ac} est estimé en utilisant l'équation II-1 à partir de l'aire du pic (A_1) correspondant aux 3 protons méthyle de chacun des groupements acétate et de l'aire du massif (M_1) correspondant à 4 protons comme nous l'avons mentionné précédemment. Le massif (M_2) dans la zone (3,3 ppm – 4,2 ppm) n'est pas pris en compte dans le calcul, car la présence du pic de l'eau présente dans le DMSO-d_6 perturbe l'intégration précise des pics.

En revanche, dans le $CDCl_3$, le calcul est effectué en utilisant l'équation II-2 où A_1 est l'aire du pic correspondant aux 3 protons méthyle des groupements acétate, et (A_{M1} + A_{M2}) représentant la totalité des aires des massifs M_1 et M_2 qui correspondent à sept protons : le proton anomère et les protons glucosidiques « déplacés et non déplacés ».

Quels que soient le solvant et l'équation correspondante employés, les taux de substitution évalués sont comparables. Les différents $DexAc_{\tau AC}$ synthétisés seront nommés dans ce manuscrit en utilisant le τ_{Ac} estimé dans le $CDCl_3$. Notons que l'efficacité moyenne d'acétylation (rapport molaire en groupements acétate introduits par rapport à la quantité d'anhydride acétique utilisée) était de 94% en présence de la pyridine [3]. Une efficacité moyenne équivalente (~ 95%) a été obtenue en présence de la triéthylamine. Le tableau II-2 montre le taux et l'efficacité d'acétylation du dextrane obtenus dans quelques synthèses où un taux théorique d'acétylation égal à 70% a été visé.

$$\boldsymbol{\tau_{Ac}}(\%) = \frac{\boldsymbol{A_1}}{\boldsymbol{A_{M1}}} \times \frac{\mathbf{4 \times 100}}{\mathbf{9}}$$ ***Equation II-1***

$$\tau_{Ac}(\%) = \frac{A_1}{A_{M1}+A_{M2}} \times \frac{7 \times 100}{9}$$ ***Equation II-2***

Tableau II-2 Taux et efficacité d'acétylation du dextrane estimés dans le DMSO-d_6 et $CDCl_3$. Taux d'acétylation théorique visé égal à 70%.

$DexAc_{\tau Ac}$	**τ_{Ac} (%)**		**Efficacité (%)**	
	DMSO	**$CDCl_3$**	**DMSO**	**$CDCl_3$**
$DexAc_{64}$	63	64	89	91,4
$DexAc_{67}$	62	67	89	95,4
$DexAc_{69}$	66	69	95	99

I.1.4 Stabilité du dextrane dans les conditions d'acétylation

Comme nous avons mentionné précédemment, l'utilisation de la pyridine comme base ne permet pas de neutraliser efficacement l'acide acétique libéré au cours de l'acétylation du dextrane, ce qui entraine une hydrolyse partielle de la dorsale dextrane. Afin de prévenir cette hydrolyse, la triéthylamine, qui est une base plus forte que la pyridine, a été employée. La figure II-2 montre les chromatogrammes SEC-MALLS dans le DMSO/ $NaNO_3$ d'un dextrane natif (T_{40}) et de deux dérivés du dextrane possédant des taux de modification proches (67% et 64%), préparés respectivement en utilisant la pyridine ($DexAc_{67}$) et la triéthylamine ($DexAc_{64}$). Dans le cas du dextrane modifié en présence de la pyridine, on remarque que le chromatogramme enregistré est déplacé vers des volumes d'élution plus élevés ($\overline{M_n}$ =27 000 g/mol et Đ=1,17) que celui du dextrane natif T_{40} ($\overline{M_n}$ =34 800 g/mol, Đ=1,10) ce qui se traduit par des masses molaires plus faibles. Ceci témoigne d'une dégradation partielle de la dorsale dextrane dans ces conditions. En revanche, lorsque la triéthylamine est employée, le chromatogramme obtenu présente le même volume d'élution ($\overline{M_n}$ =37 000 g/mol, Đ=1,11) que celui du dextrane natif T_{40}. Ceci confirme que la chaîne du dextrane ne subit pas de dégradation dans ces conditions opératoires.

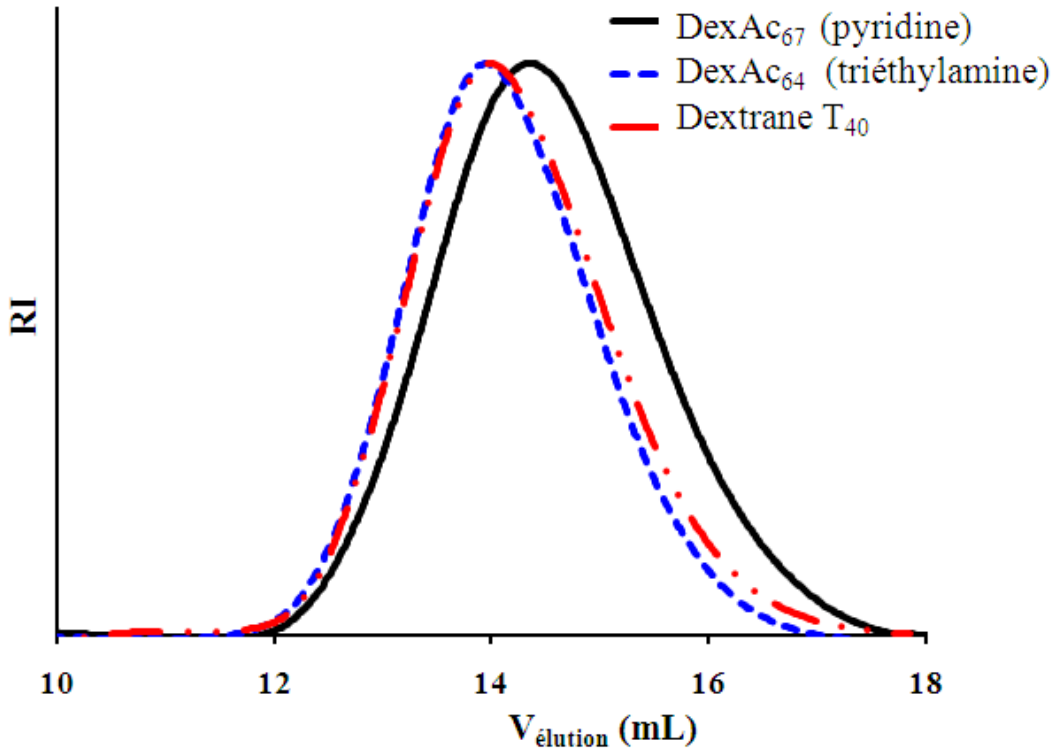


Figure II-2. Chromatogrammes SEC-MALLS dans le DMSO/$NaNO_3$(0,1 mol/L) d'un Dextrane T_{40}, du $DexAc_{67}$ et du $DexAc_{64}$. La base utilisée pour la synthèse des DexAc est indiquée entre parenthèses. Le dn/dc utilisé est égal à 0,074 pour le dextrane natif et à 0,022 pour les $DexAc_{67}$ et $DexAc_{64}$.

I.2 INTRODUCTION DES GROUPEMENTS AMORCEURS (2EME ETAPE)

Dans le présent paragraphe, nous nous intéresserons à l'introduction des groupements amorceurs d'ATRP sur le tronc dextrane partiellement modifié ($DexAc_{\tau Ac}$). Ces groupements amorceurs seront mis à profit lors de la prochaine étape pour faire croître les greffons PADEGChol par ATRP.

I.2.1 Choix des composants du milieu réactionnel

Comme précédemment évoqué, les amorceurs de type α-halogénoesters, et plus précisément les dérivés bromés, font partie des amorceurs les plus utilisés et les plus efficaces pour polymériser les monomères acrylates par ATRP [8,9]. De plus, afin de l'introduire sur les précurseurs DexAc, le réactif doit posséder une deuxième fonction chimique très réactive avec les fonctions alcool résiduelles du DexAc. Les halogénures d'acyle sont de très bons candidats, car ils sont capables de réagir efficacement avec les fonctions alcool. Ils ont d'ailleurs été employés sur de nombreux polysaccharides tels que le pullulane [10], le chitosane [6,11,12] ou la cellulose [13–15]. Les glycopolymères Dex-g-PMMA ont d'ailleurs été élaborés en utilisant un macroamorceur porteur de groupements α-bromogénoesters. Ce dernier a été synthétisé par estérification des fonctions hydroxyle résiduelles d'un DexAc en utilisant le bromure de 2-bromoisobutanoyle (Br*i*BBr) [3]. Dans ces travaux précédents, la réaction avait été effectuée dans le THF, à température ambiante pendant 24 h. Le THF solubilisant uniquement les DexAc suffisamment acétylés (tableau II-1), l'introduction de ces groupements amorceurs avait été effectuée spécifiquement sur des dextranes partiellement acétylés avec des taux de modification supérieurs à 50%. La triéthylamine avait été utilisée comme base pour modérer l'acidité du milieu réactionnel afin d'éviter toute dégradation éventuelle de la chaîne dextrane par l'acide bromohydrique libéré au cours de cette réaction (schéma II-3).

Dans le cadre de notre travail, nous avons utilisé les mêmes conditions opératoires pour la synthèse des macroamorceurs notés $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$ [3]. τ_{Br} est le taux de modification du dextrane, c'est-à-dire le nombre de sites amorceurs introduits pour 100 fonctions hydroxyle du dextrane initial.

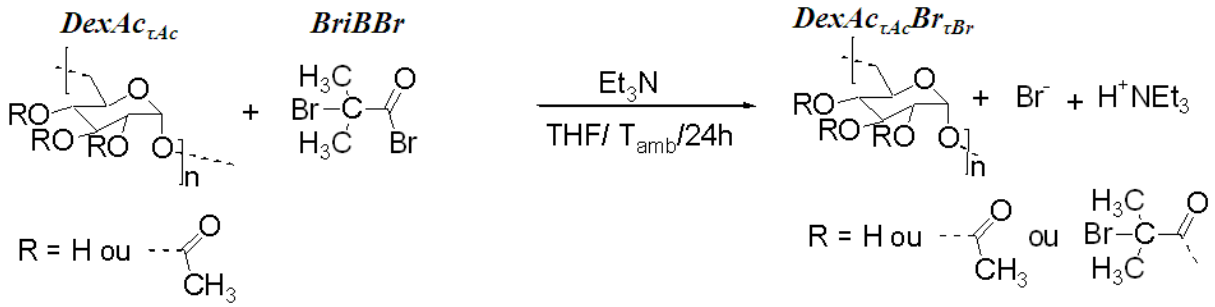


Schéma II-3 Introduction de groupements amorceurs sur un dextrane acétylé.

I.2.2 *Estimation du τ_{Br}*

La présence des groupements amorceurs sur le tronc DexAc a été vérifiée par RMN ^{1}H dans le $CDCl_3$ et le DMSO-d_6. A première vue, les spectres RMN ^{1}H du macroamorceur DexAcBr et de son précurseur DexAc se ressemblent beaucoup (figure II-3). Cependant, un épaulement sur le pic (A_2) situé à 2 ppm est visible quel que soit le solvant deutérié utilisé. Cet épaulement est caractéristique des protons méthyle des groupements amorceurs. D'autres analyses complémentaires avaient été effectuées afin de confirmer la fixation de ces groupements sur le DexAc, telles que l'analyse élémentaire, la RMN ^{13}C ou le dosage indirect des groupements hydroxyle résiduelles en utilisant le trichloroacétylisocyanate [3]. Le taux en groupements amorceurs (τ_{Br}) a été estimé à partir des spectres RMN ^{1}H dans le DMSO-d_6 (équation II-3) et dans le $CDCl_3$ (équation II-4), selon le même raisonnement développé précédemment pour la détermination du taux d'acétylation (τ_{Ac}). Ce calcul prend en compte le taux d'acétylation préalablement estimé pour le précurseur DexAc et l'aire totale (A_1 et A_2) des pics de la zone 1,8 – 2,3 ppm.

$$\boldsymbol{\tau_{Ac}}(\%) = \left(\frac{\mathbf{4(A_1+A_2)}}{\boldsymbol{A_{M1}}} - \mathbf{9} \times \boldsymbol{\tau_{Ac}}\right) \times \frac{\mathbf{100}}{\mathbf{18}}$$ ***Equation II-3***

ou

$$\tau_{Ac}(\%) = \left(\frac{7(A_1+A_2)}{A_{M1}+A_{M2}} - 9 \times \tau_{Ac}\right) \times \frac{100}{18}$$ ***Equation II-4***

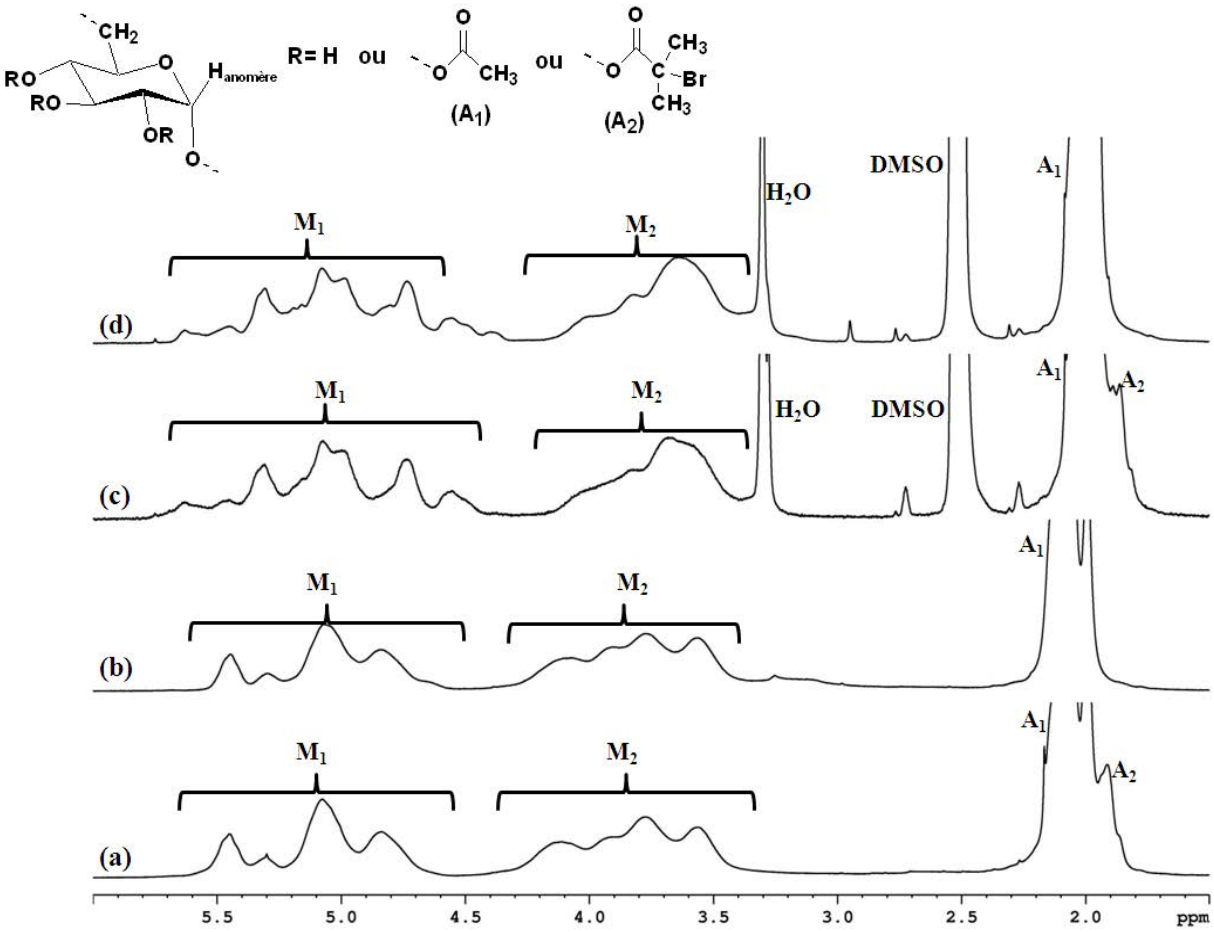


Figure II-3. Spectres RMN ^{1}H du $DexAc_{64}Br_{10}$ dans le $CDCl_3$ (a) et dans le DMSO-d_6 (c) et de son précurseur $DexAc_{64}$ dans le $CDCl_3$ (b) et dans le DMSO-d_6 (d).

Le taux en groupements amorceurs (τ_{Br}) introduit sur un dérivé dextrane partiellement acétylé dépend de la quantité de Br*i*BBr utilisée par rapport aux fonctions OR de ce DexAc (rapport Br*i*BBr/OR), OR étant soit une fonction hydroxyle résiduelle soit un groupement acétate (figure II-4). Le contrôle du nombre de sites amorceur sur le dextrane signifie *in fine* le contrôle du nombre de greffons. Ceci est donc important pour la maîtrise de l'architecture du glycopolymère qui sera synthétisé par la suite (schéma II-4). Dans notre cas, nous nous sommes fixés comme objectif la synthèse des macroamorceurs avec des taux en groupements amorceurs relativement faibles (τ_{Br} entre 0,5% et 10%). Grâce à ce faible taux, et *in fine* au faible nombre de greffons PADEGChol, on peut espérer que le glycopolymère conserve la flexibilité du dextrane natif (longueur de persistance entre 1,5 et 1,8 nm- tableau I-5 de la partie bibliographique) et puisse stabiliser une interface liquide/liquide courbée.

L'efficacité moyenne de cette réaction a été estimée à 62% dans le cadre de cette thèse, valeur comparable à celle obtenue dans l'étude précédente (68%) [3]. Aucun changement de solubilité n'a été observé pour les macroamorceurs $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$ synthétisés à partir des $DexAc\tau_{Ac}$. En effet, quel que soit le τ_{Br}, les $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$ restent solubles dans les solvants apolaires tels que le toluène et le THF et insolubles dans l'eau.

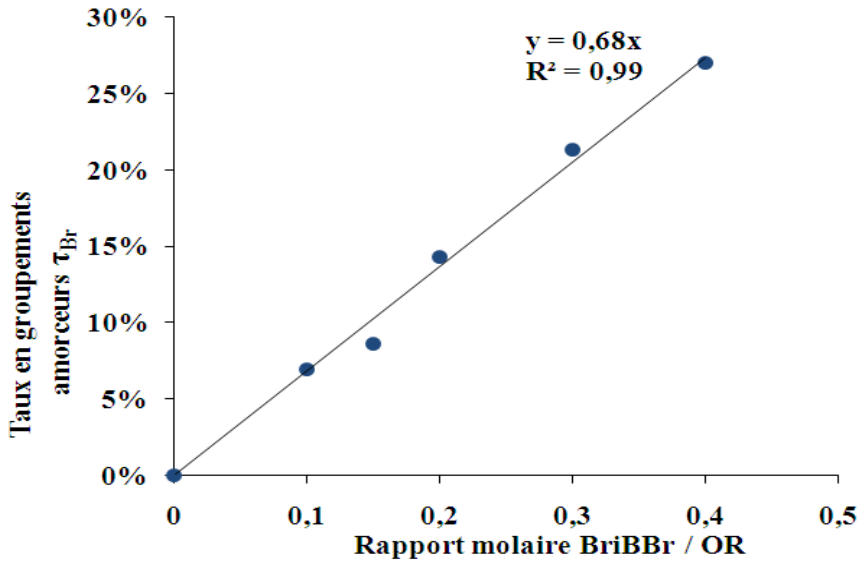


Figure II-4. Influence du rapport molaire BriBBr/OR (OR correspond soit à une fonction OH ou à un groupement acétate) sur le taux en groupement amorceur (τ_{Br}). Expériences réalisées sur $DexAc_{70}$, à 25 °C pendant 20 h dans le THF, 3eq de NEt_3 par mole de fonctions OH résiduelles sur le $DexAc_{70}$ [3].

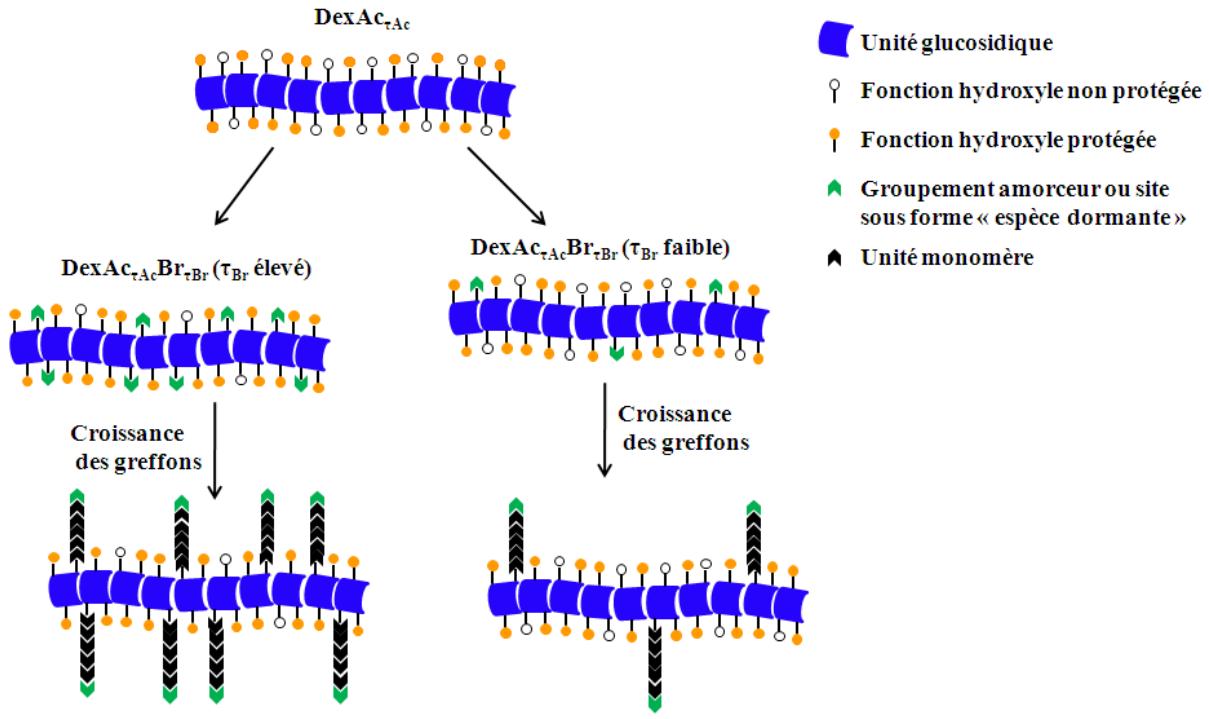


Schéma II-4 Influence du taux en groupements amorceurs sur l'architecture du glycopolymère.

II.SYNTHESE DES GLYCOPOLYMERES DEX-g-PADEGCHOL

Dans ce paragraphe, nous étudierons la synthèse des glycopolymères amphiphiles greffés Dex-g-PADEGChol. Dans un premier temps, les greffons PADEGChol seront générés par ATRP à partir des macroamorceurs $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$ (3ème étape). Les conditions opératoires utilisées dans cette étape seront celles que nous avons déterminées dans le chapitre précédent, lors de l'étude de l'homopolymérisation du monomère ADEGChol par ATRP en présence de l'amorceur modèle E*i*Br. Dans un deuxième temps, la déprotection des groupements protecteurs acétate sera réalisée dans un milieu basique (4ème étape), afin de restituer le caractère hydrophile du dextrane et par conséquent produire des glycopolymères amphiphiles Dex-g-PADEGChol.

II.1 CROISSANCE DES GREFFONS A PARTIR DES DEXACBR (3EME ETAPE)

Des glycopolymères ont été synthétisés par ATRP à partir de plusieurs macroamorceurs $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$ dans le THF ou le toluène, en présence du PMDETA comme ligand et de $Cu^{I}Br$ comme catalyseur métallique en utilisant un rapport molaire $[ADEGChol]_0/[Br]_0/[Cu^{I}Br]_0/[PMDETA]_0$ = 50/1/1/1/1 constant, précédemment déterminé pour le contrôle de l'homopolymérisation par ATRP de l'ADEGChol. Le nombre des sites amorceurs (τ_{Br}) présents dans les $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$ a été varié afin de préparer des glycopolymères avec différentes architectures. Mais dans toutes les expériences, la concentration en groupements amorceurs a été maintenue constante.

Les glycopolymères protégés obtenus seront nommés $DexAc_{\tau Ac}$-g^{N}-$PADEGChol^{f}$ où τ_{Ac} est le taux d'acétylation du précurseur $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$ utilisé, N est le nombre moyen de greffons PADEGChol pour 100 unités glucosidiques ($N = 3 \times \tau_{Br} \times 100$) et f est la fraction massique théorique des greffons PADEGChol dans le copolymère protégé $DexAc_{\tau Ac}$-g^{N}-$PADEGChol^{f}$. f est estimée par l'équation II-5.

$$f = \frac{m_{greffons}}{m_{greffons} + m_{DexAc}}$$ ***Equation II-5***

Dans la suite, nous montrerons comment les taux de conversion ont été estimés puis la croissance des greffons PADEGChol à partir des macroamorceurs $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$ a été vérifiée. Ensuite, l'influence de la nature du précurseur $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$ sur la vitesse de croissance de ces greffons sera commentée.

II.1.1 Calcul du taux de conversion

Le taux de conversion a été estimé à partir du spectre RMN ^{1}H dans le $CDCl_3$ du milieu réactionnel brut de polymérisation (figure II-5). L'équation II-6 utilisée précédemment lors de l'étude de l'homopolymérisation, peut également l'être ici. Seuls les protons relatifs aux greffons PADEGChol et au monomère ADEGChol résiduel apparaissent dans le spectre RMN ^{1}H présenté ci-dessous. Ceci provient à la fois du rapport molaire élevé utilisé ($[ADEGChol]_0/[Br]_0 = 50$) et du faible taux de conversion de la polymérisation.

Le calcul de la conversion (X%) a été effectuée en utilisant le pic relatif au H^a au lieu de celui du H^b, parce que ce dernier présente un déplacement chimique proche de ceux des protons glucosidiques et anomère du $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$, ce qui pourrait fausser le calcul.

$$X(\%) = 1 - \frac{(A_{H_m} + A_{H_k} + A_{H_l})}{3 \times A_{H_a}}$$ ***Equation II-6***

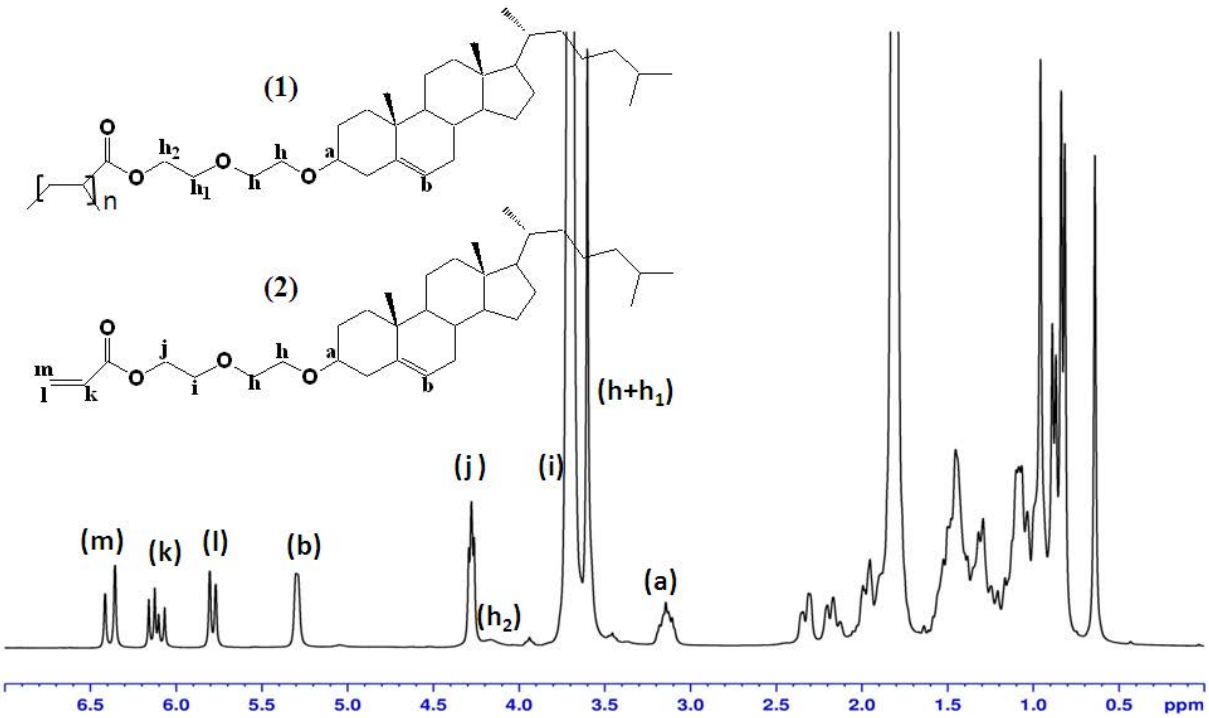


Figure II-5. Spectre RMN ^{1}H dans $CDCl_3$ du milieu réactionnel brut (1) greffons PADEGChol, (2) monomère résiduel ADEGChol.

II.1.2 Vérification de la croissance des greffons PADEGChol

II.1.2.1 Par RMN ^1H

Après élimination des monomères résiduels par précipitation du milieu réactionnel par un mélange approprié d'éthanol/acétone (Partie : techniques expérimentales), le glycopolymère $DexAc_{\tau Ac}$-g^N-$PADEGChol^f$ purifié est caractérisé par RMN ^1H dans le $CDCl_3$. La comparaison des spectres RMN ^1H d'un glycopolymère protégé et de son précurseur $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$ (figure II-6) montre la présence à la fois des pics relatifs aux greffons PADEGChol et à la dorsale protégée $DexAc_{\tau Ac}$. En effet, la figure II-6A montre la présence des pics des protons H^b et H^a caractéristiques des greffons PADEGChol résonnant respectivement à 5,3 ppm et 3,2 ppm. On peut également observer les huit protons du bras espaceur diéthylène glycole (H^h, H^{h1} et H^{h2}) résonnant entre 3,5 ppm et 4,4 ppm. Les protons aliphatiques du cholestérol sont observés dans la zone 0,6-2,4 ppm. Les massifs M_1 et M_2 du précurseur $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$ correspondant aux 6 protons glucosidiques « déplacés ou non » et du proton anomère ($H_{anomère}$) sont observés dans la zone (3,5 ppm – 5,6 ppm). Les pics relatifs aux protons méthyle des fonctions acétate et amorceurs $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$, quant à eux, résonnent entre 1,8 ppm et 2,2 ppm. Ceci témoigne que les greffons PADEGChol coexistent avec le tronc dextrane partiellement acétylé. Mais à ce stade, le lien covalent entre les greffons PADEGChol et la chaîne dextrane ne peut pas être mis en évidence.

La fraction massique des greffons PADEGChol dans ce glycopolymère protégé ($f = \frac{m_{greffons}}{m_{greffons} + m_{DexAc}}$) peut être estimée expérimentalement (f_{exp}) à partir du spectre RMN ^1H (figure II-6) en utilisant l'équation II-7. Dans ce cas, le calcul prend en considération l'aire du proton H^a caractéristique du groupement cholestérol, celle du massif (y) correspondant aux 8 protons du bras espaceur DEG au proton H^b du groupement cholestérol, aux 6 protons glucosidiques (déplacés ou non) et au proton anomère, soit un total de 16 protons. Les protons des fonctions hydroxyle non protégées de la dorsale ne sont pas détectés dans le $CDCl_3$ comme il a été mentionné précédemment. Cette fraction peut également être estimée théoriquement (f_{th}) en utilisant l'équation II-8 à partir du taux de conversion (X) de la polymérisation. $M_{ADEGChol}$ et $M_{DexAc\tau Ac}$ sont respectivement les masses molaires de l'unité monomère (ADEGChol) et de l'unité glucosidique acétylée ($DexAc_{\tau Ac}$).

$$f_{exp} = \frac{1}{\left(1 + \frac{y - (9 \times A_{H_a})}{7 \times A_{H_a}} \times \frac{M_{DexAc_{\tau Ac}}}{M_{ADEGChol}}\right)}$$ *Equation II-7*

$$f_{th} = \frac{3\,\tau_{Br}\,\frac{[ADEGChol]_0}{[Br]_0}\,X\,M_{ADEGChol}}{\left(3\,\tau_{Br}\,\frac{[ADEGChol]_0}{[Br]_0}\,X\,M_{ADEGChol}\right) + M_{DexAc_{\tau Ac}}}$$ *Equation II-8*

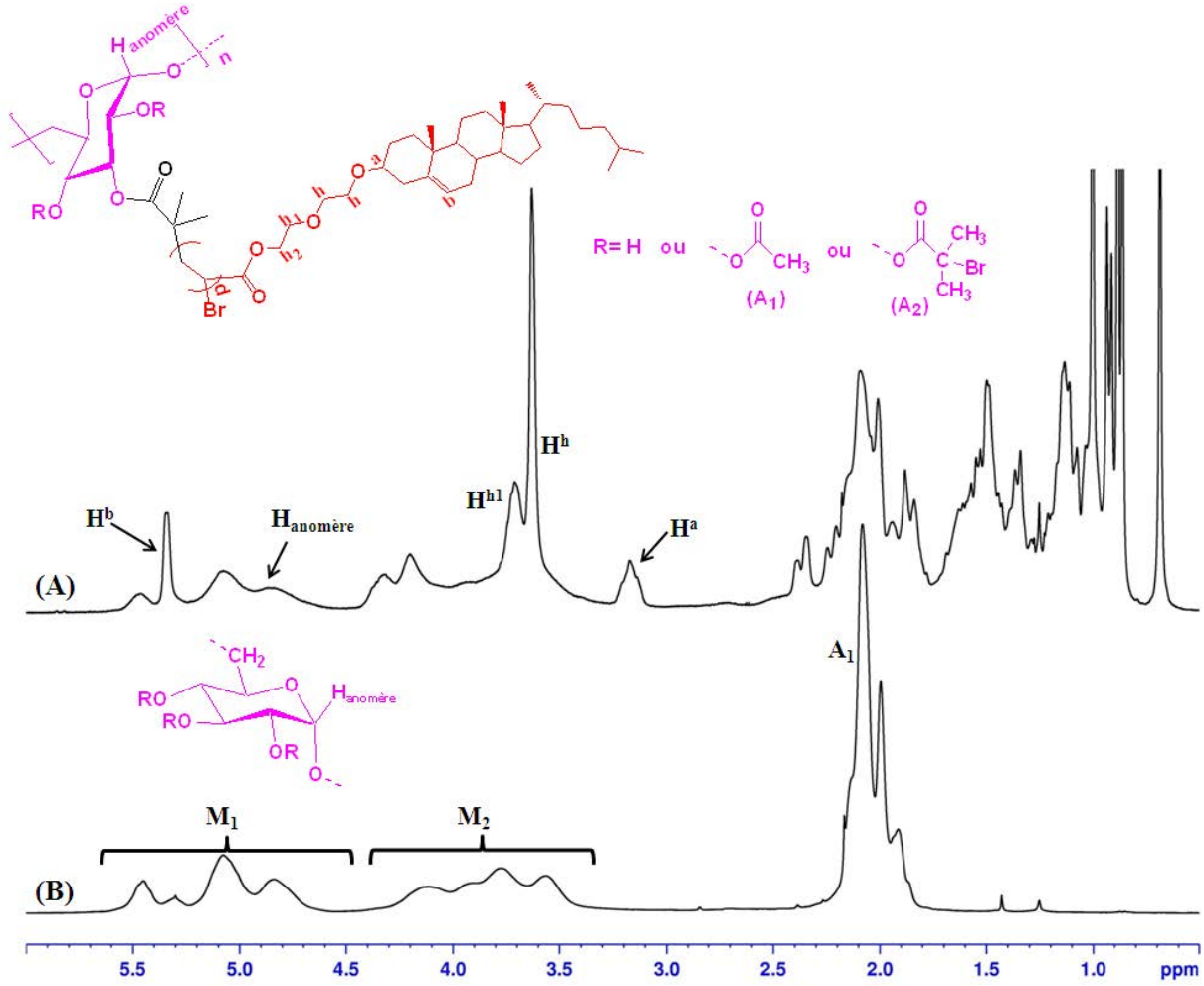


Figure II-6. Spectres RMN ^1H dans $CDCl_3$ (A) du glycopolymère $DexAc_{69}$-g^5-PADEGChol^{71} et (B) de son précurseur $DexAc_{69}Br_{1,6}$.

II.1.2.2 Par SEC-MALLS

Afin de prouver le lien covalent entre la dorsale et les greffons du glycopolymère, les DexAc-g-PADEGChol purifiés ont également été caractérisés par SEC-MALLS dans le THF. La figure II-7 montre à titre d'exemple la superposition du chromatogramme du glycopolymère $DexAc_{70}$-$g^{6,6}$-PADEGChol^{64} (conversion= 26%, $\overline{X_n} = 13$) et de son précurseur $DexAc_{70}Br_{2,2}$. On peut facilement voir que les chromatogrammes obtenus sont monomodaux. Dans le cas du chromatogramme du $DexAc_{70}$-$g^{6,6}$-PADEGChol^{64}, l'absence d'un épaulement

dans les faibles volumes d'élution (grandes masses molaires) témoigne que les réactions de terminaison sont ici négligeables, alors que l'absence d'un épaulement de volume hydrodynamique équivalent à celui du macroamorceur $DexAc_{70}Br_{2,2}$, indique que ce dernier a amorcé totalement l'ATRP de l'ADEGChol. De plus, le déplacement du chromatogramme du $DexAc_{70}$-$g^{6,6}$-PADEGChol^{64} vers les faibles volumes d'élution par rapport à son précurseur $DexAc_{70}Br_{2,2}$, prouve l'augmentation du volume hydrodynamique dû à la croissance des greffons PADEGChol sur la dorsale $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$. Si on suppose que la croissance des greffons ne s'est pas parfaitement effectuée sur la dorsale, à cause de la présence de réactions de transfert par exemple, des chaînes d'homopolymère PADEGChol pourraient être formées et devraient apparaître dans les grands volumes d'élution. Afin de faciliter la compréhension, un PADEGChol de longueur similaire à celle des greffons du glycopolymère étudié a été injecté en SEC et les chromatogrammes ont été superposés (figure II-7). Dans notre cas, on peut observer l'absence en quantité notable de chaînes homopolymères de même longueur que celle des greffons, ce qui témoigne que les réactions de transfert, si elles existent, sont négligeables. Notons enfin que le protocole expérimental utilisé pour la précipitation du milieu réactionnel par un mélange éthanol/acétone (Partie : techniques expérimentales) ne permet pas d'éliminer les chaînes de $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$ résiduelles qui n'auraient pas participées à l'ATRP ; et que ce mélange éthanol/acétone était celui utilisé pour purifier les PADEGChol

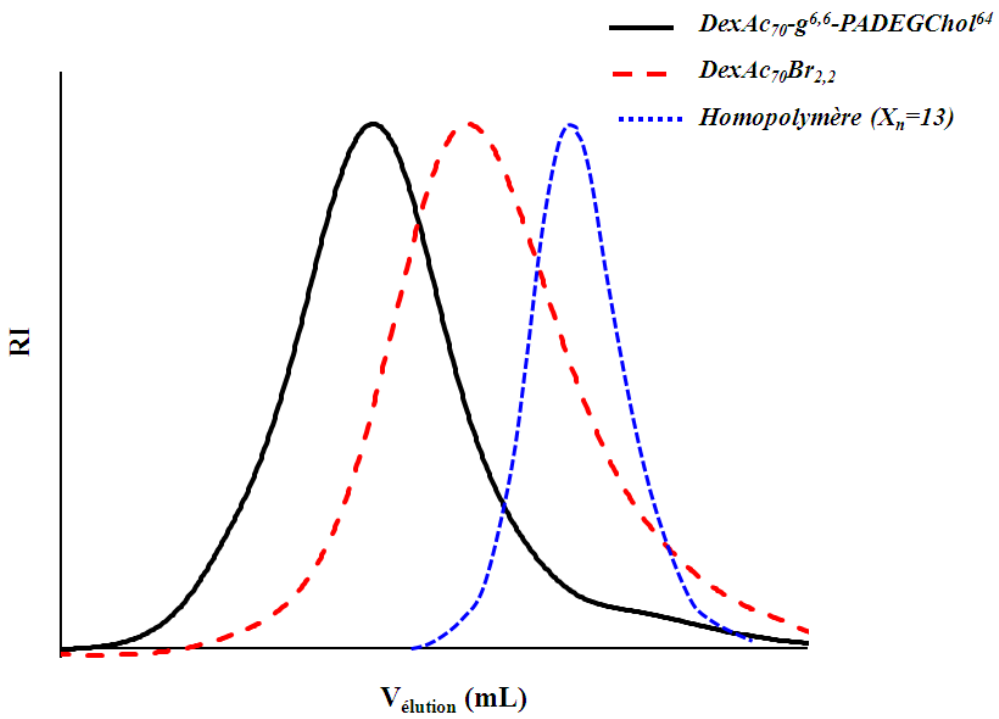


Figure II-7. Chromatogrammes SEC-MALLS dans le THF du $DexAc_{70}$-$g^{6,6}$-PADEGChol^{64}, du $DexAc_{70}Br_{2,2}$ et d'un PADEGChol ayant la même taille que les greffons.

II.1.3 Synthèse de glycopolymères DexAc-g-PADEGChol

Plusieurs glycopolymères $DexAc_{\tau Ac}$-g^{N}-$PADEGChol^{f}$ ont été élaborés par ATRP de l'ADEGChol à partir de différents macroamorceurs $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$. Le tableau II-3 résume les conditions opératoires utilisées pour les synthèses caractéristiques et les résultats obtenus dans chaque cas. Les entrées 8 et 9 du tableau II-3 correspondent aux cinétiques de l'homopolymérisation de L'ADEGChol menées respectivement dans le THF et le toluène, en utilisant les mêmes conditions opératoires. Plusieurs observations peuvent ainsi être effectuées :

- La cinétique de croissance des greffons PADEGChol est influencée par le solvant utilisé. En effet, à partir du même macroamorceur $DexAc_{64}Br_{2,5}$ et dans les mêmes conditions expérimentales (température et rapport molaire $\frac{[ADEGChol]_0}{[Br]_0}$, système catalytique utilisé,...), l'ATRP de l'ADEGChol est plus rapide dans le THF (27% de monomère sont consommés après seulement 150 min de polymérisation, entrée 6) que dans le toluène (37% après 1380 min, entrée 1). Dans le cas de l'amorceur modèle (E*i*Br), l'écart en terme de conversion était relativement faible entre les deux solvants dans les mêmes conditions de polymérisation, 45% et 37% de conversion en 120 min dans le THF et le toluène, respectivement (entrée 8 et 9). La vitesse lente observée dans le toluène (entrée 1) peut être justifiée par l'hétérogénéité du milieu réactionnel dans ce solvant. En effet, lors de l'ajout de l'ADEGChol à la solution de $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$ /système catalytique dans le toluène, le monomère se solubilise partiellement ce qui conduit à une certaine hétérogénéité du milieu. Cette hétérogénéité peut à la fois influencer l'accessibilité des sites d'amorçage par le monomère et réduire l'efficacité du $Cu^{I}Br$ lors du processus d'activation des sites amorceurs. Le THF permet quant à lui d'homogénéiser le milieu réactionnel, ce qui explique la rapidité de la polymérisation.

- La consommation du monomère (X=35 % après 90 min de polymérisation) en présence d'un macroamorceur possédant un faible taux de site amorceur ($DexAc_{71}Br_{1}$, entrée 3) est très proche de celle obtenue en présence de l'amorceur modèle E*i*Br (entrée 8) pour lequel 45% de monomère étaient consommés après 120 min de polymérisation (par extrapolation, on trouve X=34 % après 90 min de polymérisation). Ceci indique que :

i) l'efficacité d'amorçage de la polymérisation de l'ADEGChol à partir des $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$ est proche de celle estimée à partir de l'E*i*Br.

ii) La nature chimique du macroamorceur, autrement dit la polarité des fonctions hydroxyle résiduelles, ne semble pas influencer la vitesse de la polymérisation, ceci peut être

justifié, dans ce cas par leur faible nombre (taux de substitution supérieur à 70%). Des études préliminaires avaient montré que la croissance des greffons à partir d'un macroamorceur faiblement acétylé est plus rapide que celle à partir d'un macroamorceur fortement protégé, à cause de la polarité des fonctions alcool [3].

- Dans les mêmes conditions opératoires (solvant, température, rapport molaire,...), la cinétique de l'ATRP de l'ADEGChol est influencée par la densité en sites amorceurs présents sur le macroamorceur. En effet, en comparant les conversions obtenues lors des diverses synthèses (entrées 4 à 7), on constate que plus le nombre de sites d'amorçage sur la dorsale des $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$ augmente (τ_{Br} augmente), plus la conversion et par conséquent la vitesse de croissance des greffons diminuent. Par exemple, après 150 min de polymérisation 48 % de monomère ont été consommés en présence du macroamorceur $DexAc_{69}Br_{1,6}$, alors que seulement 22 % de monomère sont polymérisé en utilisant le $DexAc_{67}Br_{8}$, macroamorceur avec une densité de sites amorceurs plus élevée. Le ralentissement de la polymérisation dans ce cas est probablement dû à la présence de réactions de terminaisons irréversibles. En effet, il a été reporté dans le cas de la synthèse des polymères greffés à partir d'un macroamorceur multifonctionnel ou d'une surface fonctionnalisée que des réactions de terminaisons intramoléculaires pourraient exister dès les premiers instants de la polymérisation [16]. Les espèces radicalaires formées par activation des espèces dormantes se désactivent alors par couplage bimoléculaire lorsque la densité des sites d'amorçage est élevée. Ceci conduit à une désactivation rapide d'un certain nombre de centres actifs, d'où la réduction de la vitesse de polymérisation. Le schéma II-5 schématise cet effet. Néanmoins, l'importance de cet effet est relativement faible dans notre cas puisque la densité de sites amorceurs que nous avons visé dans la plupart des macroamorceurs est faible. Ainsi, en comparant la vitesse d'ATRP obtenue en présence de $DexAc_{67}Br_{8}$ (entrée 7) avec les autres polymérisations ($DexAc_{70}Br_{2,2}$ entrée 5 ou $DexAc_{70}Br_{2,5}$ entrée 6), on peut remarquer que la différence entre ces vitesses n'est pas importante et par conséquent que la proportion des réactions de terminaison intramoléculaires n'est pas considérable. Ceci permet de supposer que l'efficacité moyenne d'amorçage ne varie pas d'un macroamorceur à l'autre quel que soit le taux de site amorceur.

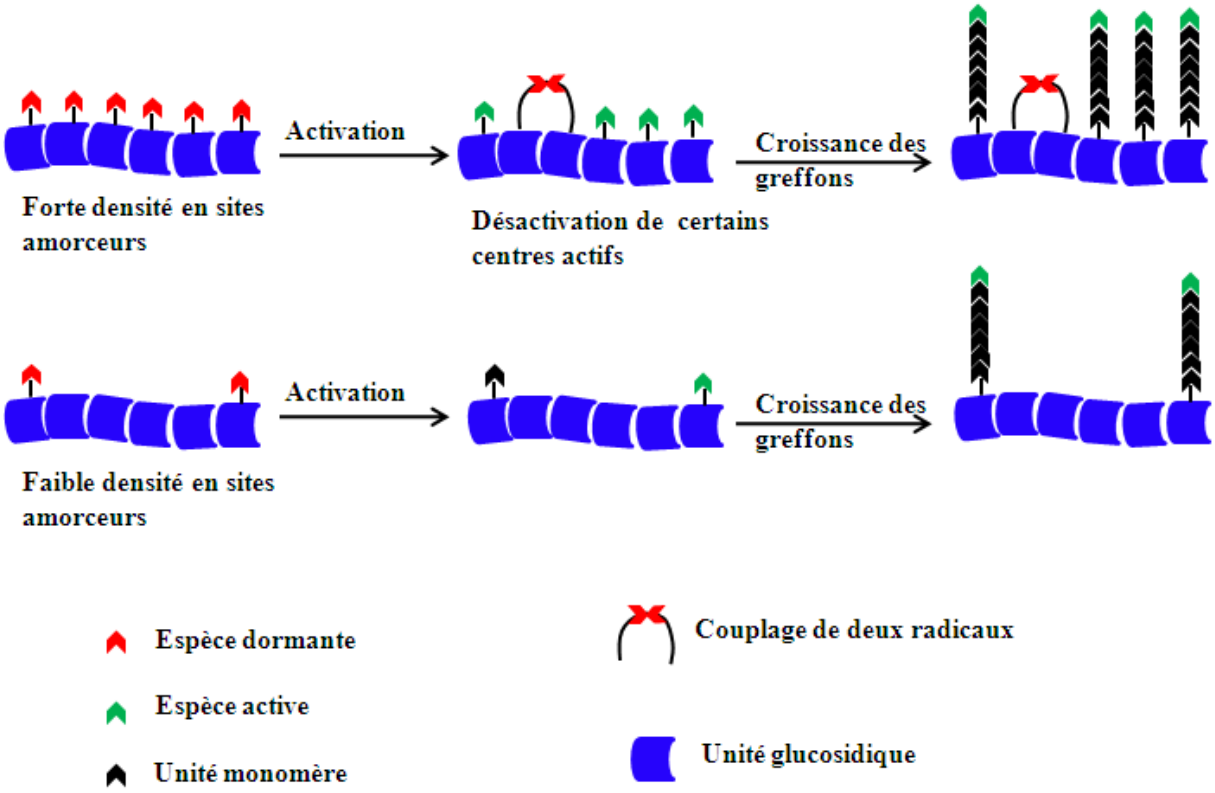


Schéma II-5 Impact de la densité en sites amorceurs lors de la synthèse de polymère greffé.

• Le tableau II-2 montre également une bonne corrélation entre les valeurs des fractions massiques théoriques des greffons dans le copolymère DexAc-g-PADEGChol déterminées en utilisant l'équation II-8 et les fractions massiques expérimentales (f_{exp}) déterminées en utilisant l'équation II-7. Ceci démontre une fois de plus de la bonne efficacité d'amorçage de l'ATRP de l'ADEGChol à partir des macroamorceurs, efficacité que l'on peut supposer comparable à celle obtenue précédemment dans le cas de l'amorceur modèle E*i*Br. Toutefois, nous avons tenté d'estimer cette efficacité par clivage des greffons, mais il a été impossible de réaliser cette opération malgré l'utilisation de conditions basiques très agressives.

Tableau II-3. ATRP de l'ADEGChol à partir de différents macroamorceurs $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Ac}$ (sauf l'entrée 8 et 9 : utilisation de l'EiBr) à 60 °C. Rapport molaire $[ADEGChol]_0/[Br]_0/[Cu^IBr]_0/[PMDETA]_0$ = 50/1/1/1/1 pour toutes les polymérisations, sauf pour l'entrée 2 ($[ADEGChol]_0/[Br]_0/[Cu^IBr]_0/[PMDETA]_0$ = 100/1/1/1). $[ADEGChol]_0$= 1,9 mol/L.

Entrée	Solvant	$DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$	Đ[a]	$DexAc_{\tau Ac}$-g^N-PADEGChol[f]	Temps (min)	X (%) [b]	N [c]	f_{th}	f_{exp}	$\overline{M_n}$ [d] (kg/mol)	Đ[e]
1	Toluène	$DexAc_{64}Br_{2,5}$	1,40	$DexAc_{64}$-$g^{7,5}$-PADEGChol^{75}	1380	37	7,5	0,75	0,92	121	1,60
2		$DexAc_{70}Br_{0,5}$	1,16	$DexAc_{70}$-$g^{1,5}$-PADEGChol^{56}	150	42	1,5	0,56	0,82	56	1,27
3		$DexAc_{71}Br_{1}$	1,29	$DexAc_{71}$-g^{3}-PADEGChol^{52}	90	35	3,0	0,52	-	79	1,20
4	THF	$DexAc_{69}Br_{1,6}$	1,30	$DexAc_{69}$-g^{5}-PADEGChol^{71}	150	48	5,0	0,71	0,80	173	1,14
5		$DexAc_{70}Br_{2,2}$	1,16	$DexAc_{70}$-$g^{6,6}$-PADEGChol^{64}	150	26	6,6	0,64	0,71	103	1,14
6		$DexAc_{64}Br_{2,5}$	1,40	$DexAc_{64}$-$g^{7,5}$-PADEGChol^{69}	150	27	7,5	0,69	0,76	49	1,30
7		$DexAc_{67}Br_{8}$	1,18	$DexAc_{67}$-g^{24}-PADEGChol^{85}	150	22	24	0,85	0,94	230	1,20
8	THF	E*i*Br	-	-	120	45	-	-	-	12,5	1,20
9	Toluène	E*i*Br	-	-	120	37	-	-	-	14,7	1,28

(a) Dispersité du macroamorceur utilisé, estimée par SEC-MALLS dans le THF.

(b) Taux de conversion de la polymérisation, estimé par RMN ^{1}H dans le $CDCl_3$.

(c) Nombre de greffons pour 100 unités glucosidiques (= $\tau_{Br} \times 3 \times 100$), estimé théoriquement en supposant avoir 100% d'efficacité.

(d) Masse molaire du DexAc-g-PADEGChol, estimée par SEC-MALLS dans le THF (dn/dc = 0,111).

(e) Dispersité du copolymère, estimée par SEC-MALLS dans le THF.

f_{th} et f_{exp} sont respectivement les fractions massiques théorique et expérimentale des greffons PADEGChol dans le copolymère $DexAc_{\tau Ac}$-g^N-PADEGChol[f], estimées respectivement par l'équation II-8 et l'équation II-7.

• Le tableau II-3 montre également qu'un bon contrôle de l'ATRP est observé dans le THF puisque les valeurs des dispersités sont comprises entre 1,1 et 1,3. Les masses molaires regroupées dans le tableau II-3 ont été estimées en utilisant une valeur de dn/dc égale à 0,111. Cette valeur correspond à celle des greffons PADEGChol, car la détermination de la valeur exacte du (dn/dc) pour les glycopolymères s'est avérée non reproductible. Cependant, les glycopolymères étant constitués à plus de 70% massique de PADEGChol, on peut estimer que l'erreur sur l'estimation des $\overline{M_n}$ et Đ ne peut pas être trop grande.

• Malgré l'utilisation d'un macroamorceur possédant un faible taux de brome ($DexAc_{70}Br_{0,5}$, entrée 2), on remarque que la vitesse de la croissance des greffons est plus faible (X = 42% après 150 min de polymérisation) par rapport aux autres expériences (entrée 3 par exemple où on peut estimer X=58% après 150 min). Dans ces conditions, le ralentissement de la vitesse de polymérisation provient du rapport $\frac{[ADEGChol]_0}{[Br]_0}$ = 100 employé, qui est deux fois plus élevé que dans les autres synthèses. Ceci conduit alors à une concentration plus faible en centre actifs dans le milieu réactionnel plus faible et donc à ralentir la vitesse de polymérisation. Ce phénomène a été signalé également lors de l'étude de l'homopolymérisation de l'ADEGChol et en accord avec la cinétique de l'ATRP [17–20] (équation II-9).

$$\boldsymbol{R_p = Cte \times [A]_t}$$ ***Equation II- 9***

Avec $Cte = k_p K_{ATRP} [M]_t \left(\frac{[Mt^n]_t}{[Mt^{n+1}]_t}\right)$.

En conclusion, plusieurs copolymères $DexAc_{\tau Ac}$-g^N-$PADEGChol^f$ ont été synthétisés par ATRP à partir de différents macroamorceurs $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$ via la méthode « grafting from ». Les conditions opératoires permettant le contrôle de l'ATRP de l'ADEGChol ont été appliquées à la synthèse de ces copolymères greffés. Nous avons montré que l'ATRP de l'ADEGChol à partir des macroamorceurs possédant une faible densité en sites amorceurs s'effectue avec une vitesse similaire à celle de l'homopolymérisation. Des réactions secondaires de terminaisons intramoléculaires sont cependant observées lors de l'utilisation des macroamorceurs possédant une plus forte densité en site amorceurs. Le nombre de site amorceur sur le tronc dextrane a été varié afin d'élaborer des glycopolymères avec différentes architectures. Après hydrolyse des fonctions acétate (paragraphe suivant), nous tenterons d'étudier l'influence de leur architecture sur la morphologie de leur auto-organisation observée dans un milieu aqueux.

Dans le prochain paragraphe, nous nous intéresserons à la déprotection du tronc polysaccharide des copolymères $DexAc_{\tau Ac}$-g^N-$PADEGChol^f$. Dans un premier temps, les conditions opératoires de l'hydrolyse des fonctions acétate ont été optimisées à partir d'un macroamorceur $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$, puis appliquées sur les $DexAc_{\tau Ac}$-g^N-$PADEGChol^f$. La stabilité des différents composants du glycopolymère dans ces conditions a également été vérifiée.

II.2 HYDROLYSE DES FONCTIONS ACETATE DU DEXAC-G-PADEGCHOL (4EME ETAPE)

Les acétates sont des fonctions chimiques facilement clivables en milieu basique. La déprotection des DexAc-g-PMMA avait par exemple été effectuée dans le DMSO en présence d'une faible quantité d'une solution basique KOH/MeOH (1M) à température ambiante [3]. Dans notre cas, les copolymères $DexAc_{\tau Ac}$-g^N-$PADEGChol^f$ ont été désacétylés dans un mélange approprié THF/MeOH puisqu'ils ne sont pas solubles dans le DMSO.

II.2.1 Mises au point des conditions opératoires de la déprotection

Les conditions opératoires permettant l'hydrolyse des glycopolymères $DexAc_{\tau Ac}$-g^N-$PADEGChol^f$ ont tout d'abord été optimisées sur un macroamorceur $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$ en conditions basiques douces. Dans un premier temps, le $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$ a été solubilisé dans un mélange de THF/MeOH (Partie : techniques expérimentales), puis une quantité appropriée ($n_{KOH} = 0{,}09 \times n_{Acétate}$) d'une solution KOH/MeOH technique (1M) a été ajoutée dans le mélange. L'analyse RMN ^{1}H dans le DMSO-d_6 (figure II-8) du produit final, que nous nommerons HDexAcBr récupéré par précipitation par le MeOH montre l'hydrolyse totale des fonctions acétate mais aussi celle des liaisons ester reliant les sites amorceurs à la dorsale dextrane. En effet, la comparaison des spectres RMN ^{1}H du HDexAcBr (produit après hydrolyse) et celui du DexAcBr (macroamorceur avant hydrolyse) montre la disparition quasi-totale des pics (A_1 et A_2) caractéristiques des protons méthyle des fonctions acétate et des groupements amorceurs (2 ppm). Sur la même figure, et en comparant DexAcBr et HDexAcBr, on observe un changement de la forme des massifs M_1 (3 ppm – 4 ppm) et M_2 (4,5 ppm – 5,5 ppm). Le proton anomère du dextrane ($H_{anomère}$) est facilement visible (4,7 ppm), ainsi que les protons hydroxyle (OH^3, OH^4, OH^2) et glucosidiques (H^2, H^3, H^4, H^5 et H^6). A l'heure actuelle, nous n'avons pas de données pour expliquer la raison pour laquelle

les pics des protons OH^3 et OH^4 ne correspondent pas à ceux du dextrane natif, si ce n'est que ces OH sont partiellement déprotégées.

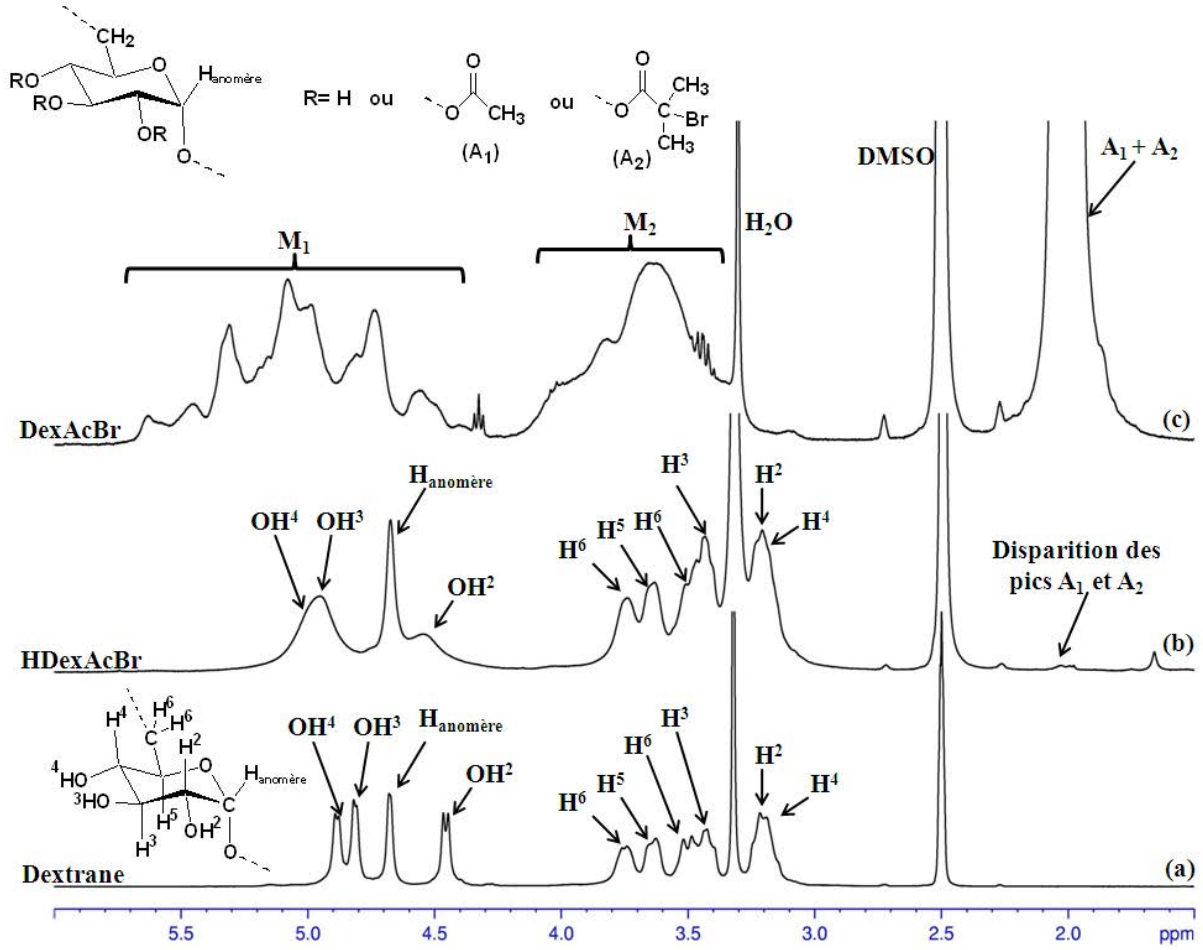


Figure II-8. Spectres RMN ^{1}H dans DMSO-d_6 des (a) dextrane T40 natif, (b) HDexAc$_{71}$Br$_1$: macroamorceur DexAc$_{71}$Br$_1$ ayant subit les conditions basiques douces d'hydrolyse et (c) macroamorceur DexAc$_{71}$Br$_1$.

Malgré l'utilisation d'un rapport molaire faible de la base (KOH) par rapport aux fonctions acétate [n(KOH) = 0,09 n(Acétate)], ce rapport est suffisant pour déprotéger totalement les fonctions hydroxyle du macroamorceur DexAcBr et cliver à la fois les groupes acétate et amorceur. Ceci n'est possible que grâce aux traces d'eau présentes dans le MeOH de qualité technique utilisé. En effet, selon le mécanisme présenté dans le schéma II-6, après la réaction des ions OH^- avec les fonctions acétate du DexAc, un dextrane chargé négativement ($DexO^-$) est obtenu. Les alcoolates arrachent alors un proton d'une molécule d'eau présente dans le milieu réactionnel ce qui permet de fournir à nouveau un hydroxyle OH^- pouvant hydrolyser à son tour une autre fonction acétate. Cet effet des traces d'eau a été vérifié en réalisant un test d'hydrolyse d'un DexAc dans du MeOH parfaitement anhydre.

Celui-ci s'est révélé infructueux, puisque dans ces conditions opératoires, seulement 4% des fonctions acétate ont alors été déprotégées contre 99% en présence du MeOH technique.

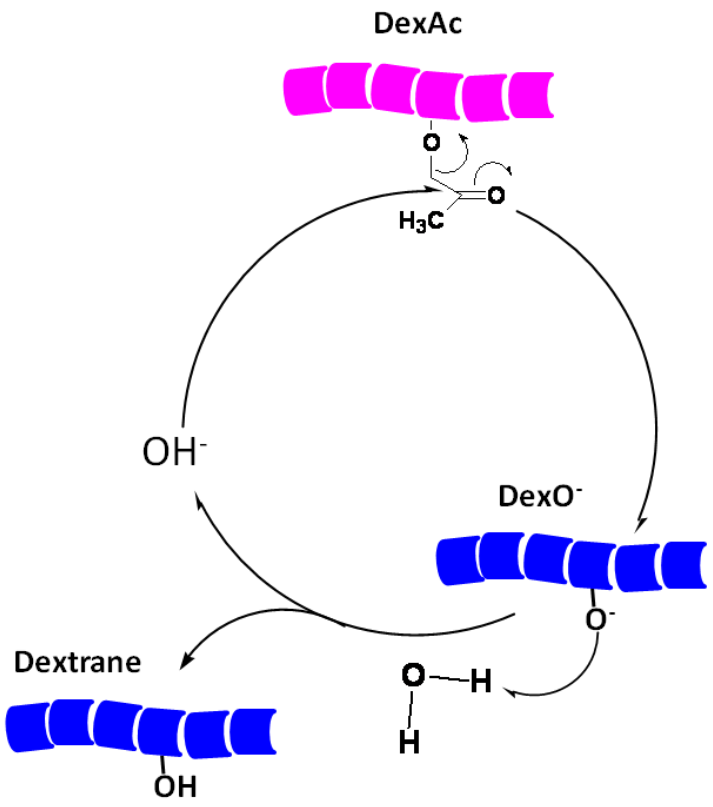


Schéma II-6. Mécanisme d'hydrolyse d'un DexAc dans un milieu non anhydre.

II.2.2 Déprotection des glycopolymères DexAc-g-PADEGChol

Les conditions opératoires précédemment optimisées sur le $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Br}$ ont été employées pour déprotéger les glycopolymères $DexAc_{\tau Ac}$-g^N-$PADEGChol^f$. Le produit obtenu après hydrolyse sera appelé Dex-g^N-$PADEGChol^F$, où N et F sont respectivement le nombre pour 100 unités glucosidiques et la fraction massique théorique des greffons PADEGChol dans le copolymère Dex-g^N-$PADEGChol^F$. Ces composés sont purifiés par précipitation par le MeOH, solvant qui précipite le dextrane, le PADEGChol et le glycopolymère. Comme il a été mentionné auparavant, il n'existe malheureusement pas de solvant permettant de solubiliser à la fois le dextrane et les greffons PADEGChol ce qui complique la caractérisation des produits. Pour vérifier que nos produits purifiés contiennent bien du dextrane et du PADEGChol, nous avons utilisé un solvant sélectif de chaque partie afin de les caractériser séparément par RMN ^1H. Le $CDCl_3$ a été utilisé pour vérifier la présence de greffons PADEGChol (figure II-9), alors que la dorsale dextrane est visible dans le DMSO-d_6 (figure II-10). Par comparaison avec le spectre RMN ^1H du $DexAc_{\tau Ac}$-g^N-

PADEGChol^{f} réalisé dans le $CDCl_3$ (figure II-9a), celui du copolymère Dex-g^{N}-PADEGChol^{F} (figure II-9b) met clairement en évidence les pics des protons caractéristiques des greffons PADEGChol (H^a, H^b, H^h, H^{h1}, H^{h2}) qui résonnent respectivement à 3,2 ppm, 5,3 ppm, 3,6 ppm, 3,7 ppm et 4,2 ppm. Les pics caractéristiques des protons aliphatiques des groupes cholestériques sont parfaitement visibles entre 0,5 et 1,7 ppm. Alors que la dorsale protégée était visible dans le spectre RMN ^{1}H du DexAc$_{\tau Ac}$-g^{N}-PADEGChol^{f}, le tronc dextrane, insoluble dans le chloroforme, ne l'est pas dans le spectre du Dex-g^{N}-PADEGChol^{F}. On s'aperçoit aussi que les pics caractéristiques aux protons méthyle des acétates (A_1, centré à 2,1 ppm) ne sont plus visibles après hydrolyse.

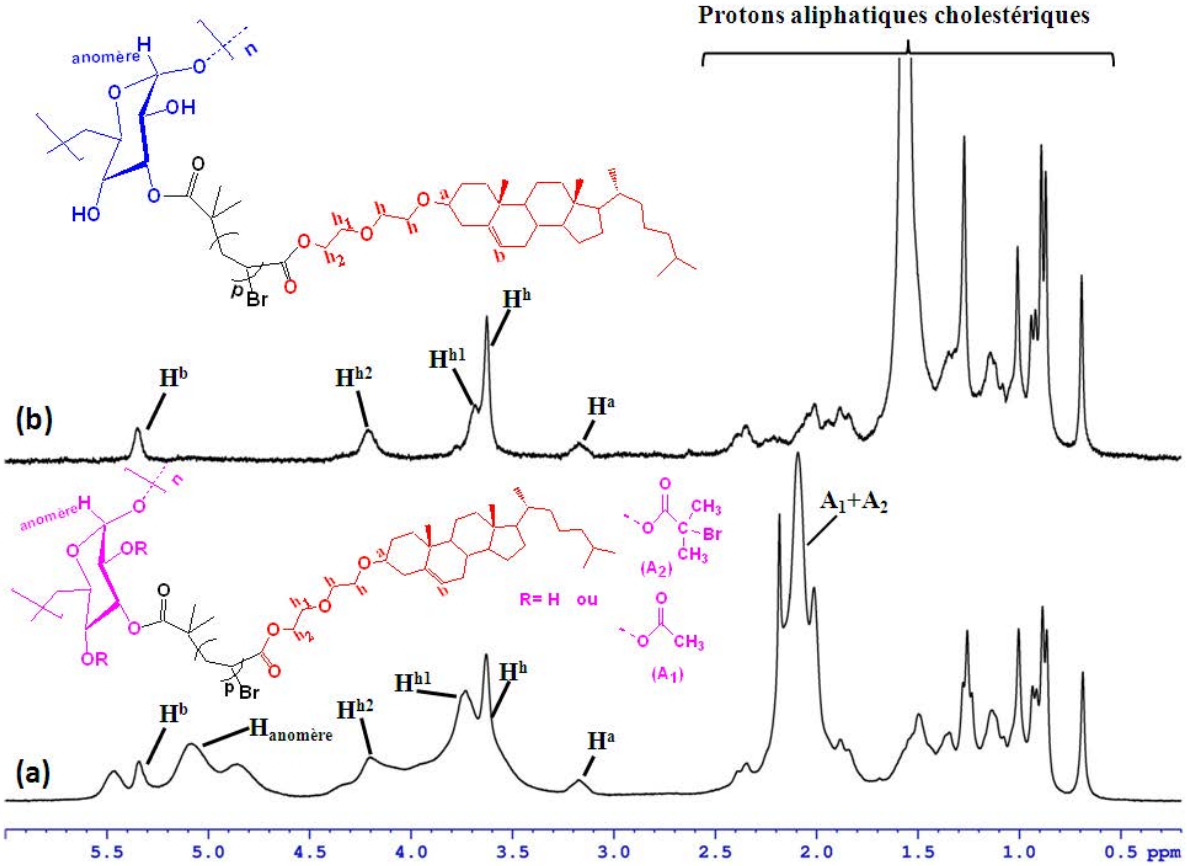


Figure II-9. Spectres RMN ^{1}H dans $CDCl_3$ des (a) DexAc$_{71}$-g^3-PADEGChol^{52} et (b) Dex-g^3-PADEGChol^{63}.

Le spectre RMN ^{1}H dans le DMSO-d_6 est difficile à réaliser bien que ce soit un bon solvant pour le dextrane. En effet, le Dex-g-PADEGChol y est difficilement soluble à température ambiante. Cette insolubilité provient d'une part de la préparation même du Dex-g-PADEGChol à partir de son homologue acétylé. Lors de l'hydrolyse de ce dernier dans le mélange THF/MeOH (3v/1v), les chaînes du DexAc-g-PADEGChol sont initialement parfaitement solubilisées. Au fur et à mesure de l'hydrolyse, le tronc dextrane retrouve son hydrophilie et devient insoluble dans ce milieu alors que les greffons le sont parfaitement.

Après évaporation des solvants, le Dex-g-PADEGChol est donc récupéré sous forme d'agrégats à surface PADEGChol et cœur dextrane, agrégats se renforçant lors du séchage (schéma II-7a). Le DMSO ne solubilisant pas le PADEGChol, la solubilisation de ces agrégats à température ambiante est très difficile et est une autre cause de la solubilisation difficile du Dex-g-PADEGChol dans le DMSO-d_6. Pour favoriser la solubilité du copolymère Dex-g-PADEGChol dans le DMSO, la solution est chauffée à 100 °C pendant une nuit afin de permettre une certaine mobilité des chaînes. En effet, comme nous le montrerons dans le prochain chapitre, à cette température le glycopolymère sera dans un état cristal-liquide. On peut alors proposer une présentation de l'auto-organisation des glycopolymères à cette température sur le schéma II-7b. Nous parlerons de la présence de ces auto-organisations dans le chapitre-III.

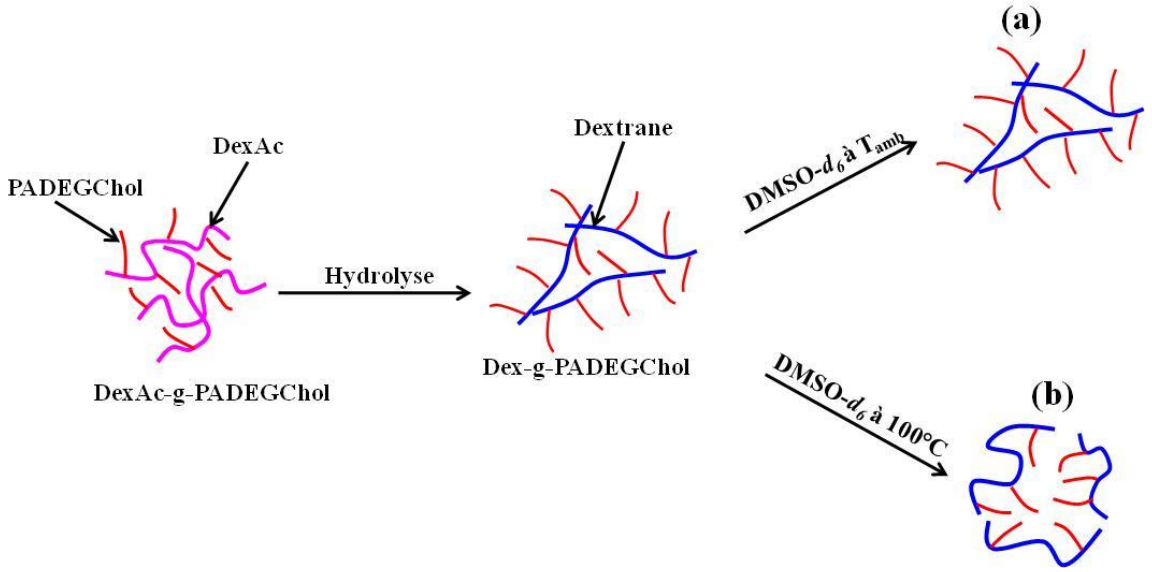


Schéma II-7 Influence des conditions opératoires sur la morphologie des agrégats de Dex-g-PADEGChol formés après hydrolyse.

Le spectre RMN ^{1}H du copolymère Dex-g-PADEGChol (solubilisé à 100°C pendant une nuit) dans le DMSO-d_6 (figure II-10b) confirme la disparition du pic des protons des fonctions acétate (A_1) situé à 2 ppm. On remarque également que les massifs M_1 et M_2 situés respectivement à 4,5 - 5,5 ppm et à 3,5 – 4,2 ppm (figure II-10a), correspondant aux protons anomère ($H_{anomère}$) et glucosidiques déplacés ou non déplacés (H^2, H^3, H^4, H^5 et H^6), changent de forme et prennent une forme similaire à celle observée dans le cas du dextrane natif (figure II-10c). Ces observations témoignent de l'hydrolyse des acétates et de l'obtention du copolymère déprotégé Dex-g-PADEGChol.

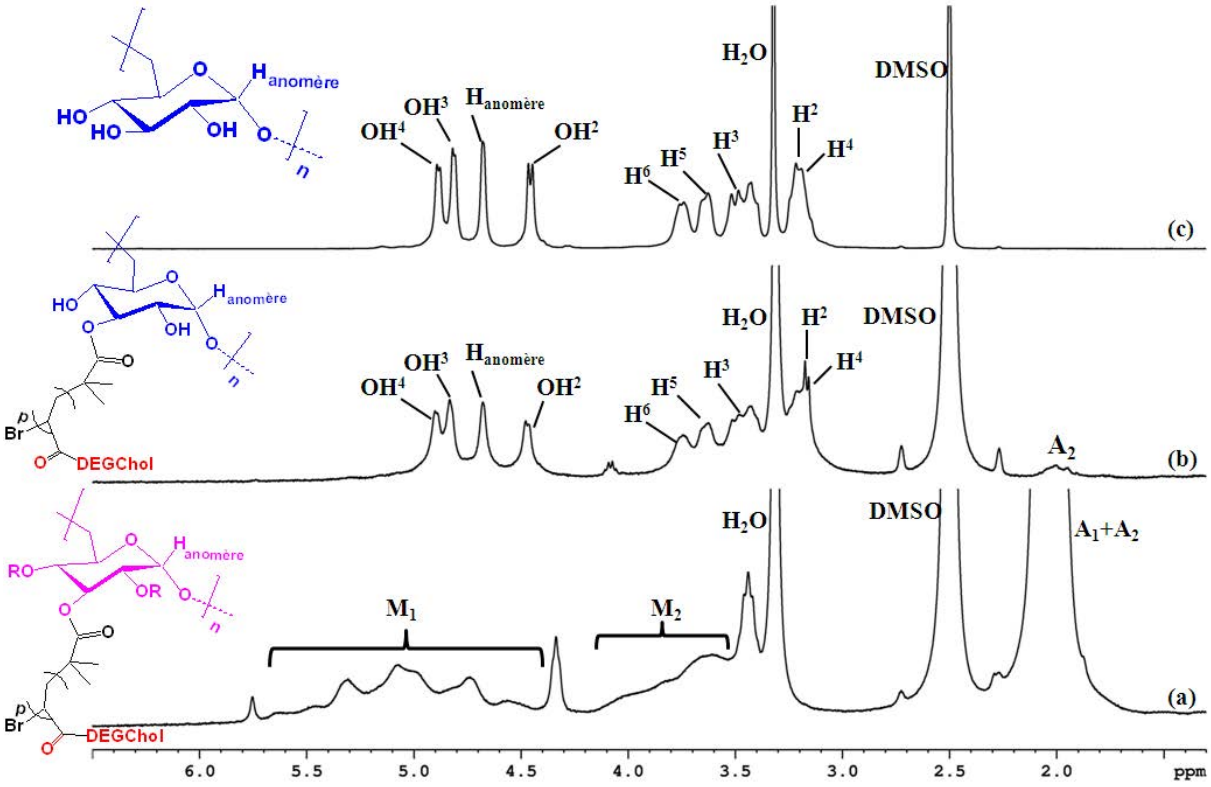


Figure II-10. Spectres RMN ^{1}H dans DMSO-d_6 des (a) DexAc$_{71}$-g^3-PADEGChol^{52}, (b) Dex-g^3-PADEGChol^{63} et (c) dextrane T$_{40}$ natif.

La fraction massique théorique (F_{th}) des greffons PADEGChol dans le copolymère Dex-g-PADEGChol est calculée en utilisant l'équation II-10, Si on suppose à ce stade qu'aucun greffon PADEGChol ne se clive du glycopolymère (et nous le démontrerons dans les pages suivantes), cette fraction peut être estimée à partir de celle (f_{th}) obtenue pour le glycopolymère protégé DexAc$_{\tau Ac}$-g^N-PADEGChol^f, obtenue à partir de l'équation II-8. $M_{DexAc\tau Ac}$ et $M_{Dextrane}$ sont respectivement les masses molaires de l'unité glucosidique du DexAc$_{\tau Ac}$ et du dextrane natif. Le tableau II-3 représente les valeurs obtenues dans le cas de quelques glycopolymères déprotégés. Nous tenterons, dans le prochain chapitre, d'étudier l'influence de cette proportion des greffons sur la morphologie de l'auto-organisation adoptée par les copolymères Dex-g^N-PADEGChol^F dans l'eau. Malheureusement, les fractions massiques expérimentales n'ont pas pu être estimées par RMN car aucun solvant ne permet de solubiliser le dextrane et le PADEGChol. De même, l'analyse SEC-MALLS des glycopolymères Dex-g-PADEGChol n'a pas pu être réalisée, à cause de leur insolubilité dans le THF. Mais, comme nous le verrons dans le chapitre suivant, nous avons des preuves que les greffons PADEGChol ne se sont pas décrochés de la dorsale lors de cette étape d'hydrolyse.

$$F_{th} = 1\Big/\left[1 + \left(\frac{1}{f_{th,}} - 1\right) \times \frac{M_{Dextrane}}{M_{DexAc_{\tau ac}}}\right]$$ *Equation II- 10*

Tableau II-4. Fractions massiques théoriques des glycopolymères Dex-g^N-PADEGChol^F obtenus par hydrolyse des DexAc$_{\tau Ac}$-g^N-PADEGChol^f dans des conditions basiques douces.

Entrée	DexAc$_{\tau Ac}$-g^N-PADEGChol^f			Dex-g^N-PADEGChol^F	
	Nom	$M_{DexAc\tau Ac}$ (a)	f_{th} (b)	Nom	F_{th} (b)
1	DexAc$_{64}$-g^{7,5}-PADEGChol^{75}	242,6	0,75	Dex-g^{7,5}-PADEGChol^{82}	0,82
2	DexAc$_{70}$-g^{1,5}-PADEGChol^{56}	250,2	0,56	Dex-g^{1,5}-PADEGChol^{66}	0,66
3	DexAc$_{71}$-g^{3}-PADEGChol^{52}	251,6	0,52	Dex-g^{3}-PADEGChol^{63}	0,63
4	DexAc$_{69}$-g^{5}-PADEGChol^{71}	249,0	0,71	Dex-g^{5}-PADEGChol^{79}	0,79
5	DexAc$_{70}$-g^{6,6}-PADEGChol^{64}	250,2	0,64	Dex-g^{6,6}-PADEGChol^{73}	0,73
6	DexAc$_{64}$-g^{7,5}-PADEGChol^{69}	242,6	0,69	Dex-g^{7,5}-PADEGChol^{77}	0,77
7	DexAc$_{67}$-g^{24}-PADEGChol^{85}	246,4	0,85	Dex-g^{24}-PADEGChol^{90}	0,90

(a) $M_{DexAc\tau Ac}$: masses molaires de l'unité glucosidique protégée à un taux de τ_{Ac}.

(b) f_{th} et F_{th} sont respectivement les fractions massiques théoriques de PADEGChol dans les glycopolymères protégés et Dex-g^N-PADEGChol^F, respectivement.

II.2.3 Stabilité du glycopolymère Dex-g-PADEGChol

L'action idéale des conditions basiques employées lors de la déprotection spécifique des fonctions hydroxyle du dextrane est d'obtenir le Dex-g^N-PADEGChol^F amphiphile (figure II-11a). Mais, dans ces conditions, il nous faut vérifier que la dorsale dextrane et/ou les greffons PADEGChol n'aient pas subi une éventuelle hydrolyse par dégradation. En effet, comme le montre la figure II-11b, le dextrane peut subir une hydrolyse conduisant à la coupure de la dorsale dextrane. Les greffons PADEGChol, quant à eux, peuvent soit être décrochés du tronc dextrane (figure II-11c) car ils y sont reliés par de simples fonctions ester, soit subir une hydrolyse latérale libérant ainsi des unités DEGChol (figure II-11d) ou cholestérol (figure II-11e). La rupture latérale des unités monomères ADEGChol au niveau des fonctions éthers, libérant des simples molécules de cholestérol (figure II-11f) est peu probable car la fonction éther est stable dans ces conditions basiques. Dans le paragraphe suivant, nous allons explorer les diverses probabilités de dégradation de la figure II.11 et vérifier la stabilité du dextrane et des greffons dans les conditions basiques de déprotection.

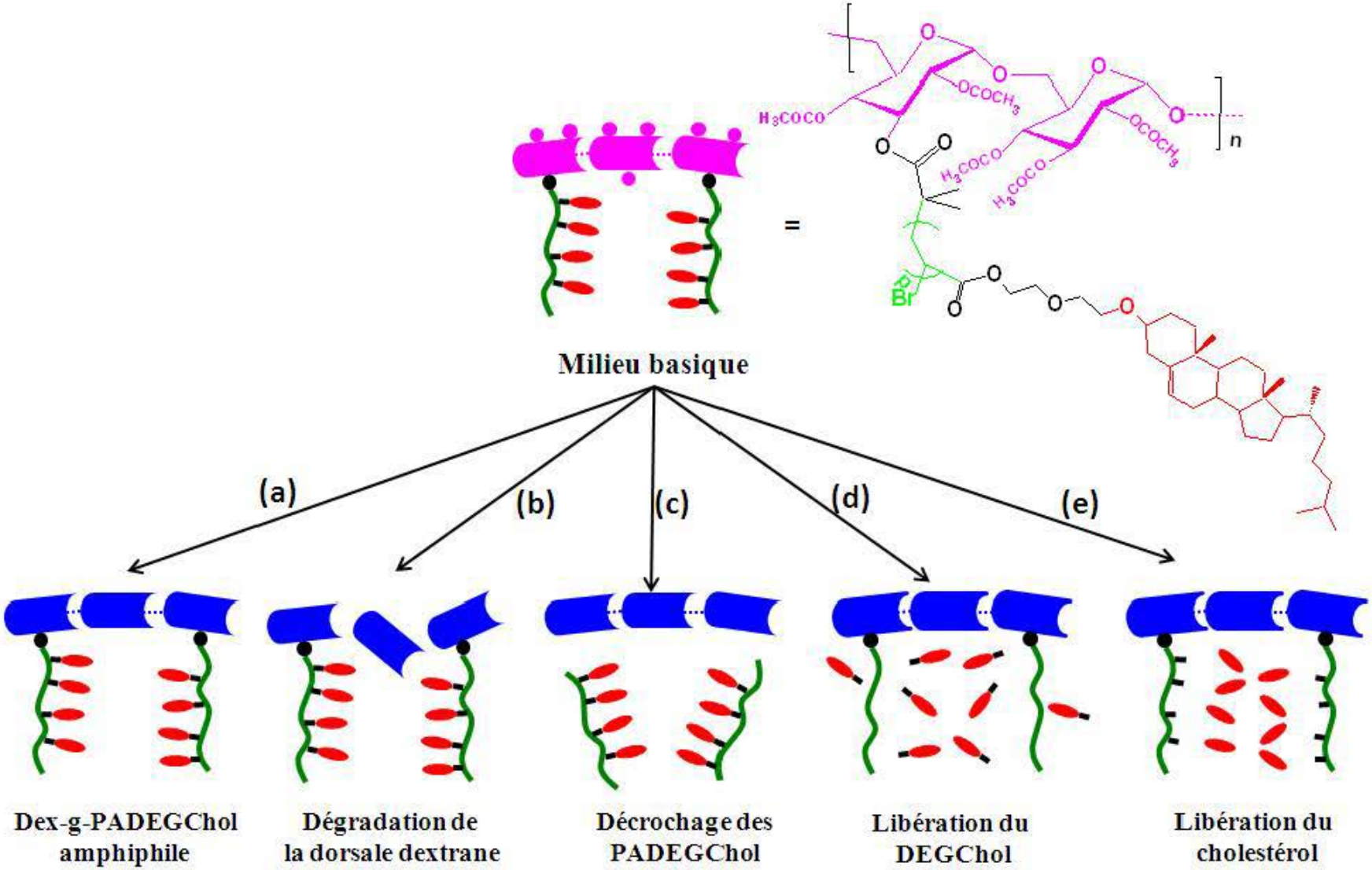


Figure II-11. Les différentes actions possibles du milieu basique sur le glycopolymère DexAc-g-PADEGChol.

II.2.3.1 Stabilité de la dorsale dextrane

La figure II-12 représente une superposition des chromatogrammes SEC-MALLS effectués dans l'éluant eau/$NaNO_3$ (1M) d'un dextrane natif T_{40}, d'un dextrane (HDextrane) et des dérivés de dextrane DexAc et DexAcBr (HDexAcBr) ayant subit les conditions basiques de déprotection. Cette figure montre que le dextrane conserve le même volume d'élution avant et après le test de déprotection (4ème étape). L'absence de pics aux volumes d'élution élevés dans les chromatogrammes de HDextrane indique l'absence de la coupure aléatoire de la chaîne dextrane dans les conditions basiques (figure II-11b). Le tableau II-4 résume les masses molaires et dispersités estimées pour chaque composé. Les masses molaires des Hdextrane, HDexAc et HDexAcBr peuvent être comparées à celle du dextrane natif. De même on observe la conservation des faibles dispersités. Ceci confirme que les conditions basiques employées n'entrainent aucune dégradation de la dorsale dextrane. Le chromatogramme de HDexAc permet de vérifier à nouveau la stabilité du dextrane dans nos nouvelles conditions d'acétylation, c'est-à-dire Et_3N à la place de la pyridine. Le léger décalage en volume d'élution du HDexAcBr par rapport à celui du dextrane natif a déjà été observé [3] et indique une légère dégradation de la chaîne dextrane lors de l'introduction des groupes amorceurs d'ATRP. En effet, nous avons montré d'une part que l'acétylation (1ère étape) menée dans nos conditions opératoires n'entrainait pas une coupure significative de la dorsale dextrane (paragraphe I.1.4). D'autre part, aux cours des travaux réalisés au sein de notre laboratoire, une légère dégradation de la dorsale dextrane avait été observée lors de l'introduction des groupements amorceurs dont l'importance varie selon la proportion du 2-bromoisobutanoyle utilisé pour réaliser la modification [3]. Dans notre cas, dans la gamme de taux d'amorceur visé, la dorsale dextrane n'est quasiment pas dégradée comme le montre la figure II-12 et les $\overline{Mn}$ restent supérieures à 31 000 g/mol avec une dispersité comparable à celle du dextrane natif.

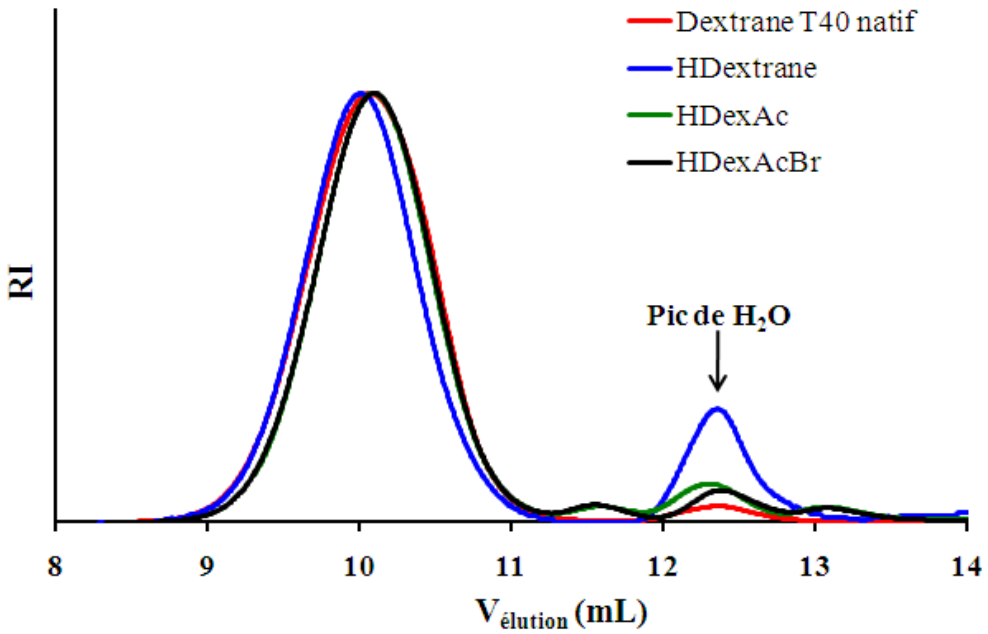


Figure II-12. Chromatogrammes SEC-MALLS (eau/$NaNO_3$) d'un dextrane T_{40} natif, d'un dextrane (HDextrane) et d'un macroamorceur DexAcBr (HDexAcBr) ayant subit les conditions basiques de déprotection.

Tableau II-5. Masses molaires et dispersités du dextrane natif, HDextrane et HDexAcBr, estimés par SEC-MALLS dans l'eau/$NaNO_3$ (1M) (dn/dc = 0,146).

Code	$\overline{Mn}$ (g/mol)	Đ
Dextrane T40 natif	34 800	1,14
HDextrane	35 000	1,10
HDexAc	31 400	1,14
HDexAcBr	32 000	1,14

II.2.3.2 Stabilité des greffons PADEGChol

La stabilité des greffons dans les conditions de l'hydrolyse a été vérifiée en faisant subir ces conditions à un homopolymère PADEGChol de $\overline{Mn}$ = 25 500 g/mol. L'analyse SEC-MALLS (figure II-13) dans le THF du produit obtenu montre que ce polymère conserve le même volume d'élution avant (PADEGChol) et après (HPADEGChol) test d'hydrolyse. Le spectre RMN ^{1}H du HPADEGChol dans le $CDCl_3$ (figure II-14) est parfaitement identique à celui du composé avant le test d'hydrolyse. Le spectre du DEGChol (intermédiaire de synthèse du monomère) a été également comparé à celui du HPADEGChol dans cette figure II-14. Le spectre RMN ^{1}H du HPADEGChol est différent de celui du DEGChol, notamment par la présence du pic (h_2) et du massif (h). Ceci démontre également que les PADEGChol ne subissent pas de rupture latérale au niveau de la fonction ester (figure II-11d), ce qui est

conforme avec nos conclusions sur la stabilité du monomère dans ces conditions faiblement basiques (partie II, chapitre I, paragraphe I.4).

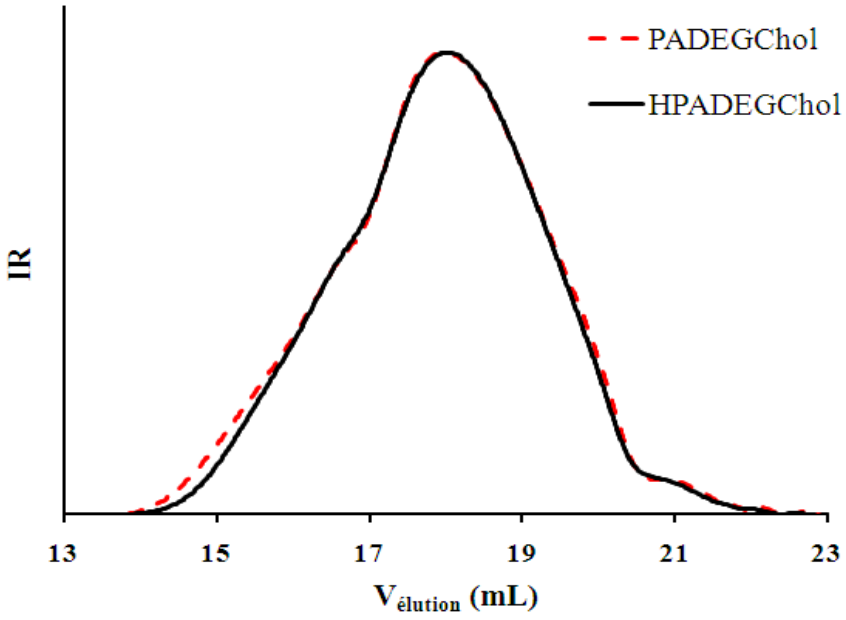


Figure II-13. Chromatogrammes SEC-MALLS dans le THF d'un homopolymère (avant PADEGChol) et après (après HPADEGChol).

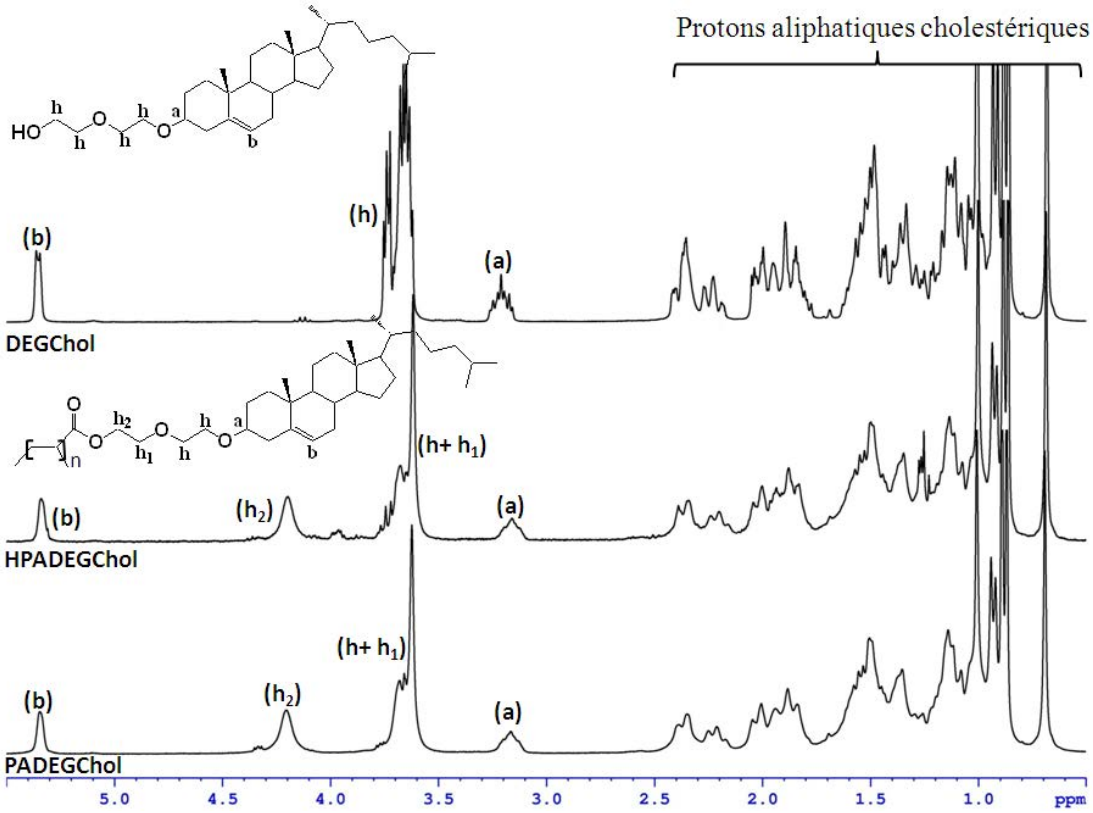


Figure II-14. Spectres RMN ^1H dans le $CDCl_3$ d'un PADEGChol avant et après (HPADEGChol) le test d'hydrolyse et d'un DEGChol.

La possibilité d'un éventuel décrochage des greffons PADEGChol de la dorsale dextrane (figure II-11c) a été également vérifiée en dispersant le Dex-g-PADEGChol obtenu après hydrolyse puis précipitation par MeOH dans le THF, qui est un solvant sélectif des greffons. On rappelle que le protocole de précipitation des Dex-g-PADEGChol permet de conserver à la fois le dextrane et les greffons éventuellement décrochés de la dorsale. L'analyse SEC-MALLS du filtrat THF a révélé que le chromatogramme obtenu ne contient aucun produit ce qui indique qu'aucun greffon PADEGChol ne s'est décroché de la dorsale dextrane dans les conditions basiques employées. De plus, et comme nous allons le montrer dans le prochain chapitre, les glycopolymères Dex-g-PADEGChol présentent un caractère amphiphile, ce qui permet de témoigner de la présence d'une partie hydrophile (dextrane) associée à une autre partie hydrophobe (greffons) dans ce composé.

L'hydrolyse spécifique des fonctions acétate, et non des liens ester entre le dextrane et les greffons PADEGChol, peut être justifiée par les conditions basiques douces employées et le temps court de réaction (4 heures). Aussi, les fonctions acétate sont rapidement hydrolysables car facilement accessibles par OH^-, alors que l'hydrophobie et l'encombrement stérique générées par les greffons PADEGChol protègent les liens ester en réduisant l'accessibilité de OH^- comme cela est schématisé dans la figure II-15. Ceci avait d'ailleurs déjà été observé et confirmé dans le cas des Dex-g-PMMA synthétisé par une stratégie similaire à partir des macroamorceur DexAcBr.

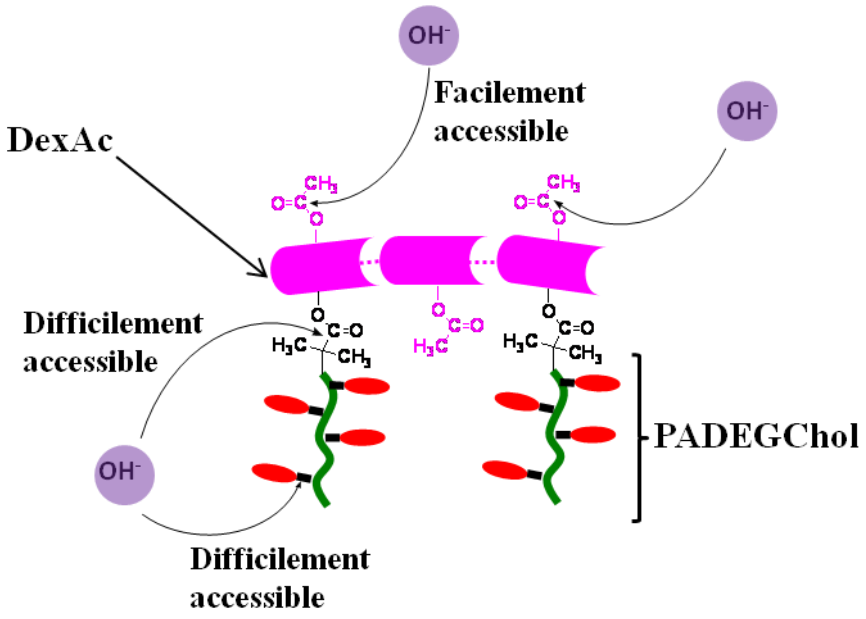


Figure II-15. Illustration de la stabilité des trois fonctions ester présentes dans un glycopolymère DexAc-PADEGChol.

III.CONCLUSIONS DU CHAPITRE

Plusieurs glycopolymères Dex-g-PADEGChol d'architectures maîtrisées ont été synthétisés grâce à la méthode « grafting from » qui nécessite quatre étapes de synthèse :

- La première étape consiste à protéger les fonctions hydroxyle du dextrane par estérification à l'aide de l'anhydride acétique, ce qui permet de rendre le dextrane (polysaccharide hydrophile) soluble dans les solvants organiques. Nous avons montré lors de l'étude de cette étape que l'utilisation de la triéthylamine comme base limite la dégradation du dextrane par rapport à l'emploi de la pyridine. La modification du dextrane a été confirmée par RMN ^{1}H et par SEC-MALLS.

- Les groupements amorceurs ont été fixés, dans la deuxième étape, par estérification des fonctions hydroxyle résiduelles du DexAc dans un milieu homogène, en utilisant un α-halogénoester bifonctionnel (2-bromoisobutanoyle). Le taux de brome présent dans les différents DexAcBr obtenus a été estimé par RMN ^{1}H.

- Lors de la troisième étape, la croissance des greffons PADEGChol a été effectuée par ATRP à partir de différents macroamorceurs DexAcBr, en utilisant les conditions d'ATRP optimisées lors de l'homopolymérisation de l'ADEGChol. L'efficacité d'amorçage à partir des macroamorceurs a été estimée équivalente à celle déterminée précédemment en utilisant l'amorceur modèle E*i*Br. Ceci a permis de préparer plusieurs glycopolymères protégés DexAc-g^{N}-PADEGChol^{f} possédant différents paramètres macromoléculaires (nombre et longueur des greffons). Leur obtention a été confirmée par RMN ^{1}H et par SEC-MALLS. La fraction massique expérimentale des greffons hydrophobes dans ces composés a été estimée par RMN ^{1}H et est en accord avec la fraction massique théorique.

- La quatrième étape consiste à hydrolyser les fonctions acétate des copolymères DexAc-g-PADEGChol dans des conditions basiques douces afin d'obtenir des glycopolymères amphiphiles Dex-g-PADEGChol. La déprotection a été vérifiée par RMN ^{1}H en utilisant des solvants sélectifs pour chaque partie du glycopolymère. La stabilité de la dorsale dextrane et des greffons PADEGChol a été confirmée. Nous avons montré par ailleurs que les conditions utilisées permettent une hydrolyse spécifique des fonctions acétate, sans entraîner un décrochage des greffons PADEGChol.

Le prochain chapitre fera l'objet d'une étude préliminaire des propriétés physico-chimiques de quelques glycopolymères Dex-g-PADEGChol synthétisés et de leur auto-organisation en phase aqueuse.

REFERENCES

(1) Heinze, T.; Liebert, T.; Heublein, B.; Hornig, S. Functional polymers based on dextran. In Polysaccharides II; *Klemm, D., Ed.; Springer-Verlag Berlin* **2006**, 5, 199–291.

(2) Nouvel, C.; Ydens, I.; Degée, P.; Dubois, P.; Dellacherie, E.; Six, J.-L. Partial or total silylation of dextran with hexamethyldisilazane. *Polymer* **2002**, 43, 1735–1743.

(3) Dupayage, L.; Save, M.; Dellacherie, E.; Nouvel, C.; Six, J.-L. PMMA-grafted dextran glycopolymers by atom transfer radical polymerization. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2008**, 46, 7606–7620.

(4) Vlček, P.; Janata, M.; Látalová, P.; Dybal, J.; Špírková, M.; Toman, L. Bottlebrush-shaped copolymers with cellulose diacetate backbone by a combination of ring opening polymerization and ATRP. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2008**, 46, 564–573.

(5) Vlček, P.; Janata, M.; Látalová, P.; Kríž, J.; Čadová, E.; Toman, L. Controlled grafting of cellulose diacetate. *Polymer* **2006**, 47, 2587–2595.

(6) El Tahlawy, K.; Hudson, S. M. Synthesis of a well-defined chitosan graft poly(methoxy polyethyleneglycol methacrylate) by atom transfer radical polymerization. *Journal of Applied Polymer Science* **2003**, 89, 901–912.

(7) Nouvel, C.; Dubois, P.; Dellacherie, E.; Six, J.-L. Silylation Reaction of Dextran: Effect of Experimental Conditions on Silylation Yield, Regioselectivity, and Chemical Stability of Silylated Dextrans. *Biomacromolecules* **2003**, 4, 1443–1450.

(8) Matyjaszewski, K.; Xia, J. H. Atom transfer radical polymerization. *Chemical Reviews* **2001**, 101, 2921–2990.

(9) Goto, A.; Fukuda, T. Kinetics of living radical polymerization. *Progress in Polymer Science* **2004**, 29, 329–385.

(10) Bontempo, D.; Masci, G.; De Leonardis, P.; Mannina, L.; Capitani, D.; Crescenzi, V. Versatile grafting of polysaccharides in homogeneous mild conditions by using atom transfer radical polymerization. *Biomacromolecules* **2006**, 7, 2154–2161.

(11) Chen, C.; Liu, M.; Gao, C.; Lu, S.; Chen, J.; Yu, X.; Ding, E.; Yu, C.; Guo, J.; Cui, G. A convenient way to synthesize comb-shaped chitosan-graft-poly(N-isopropylacrylamide) copolymer. *Carbohydrate Polymers* **2013**, 92, 621–628.

(12) Munro, N. H.; Hanton, L. R.; Moratti, S. C.; Robinson, B. H. Preparation and graft copolymerisation of thiolated beta-chitin and chitosan derivatives. *Carbohydrate Polymers* **2009**, 78, 137–145.

(13) Nurmi, L.; Holappa, S.; Mikkonen, H.; Seppala, J. Controlled grafting of acetylated starch by atom transfer radical polymerization of MMA. *European Polymer Journal* **2007**, 43, 1372–1382.

(14) Xin, T.-T.; Yuan, T.; Xiao, S.; He, J. Synthesis of Cellulose-Graft-Poly(methyl Methacrylate) Via Homogeneous ATRP. *Bioresources* **2011**, 6, 2941–2953.

(15) Hiltunen, M.; Siirilä, J.; Maunu, S. L. Effect of catalyst systems and reaction conditions on the synthesis of cellulose-g-PDMAam copolymers by controlled radical polymerization. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2012**, 50, 3067–3076.

(16) Pyun, J.; Kowalewski, T.; Matyjaszewski, K. Synthesis of Polymer Brushes Using Atom Transfer Radical Polymerization. *Macromolecular Rapid Communications* **2003**, 24, 1043–1059.

(17) Greszta, D.; Mardare, D.; Matyjaszewski, K. "Living" radical polymerization. 1. Possibilities and limitations. *Macromolecules* **1994**, 27, 638–644.

(18) Wang, J.; Matyjaszewski, K. Controlled Living Radical Polymerization - Atom-Transfer Radical Polymerization in the Presence of Transition-Metal Complexes. *Journal of the American Chemical Society* **1995**, 117, 5614–5615.

(19) Patten, T. E.; Matyjaszewski, K. Atom Transfer Radical Polymerization and the Synthesis of Polymeric Materials. *Advanced Materials* **1998**, 10, 901–915.

(20) Matyjaszewski, K.; Patten, T. E.; Xia, J. Controlled/"Living" Radical Polymerization. Kinetics of the Homogeneous Atom Transfer Radical Polymerization of Styrene. *Journal of the American Chemical Society* **1997**, 119, 674–680.

CHAPITRE-III

PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ET AUTO-ASSEMBLAGE DES DEX-G-PADEGCHOL

I. PROPRIETES MESOMORPHES 164
I.1 CALORIMETRIE DIFFERENTIELLE A BALAYAGE (DSC) 164
I.2 MICROSCOPE OPTIQUE A LUMIERE POLARISEE (MOP) 169
I.3 DIFFRACTION DES RAYONS X (DRX) 171
II. PROPRIETES TENSIOACTIVES 176
II.1 GENERALITES 176
II.2 CARACTERE AMPHIPHILE DES DEX-G-PADEGCHOL 178
III. AUTO-ORGANISATION DES DEX-G-PADEGCHOL EN PHASE AQUEUSE 181
III.1 MISE EN SOLUTION 182
III.2 MORPHOLOGIE DES AUTO-ORGANISATIONS APRES DIALYSE 184
III.2.1 A partir d'une solution de glycopolymère dans le THF 184
III.2.2 A partir d'une solution de copolymère dans le DMSO 186
IV. CONCLUSION DU CHAPITRE 190
REFERENCES 192

CHAPITRE- III

Les propriétés physico-chimiques des glycopolymères Dex-g-PADEGChol précédemment élaborés via la technique « grafting from » constituent le cœur de ce chapitre. Dans un premier temps, les propriétés mésomorphes d'un copolymère Dex-g-PADEGChol seront étudiées par microscope optique à lumière polarisée (MOP), calorimétrie différentielle à balayage (DSC) et diffraction des rayons X (DRX) et comparées à celles du monomère ADEGChol et d'un homopolymère PADEGChol. Le caractère amphiphile des Dex-g-PADEGChol sera dans un second temps vérifié par tensiometrie interfaciale. Enfin une étude préliminaire sur la faculté d'auto-organisation en solution aqueuse d'une sélection de copolymères Dex-g-PADEGChol, présentant différentes fractions massiques (F) de la partie hydrophobe sera présentée. La morphologie et la taille des objets obtenus en solution aqueuse seront commentées en fonction de la composition chimique du copolymère et du mode d'obtention de ces objets. Elles seront déterminées respectivement par microscopie électronique à transmission (MET) et par diffusion dynamique de la lumière (DLS). Les caractéristiques des copolymères sélectionnés pour certaines de ces études sont rappelées dans le tableau III-1. Quatre copolymères de ce tableau possèdent des fractions F situées entre 0,63 et 0,90 et étaient déjà cités dans le tableau II-3 du chapitre II précédant. Les trois autres copolymères du tableau II-3 n'ont pas été sélectionnés pour ces études pour deux raisons : i) quantité trop faible de produit et ii) fractions intermédiaires et proches de celles des copolymères sélectionnés. Afin d'étendre la gamme des fractions massiques (F), un nouveau glycopolymère (F=0,5, tableau III-1) a été synthétisé.

Tableau III-1 Caractéristiques des glycopolymères utilisés pour l'étude des propriétés physico-chimiques.

Dex-g^{N}-PADEGChol^{F}	N [(a)]	F [(b)]	$\overline{M_n}$ [(c)] (g/mol)
Dex-g^{1,5}-PADEGChol^{50}	1,5	0,50	11 000
Dex-g^{3}-PADEGChol^{63}	3,0	0,63	8 900
Dex-g^{5}-PADEGChol^{79}	5,0	0,63	12 600
Dex-g^{6,6}-PADEGChol^{73}	6,6	0,73	6 800
Dex-g^{24}-PADEGChol^{90}	24	0,90	5 800

(a) Nombre de greffons par 100 unités glucopyranose (chapitre-II, paragraphe II.1.3).

(b) Fraction massique des greffons PADEGChol dans le copolymère Dex-g-PADEGChol, précédemment déterminée en utilisant l'équation II-9 (chapitre II, paragraphe II.2.2).

(c) Masse molaire théorique des greffons ($\frac{[ADEGChol]_0}{[Br]_0} \times x \times M_0$) avec x est la conversion, M_0 est la masse molaire de l'unité monomère ADEGChol (524 g/mol).

I.PROPRIETES MESOMORPHES

L'objectif de cette étude était tout d'abord de s'assurer que l'ADEGChol et l'homopolymère PADEGChol présentaient un comportement cristal-liquide. Puis, il s'agissait de vérifier que l'association des chaînes PADEGChol au dextrane pour former les copolymères greffés ne perturbait pas ces propriétés. Enfin, si tel était le cas, de déterminer l'ordre cristal-liquide dont étaient pourvu les Dex-g-PADEGChol. Pour cela, trois techniques de caractérisation ont été utilisées sur le monomère, l'homopolymère (greffons) et le copolymère: calorimétrie différentielle à balayage (DSC), microscope optique à lumière polarisée (MOP) et diffraction des rayons X (DRX).

I.1 CALORIMETRIE DIFFERENTIELLE A BALAYAGE (DSC)

Dans le cas des substances mésogènes thermotropiques, cette technique permet de définir la zone dans laquelle le matériau présente un comportement cristal-liquide et de déterminer les températures de transitions de phases du mésogène, telles que le passage d'un état solide à une mésophase cristal-liquide (T_M) ou d'une mésophase cristal-liquide à une phase liquide isotrope (T_{Cl-I}).

Le thermogramme obtenu pour le monomère ADEGChol (figure III.1) montre l'apparition d'un seul pic à T_f = 65,5°C (54,7 J g^{-1}) lors de la première montée en température. Ceci correspond à sa température de fusion. En revanche, lors de la première descente en

température, deux transitions sont observées : la première à T_{M1}=15,1 °C (1,09 J g^{-1}) et la deuxième à T_{M2}=29,4 °C (0,34 J g^{-1}), correspondant probablement à des transitions cristal-liquide. Par définition, ces transitions cristal-liquide qui ne sont observées que lors du refroidissement sont dites monotropiques. Ces transitions peuvent être observées à nouveau lors du second cycle thermique, à la fois en montée et descente en température. Notons toutefois que ce deuxième cycle thermique doit être effectué immédiatement après le premier pour que ces transitions soient observées, et contrairement à ces deux températures (T_{M1} et T_{M2}), le pic de la fusion n'apparaît plus dans le deuxième cycle de chauffage. En revanche, si l'échantillon est laissé pendant 20h au repos à température ambiante après le premier cycle chauffage-refroidissement, le thermogramme obtenu ensuite montre à nouveau le pic de fusion lors de la première montée en température. En d'autres mots, sur une longue période, le monomère s'auto-organise et cristallise. Si le temps nécessaire pour cette organisation n'est pas suffisant, il passe par un état organisé métastable : les mésophases cristal-liquide CL_{M1} et CL_{M2}.

Cette étude thermique confirme bien que le monomère ADEGChol possède deux mésophases cristal-liquide et plus précisément des mésophases monotropiques métastables (notées CL_{M1} et CL_{M2}).

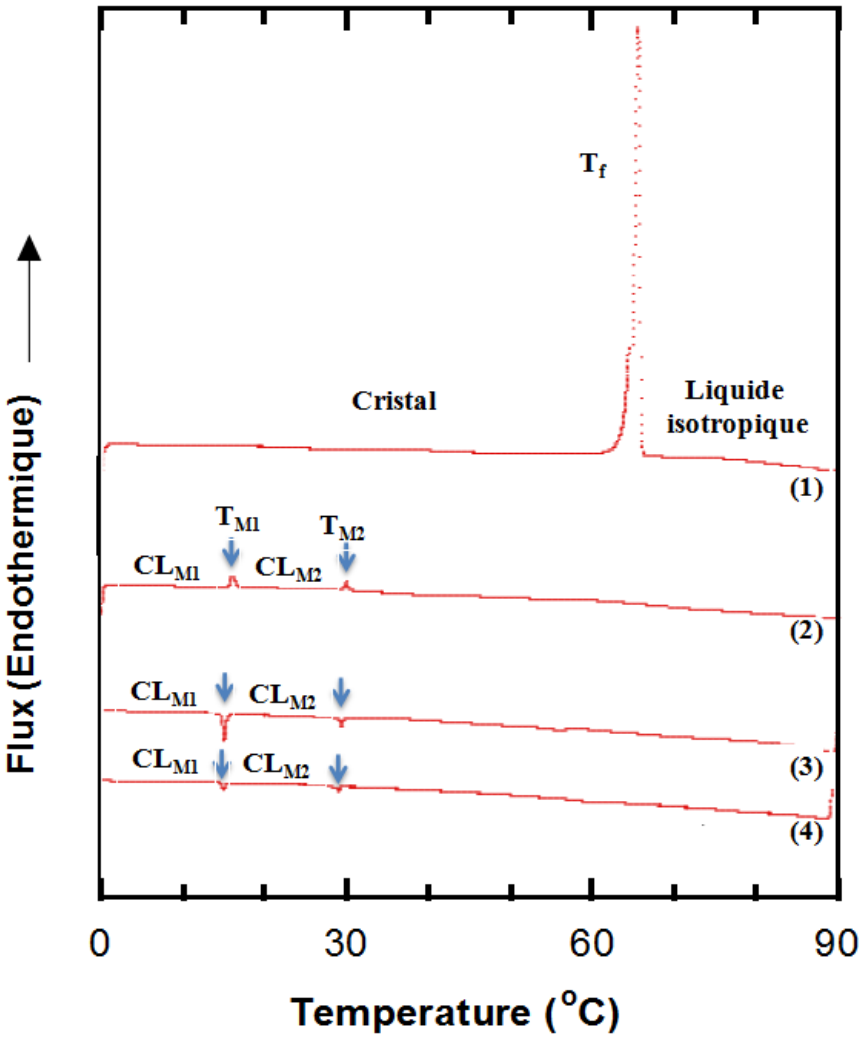


Figure III-1 Thermogrammes DSC du monomère ADEGChol enregistrés avec une vitesse de chauffage 1 °C.min^{-1}. (1) : 1er cycle, chauffage. (2) : 2ème cycle, chauffage. (3) : 1er cycle, refroidissement. (4) : 2ème cycle, refroidissement. CL_{M1} et CL_{M2} sont des mésophases cristal-liquides monotropiques métastables. T_{M1} et T_{M2} sont des températures de transition cristal-liquides-liquide. T_f est la température de fusion de l'ADEGChol.

Les thermogrammes enregistrés dans le cas d'un homopolymère PADEGChol de masse molaire $\overline{M_n}$ = 24 300 g mol^{-1} et du copolymère Dex-g^{5}-PADEGChol^{79} montrent la présence de deux transitions de phase à des températures très proches (figure III-2). Une température de transition vitreuse $T_{g,H}$ = 32,5 °C est observée dans le cas du PADEGChol, $T_{g,C}$ = 35,9 °C dans le cas du Dex-g^{5}-PADEGChol^{79}. Ces températures de transition vitreuse sont observées aussi bien lors du chauffage que du refroidissement ; sur le premier ou le second cycle thermique. Seul le second cycle est représenté sur la figure III-2. Rappelons enfin qu'aucune transition vitreuse n'est observée pour la dorsale dextrane lorsque l'on réalise une DSC du dextrane natif.

La deuxième transition, notée T_{CL-I} est quant à elle observée à $T_{CL-I,H}$ = 170,7 °C (2.91 J g^{-1}) dans le cas de l'homopolymère et à $T_{CL-I,C}$ = 166 °C dans le cas du copolymère Dex-g^{5}-

PADEGChol[79]. Cette transition T_{CL-I} correspond à une transition d'un état cristal-liquide à un état liquide isotrope. D'ailleurs, lorsque l'on réalise une MDSC (calorimétrie différentielle à balayage à température modulée), cette transition est observée à la fois sur le thermogramme global et sur les flux de chaleur inversible et non inversible.

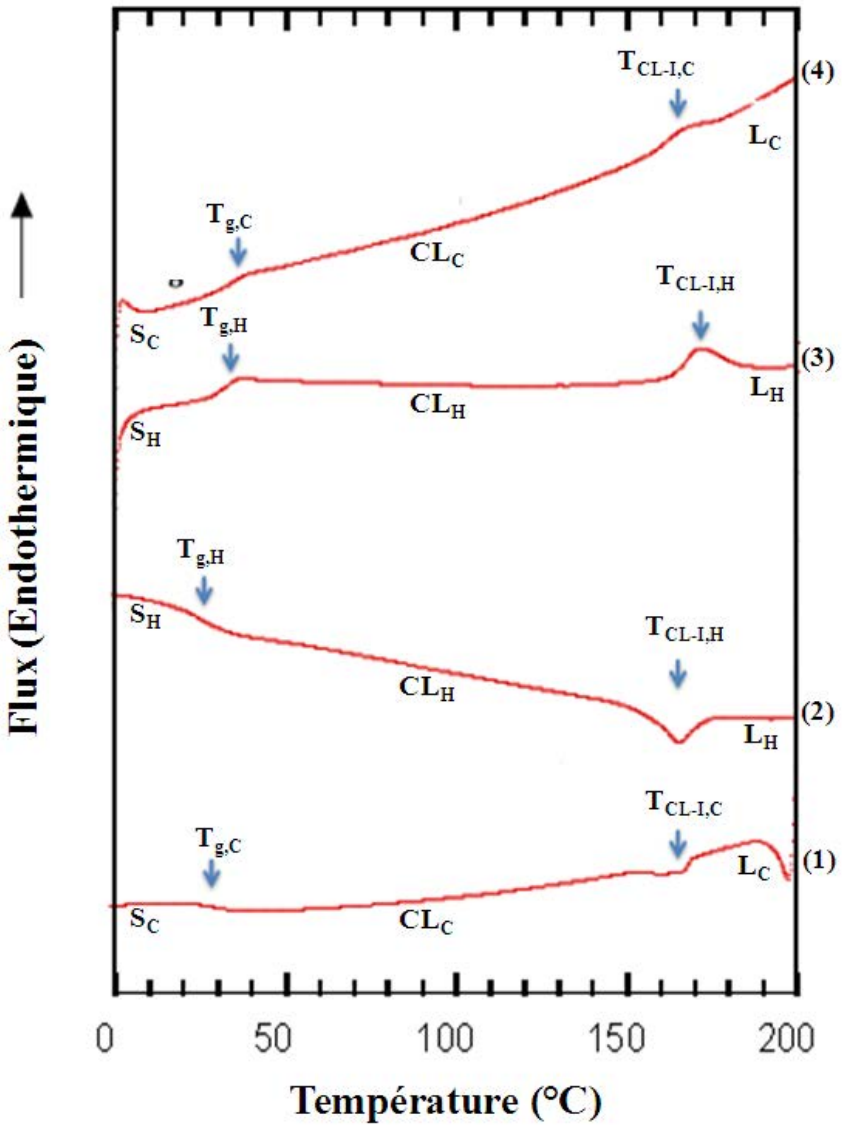


Figure III-2. Thermogrammes DSC de PADEGChol enregistrés avec une vitesse de chauffage de 10 °C.min^{-1}. (1) : 2ème cycle, refroidissement du Dex-g^5-PADEGChol^{79}. (2) : 2ème cycle, refroidissement PADEGChol. (3) : 2ème cycle, chauffage du Dex-g^5-PADEGChol^{79}. (4) : 2ème cycle, chauffage du PADEGChol. $Tg_{,H}$ et $T_{g,C}$ sont respectivement les températures de transition vitreuses du PADEGChol et du Dex-g^5-PADEGChol^{79}. $T_{CL-I,H}$ et $T_{CL-I,C}$ sont respectivement les températures de transition d'un état cristal-liquide à un état liquide isotrope du PADEGChol et du Dex-g^5-PADEGChol^{79}. S_H et S_C sont respectivement les états solides du PADEGChol et du Dex-g^5-PADEGChol^{79}. CL_H et CL_C sont respectivement les états cristal-liquide du PADEGChol et du Dex-g^5-PADEGChol^{79}. L_H et L_C sont respectivement les états liquides isotropiques du PADEGChol et du Dex-g^5-PADEGChol^{79}.

La zone de température entre ces deux transitions (T_g et T_{CL-I}) correspond à la zone cristal-liquide (notée CL dans la figure III-2) de l'homopolymère et du copolymère. La présence de cette zone permet de conclure que le PADEGChol possède bien une mésophase de nature thermotropique, mais surtout que le copolymère Dex-g^5-PADEGChol^{79} présente aussi cette zone cristal-liquide induite par les greffons PADEGChol mésogènes nanoségrégés.

Pour compléter ces résultats, nous avons réalisé un mélange physique entre le dextrane et le PADEGChol, avec une proportion massique en PADEGChol correspondant à celle du Dex-g^5-PADEGChol^{79} soit 79% massique. La DSC de ce mélange est parfaitement semblable à celle du Dex-g^5-PADEGChol^{79}. En d'autres mots, la présence du dextrane ne perturbe pas l'organisation cristal-liquide du PADEGChol.

Chose surprenante, lorsque l'on étudie par DSC le copolymère acétylé ($DexAc_{69}$-g^5-PADEGChol^{71}) correspondant au Dex-g^5-PADEGChol^{79}, on détermine uniquement 2 températures, l'une correspondant à une Tg des greffons PADEGChol proche de celle déterminée pour le Dex-g^5-PADEGChol^{79} mais aussi une autre transition thermique (T) située vers 183 °C. Pour avoir plus de renseignements sur cette transition T (c'est-à-dire vérifier si cette transition thermique correspond à une transition vitreuse de la dorsale dextrane acétylé), nous avons réalisé une MDSC sur ce copolymère acétylé (voir thermogramme dans la Partie : techniques expérimentales). La température de transition vitreuse des greffons PADEGChol est bien retrouvée dans le thermogramme flux inversible. La seconde transition (T) est quant à elle est observée dans le thermogramme flux non inversible, contrairement à une T_{CL-I} qui serait présente à la fois dans les thermogrammes flux inversible et non inversible. A l'opposé, dans le cas du mélange physique constitué du macroamorceur DexAcBr et du PADEGChol (fraction massique correspondante à celle du copolymère acétylé), on observe à la fois la T_g et la T_{CL-I} correspondant au PADEGChol. En d'autres mots, au sein de ce mélange DexAcBr + PADEGChol, le polysaccharide protégé (DexAcBr) ne perturbe pas l'organisation du PADEGChol.

A ce jour, nous ne savons pas à quoi correspond concrètement cette transition (T) observée sur le thermogramme du $DexAc_{69}$-g^5-PADEGChol^{71}. Il semble toutefois que le fait de lier de façon covalente le PADEGChol et le dextrane acétylé perturbe les propriétés mésomorphes des greffons PADEGChol dans le copolymère, contrairement à ce que l'on observe dans le cas des mélanges physiques et du copolymère Dex-g^5-PADEGChol^{79}.

Des analyses DSC ont été également effectuées sur le glycopolymère Dex-$g^{1,5}$-PADEGChol^{50} mais les thermogrammes n'ont pas pu être exploités car aucune température de transition de phase n'était visible. Ceci est probablement dû au faible nombre de greffons

(N=1,5) présents sur la dorsale dextrane. On peut en effet supposer que ces greffons se retrouvent peut être trop éloignés les uns des autres, ce qui ne favorise pas leur nanoséparation de phases et l'observation de leurs températures caractéristiques.

En comparant les températures de transitions du PADEGChol et du PAChol, nous constatons que l'homopolymère PAChol [1] présente une $T_{g,PAChol}$ égale à 68°C, plus élevée que celle du PADEGChol ($T_{g,H}$= 32,5 °C). Ceci signifie que la modification de la fonction carbonate présente dans l'AChol par la fonction éther (ADEGChol) permet d'abaisser la température de transition vitreuse de plus de 30 °C. Dans l'hypothèse d'une application liée à la délivrance de principes actifs, avoir un polymère présentant une T_g proche de la température du corps humain pourrait être un avantage supplémentaire du monomère ADEGChol par rapport au monomère AChol. En effet, si on imagine des vésicules obtenues à partir de copolymères possédant des chaînes PAChol ou PADEGChol, l'utilisation de greffons PADEGChol devrait faciliter la libération des principes actifs, puisque contrairement à son homologue PAChol, ce copolymère à greffons PADEGChol sera dans un état cristal-liquide (fluide) à la température du corps humain.

I.2 MICROSCOPE OPTIQUE A LUMIERE POLARISEE (MOP)

Cette technique est la plus fréquemment utilisée pour identifier le type des mésophases cristal-liquide. En effet, la caractérisation des mésogènes par MOP à une température donnée permet d'observer des textures spécifiques relatives à chaque système mésomorphe (nématique, smectique ou colonnaire), grâce aux défauts présents dans le réseau tridimensionnel formé par ces substances (partie I, paragraphe III.1.2.2).

La caractérisation par MOP du monomère ADEGChol (à 20°C) et de l'homopolymère PADEGChol (à 155 °C), à des températures situées dans leurs zones cristal-liquide correspondantes CL_{M2} et CL_H, permet d'observer une structure biréfringente en éventails (fan-shape) (figures III.3a,b) caractéristique d'une mésophase smectique A notée SmA. Dans cette mésophase, les mésogènes s'organisent sous forme de couches parallèles libres de glisser les unes sur les autres. Ces mésogènes sont orientés selon la normale des couches avec un ordre de position unidimensionnel.

Le glycopolymère Dex-g^5-PADEGChol[79] a lui aussi été étudié par MOP, à une température (130 °C) à laquelle il se trouve dans un état cristal-liquide (phase CL_C). Cependant, dans ce cas, la structure biréfringente n'a pas pu être observée car le copolymère était trop visqueux pour que la texture propre à la mésophase puisse se développer sur une

échelle macroscopique (figure III.4). A ce stade de l'étude, aucune indication sur la nature de la mésophase du copolymère Dex^{5}-g-PADEGChol^{79} ne peut être donnée. Aussi, nous avons mené une étude par DRX pour avoir plus d'information et tenter d'identifier le type de mésophase (paragraphe suivant).

Le monomère AChol et son homopolymère correspondant PAChol s'organisent également selon un ordre Smectique A. Ceci semble indiquer que le remplacement de la fonction carbonate par la fonction éther de l'ADEGChol n'influence pas l'ordre cristal-liquide de ces composés, mais abaisse seulement la valeur de la température de transition vitreuse ($T_{g,AChol}$ = 68 °C, $T_{CL\text{-}I,AChol}$= 156 °C).

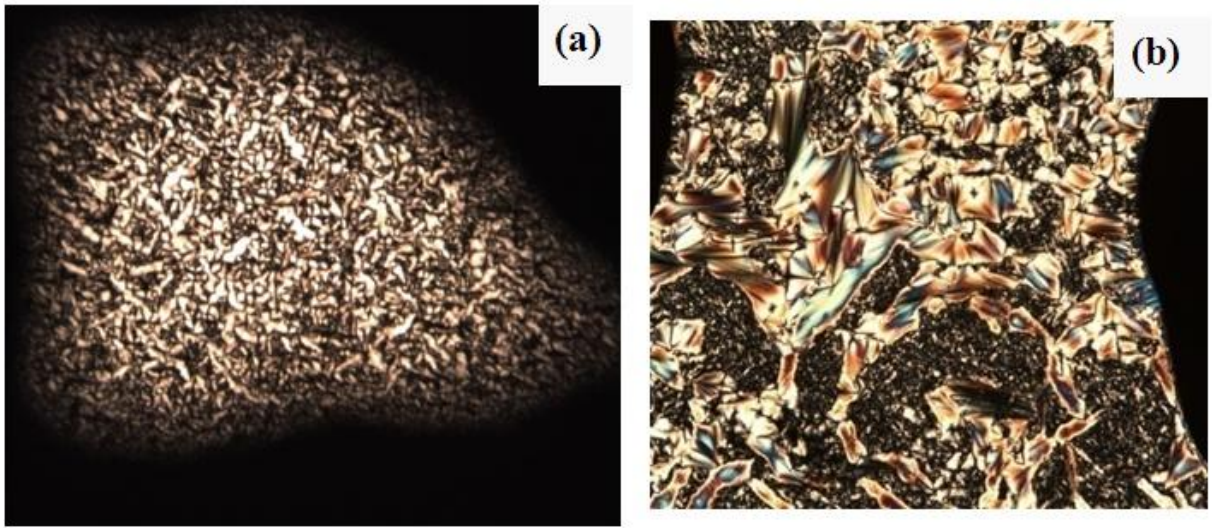


Figure III-3. Images par microscope optique à lumière polarisée (MOP) (a) du monomère ADEGChol à 20 °C, (b) de l'homopolymère PADEGChol ($\overline{M_n}$ = 24 300 g mol^{-1}) à 155°C.

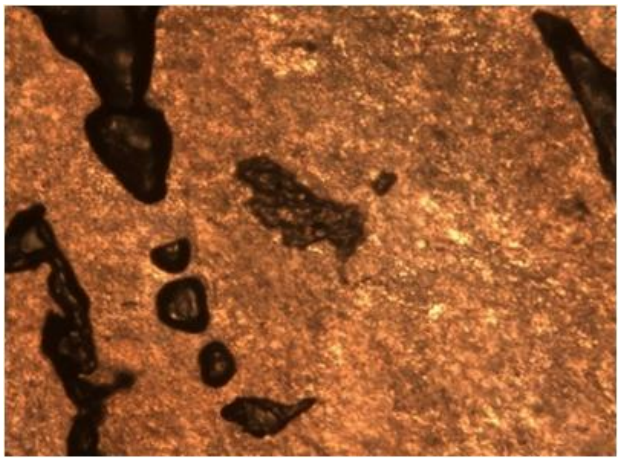


Figure III-4. Image par microscope optique à lumière polarisée (MOP) du copolymère Dex-g^{5}-PADEGChol^{79} à 130°C.

I.3 DIFFRACTION DES RAYONS X (DRX)

La diffraction des rayons X est une technique qui permet d'identifier les systèmes cristallins développés par des atomes ou des molécules. Dans le cas des cristaux liquides, cette technique permet donc d'avoir un complément d'information sur la structure des mésophases (partie I, paragraphe II.1.2.3), mais permet aussi de déterminer les distances périodiques caractéristiques et notamment la distance inter-lamellaire (d) c'est-à-dire la distance entre les couches des mésogènes.

Dans le cas du monomère ADEGChol, des distances inter-lamellaires de 4,55 nm et 4,54 nm ont été respectivement estimées à 10 °C (le monomère est alors dans sa mésophase CL_{M1}) et à 20 °C (le monomère est alors dans sa mésophase CL_{M2}). En parallèle de cette étude, la longueur ($l_{ADEGChol}$) d'une unité monomère ADEGChol complètement étendue a été estimée à 2,89 nm à l'aide du logiciel de modélisation moléculaire Chem Draw 3D. Ceci signifie que les distances inter-lamellaires du monomère ADEGChol déterminées par DRX, que se soit pour la mésophase CL_{M1} ou CL_{M2}, sont situées entre $l_{ADEGChol}$ et $2l_{ADEGChol}$. En prenant en compte la texture biréfringente en éventail observée par MOP dans le cas de la mésophase CL_{M2} à 20 °C (figure III-3a), on peut alors conclure que cette dernière présente un ordre smectique A interdigitée notée SmA_d (figure III-5). L'autre mésophase (CL_{M1}), située à une température inférieure à 15 °C, est probablement une autre mésophase smectique A interdigitée mais plus ordonnée car les deux mésophases (CL_{M1} et CL_{M2}) ont des périodes inter-lamellaires très proches (4,55 nm et 4,54 nm). Des analyses complémentaires par MOP ou par DRX à température inférieure à 10 °C seraient nécessaires pour confirmer l'ordre exact de cette deuxième mésophase (CL_{M1}), mais faute de disponibilité de ces techniques ces analyses n'ont pas pu être effectuées. Dans l'attente de leur réalisation, nous noterons arbitrairement cette mésophase : smectique X (SmX). Notons qu'une mésophase smectique A interdigitée a également été observée dans le cas du monomère AChol.

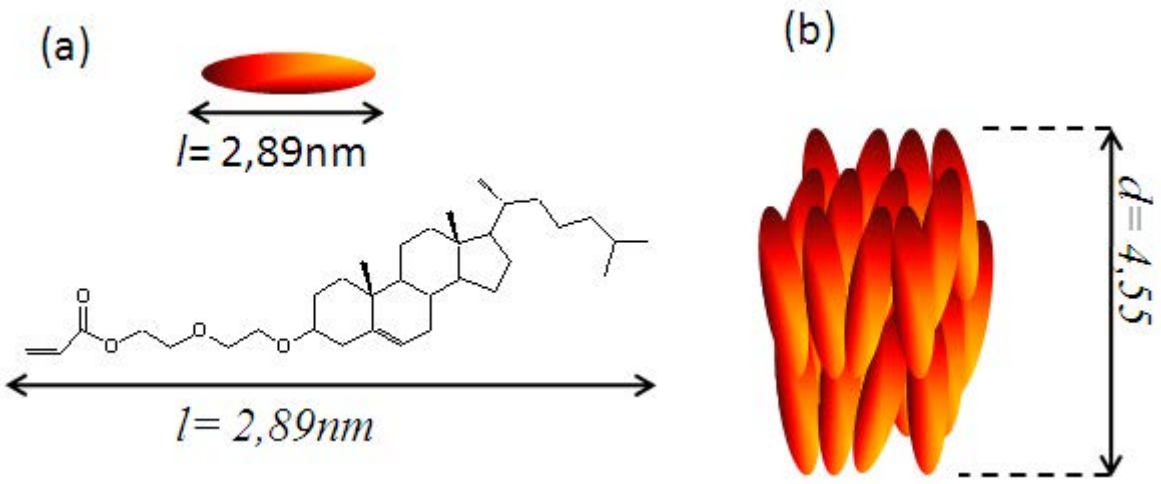


Figure III-5. (a) Formule chimique et représentation schématique de l'ADEGChol. (b) Représentation schématique de la mésophase smectique interdigitée (SmA_d) de l'ADEGChol (CL_{MI}). d est la distance inter-lamellaire déterminée par DRX à 20 °C. l est la longueur de l'ADEGChol estimée par Chem Draw 3D.

Dans le cas du PADEGChol, la DRX a tout d'abord été effectuée à 80 °C c'est-à-dire dans la mésophase CL_H. L'étude a permis d'évaluer la distance inter-lamellaire (d) égale à 4,53 nm. D'une façon analogue au raisonnement développé dans le cas du monomère ADEGChol et en tenant compte des observations MOP, on peut confirmer que les chaînes PADEGChol s'organisent selon un ordre smectique A interdigitée (SmA_d). En effet, la distance inter-lamellaire est encore comprise entre $l_{ADEGChol}$ et $2l_{ADEGChol}$.

À une température de 20 °C, c'est-à-dire en dessous de la $T_{g,H}$ = 32,5 °C, l'homopolymère PADEGChol est dans sa phase solide (S_H). La DRX effectuée à cette température indique une distance inter-lamellaire égale à 4,53 nm, valeur identique à celle obtenue à 80 °C (4,53 nm) (figure III-6). Ceci montre que la phase S_H de l'homopolymère est probablement une mésophase smectique vitreuse A que l'on notera SmV_H. Toujours sur la figure III-6, on détermine aussi une distance latérale (δ=0,56 nm) entre deux groupements cholestérol consécutifs qui est en cohérence avec la distance entre deux groupes cholestérol d'un PADEGChol (0,52 nm), estimée par ChemDraw 3D.

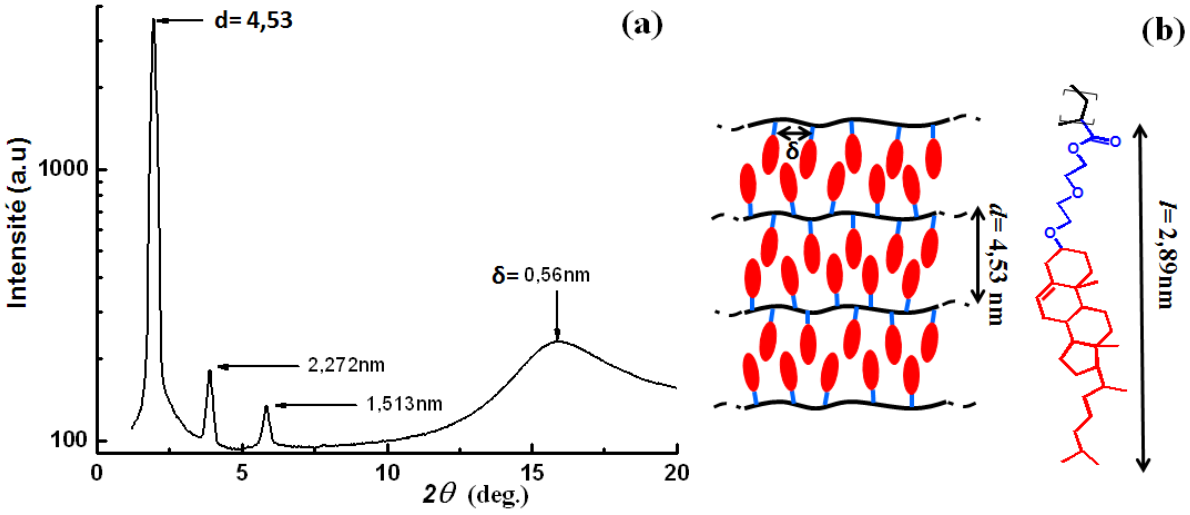


Figure III-6. (a) Intensité de la diffraction des rayons X en fonction de l'angle 2θ du PADEGChol ($\overline{M_n}$ = 24 300 g mol^{-1}), effectuée à 20 °C. Le premier pic (4,51 nm) correspond à la période de l'ordre smectique. Les deux autres pics (2,272 nm et 1,513 nm) sont des harmoniques du premier pic. Le large pic (0,56 nm) correspond à la distance latérale entre deux groupements cholestérol. (b) Présentation schématique proposée pour la mésophase smectique A interdigitée (SmA$_d$).

Parmi les glycopolymères synthétisés, seul le copolymère Dex-g^5-PADEGChol^{79} a pu être étudié par DRX à 130 °C (température située dans la zone cristal-liquide du copolymère-CL$_c$). Le diffractogramme enregistré montre la présence des pics provenant des réflexions de Bragg (figure III-7a). Il démontre clairement qu'à cette température ce copolymère possède bien une phase lamellaire bien que nous n'avions pas pu observer la structure biréfringente par MOP à cette température (figure III-4). Dans ce cas, la distance inter-lamellaire est estimée à 4,55 nm. Toujours en comparant cette distance avec $l_{ADEGChol}$, on peut conclure que le copolymère Dex^5-g-PADEGChol^{79} s'organise selon un ordre smectique A interdigitée (SmA$_d$) semblable à celui observé dans le cas du PADEGChol.

Lorsque ce même copolymère est examiné à 20 °C ($T_{g,C}$ = 35,9 °C), la DRX montre que ce copolymère conserve les pics de Bragg avec une distance inter-lamellaire plus élevée (4,650 nm) que celle estimée à 130 °C (figures III-7). Ceci indique que dans la zone de la phase solide S$_C$, le copolymère s'organise selon un ordre smectique vitreux A que l'on notera SmV$_C$.

Tout comme pour le PADEGChol, la distance latérale entre deux groupements cholestérol consécutifs (δ = 0,58 ou 0,57 nm à 130 °C ou 20 °C, respectivement) dans le glycopolymère est cohérente avec la modélisation ChemDraw 3D. Les autres copolymères n'ont malheureusement pas pu être étudiés par DRX.

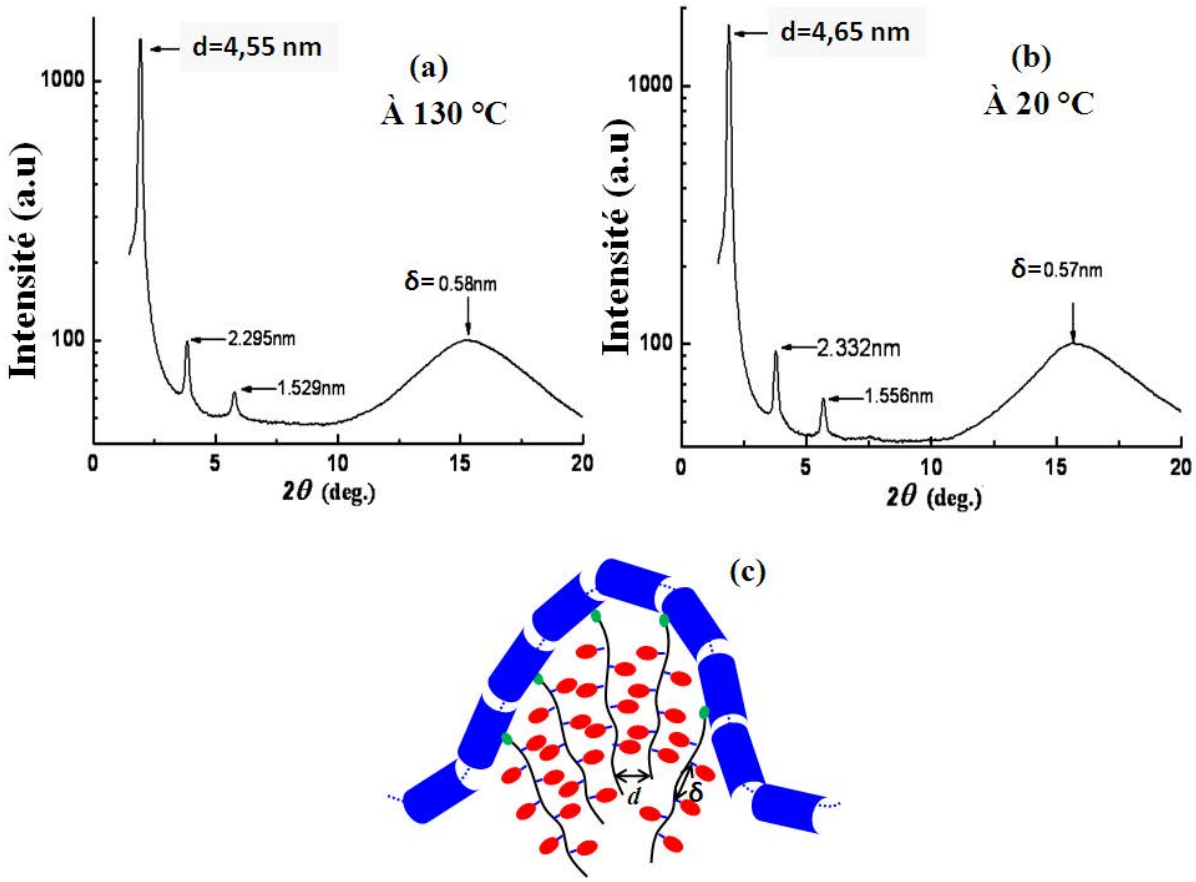


Figure III-7. Intensité de la diffraction des rayons X en fonction de l'angle 2θ à 130 °C (a) et à 20 °C (b) du copolymère* Dex-g^5-PADEGChol^{79}. (c) *Présentation schématique proposée de la mésophase SmA$_d$ du copolymère à 130 °C.

On peut conclure d'après les résultats de ces différentes techniques d'analyse (calorimétries, MOP et DRX) que l'ordre cristal-liquide imposé par les mésogènes cholestériques (unités monomères ADEGChol) est présent dans le cas du PADEGChol, mais aussi dans le cas du copolymère Dex-g^5-PADEGChol^{79}. Cet ordre ne semble donc pas être perturbé par la présence de la dorsale dextrane. Le tableau III-2 résume les propriétés mésomorphes des composés étudiés.

L'utilisation de la diffusion de rayons X aux petits angles (SAXS) pourrait permettre d'identifier une éventuelle organisation à plus grande échelle des copolymères Dex-g-PADEGChol induite par la nanoséparation de phases entre la dorsale de dextrane et les greffons PADEGChol. Cependant, faute de disponibilité de cette technique, ces analyses n'ont pas pu être effectuées.

Tableau III-2 Température de transition de phase de l'ADEGChol, du PADEGChol et du Dex-g^{5}-PDEGCholA^{79} obtenues par DSC avec rampes 1 °C min^{-1} ou 10 °C min^{-1} (les enthalpies de transition sont données entre les parenthèses). L'attribution des phases a été effectuée à l'aide des résultats de MOP et de DRX. Les données de l'homopolymère PAChol sont tirées de la référence (1).

Echantillon		**Phase 1**	**Transition Phase1 – Phase2**	**Phase 2**	**Transition Phase2 – Phase3**	**Phase 3**
ADEGChol (1 °C.min^{-1})	1er chauffage	Cristal	65,5°C (54,67 J/g)	-	-	Liquide isotropique
	1st refroidissement	SmX	15,1°C	SmA_d	29,4°C	Liquide isotropique
	2ème chauffage	SmX	16,2°C (0,79 J/g)	SmA_d	29,9°C (0,29 J/g)	
	2ème refroidissement	SmX	14,9°C (0,33 J/g)	SmA_d	29,2°C (0,17 J/g)	
PADEGChol (10 °C.min^{-1})	2ème chauffage	SmV_H	32,5°C ($T_{g,H}$)	SmA_d	170,7°C (2,91 J/g)	Liquide isotropique
	2ème refroidissement	SmV_H	27,8°C ($T_{g,H}$)	SmA_d	164,6°C (4,07 J/g)	
Dex-g^{5}-PADEGChol^{79} (10 °C.min^{-1})	2ème chauffage	SmV_C	35,9°C ($T_{g,C}$)	SmA_d	166,0°C (0,92 J/g)	Liquide isotropique
	2ème refroidissement	SmV_C	31,5°C ($T_{g,C}$)	SmA_d	165,1°C (0,81 J/g)	
PAChol (10 °C.min^{-1})	Chauffage	Solide	68 °C (T_g)	SmA_d	156 °C	Liquide isotropique

II.PROPRIETES TENSIOACTIVES

II.1 GENERALITES

Dans un liquide pur à l'équilibre, les molécules qui le constituent adoptent une configuration qui permet de minimiser l'énergie libre totale du système. Si on approche une molécule de liquide à sa surface, on s'éloigne de ce minimum énergétique et l'environnement de la molécule n'est plus optimal : il faut donc fournir de l'énergie libre à une molécule pour l'amener à la surface. On nomme tension superficielle γ cette énergie libre par unité de surface : pour augmenter de dA l'aire de la surface libre du liquide, il faut fournir un travail γdA. γ est la dérivée de l'énergie libre par rapport à l'aire A de la surface libre, à température T, volume V et nombre de molécules n constants. Si on considère maintenant que le liquide est en contact avec un autre liquide qui lui est non miscible, dans ce cas on parle de tension interfaciale (σ) [2]. Cette dernière est définie de la même manière que la tension superficielle d'un liquide ; par la dérivée de l'énergie libre du système par rapport à l'aire de l'interface (A), à température T, volume V et nombre de molécules n constants (équation III-1) :

$$\sigma = \left(\frac{\partial G}{\partial A}\right)_{T,V,n}$$ ***Equation III- 1***

L'unité du système international pour les tensions superficielles est le J/m², mais habituellement pour les liquides, on les exprime plutôt en N/m.

Les molécules amphiphiles ont la particularité de s'adsorber spontanément aux interfaces de deux liquides immiscibles dans lesquels chacune des parties de ladite molécule se solubilise, et font ainsi chuter les tensions interfaciales [3]. Ainsi, ces molécules amphiphiles sont aussi appelées des « tensioactifs ». En effet, l'adsorption d'une molécule amphiphile à l'interface de deux liquides immiscibles permet de remplacer des molécules de chaque liquide occupant des positions défavorables à l'interface ; alors que cette position est favorable pour la molécule amphiphile. Dans le cas d'une interface eau/solvant apolaire par exemple, la localisation de la molécule amphiphile à l'interface permet une solvatation par l'eau de la partie polaire de la molécule et une solvatation par le solvant apolaire de sa partie hydrophobe.

L'effet d'un tensioactif sur la tension interfaciale d'une émulsion peut être étudié en traçant l'isotherme de Gibbs (Figure III-8). En général, la présence d'un tensioactif

moléculaire ou macromoléculaire (copolymère amphiphile) induit l'apparition de trois zones distinctes sur ce tracé:

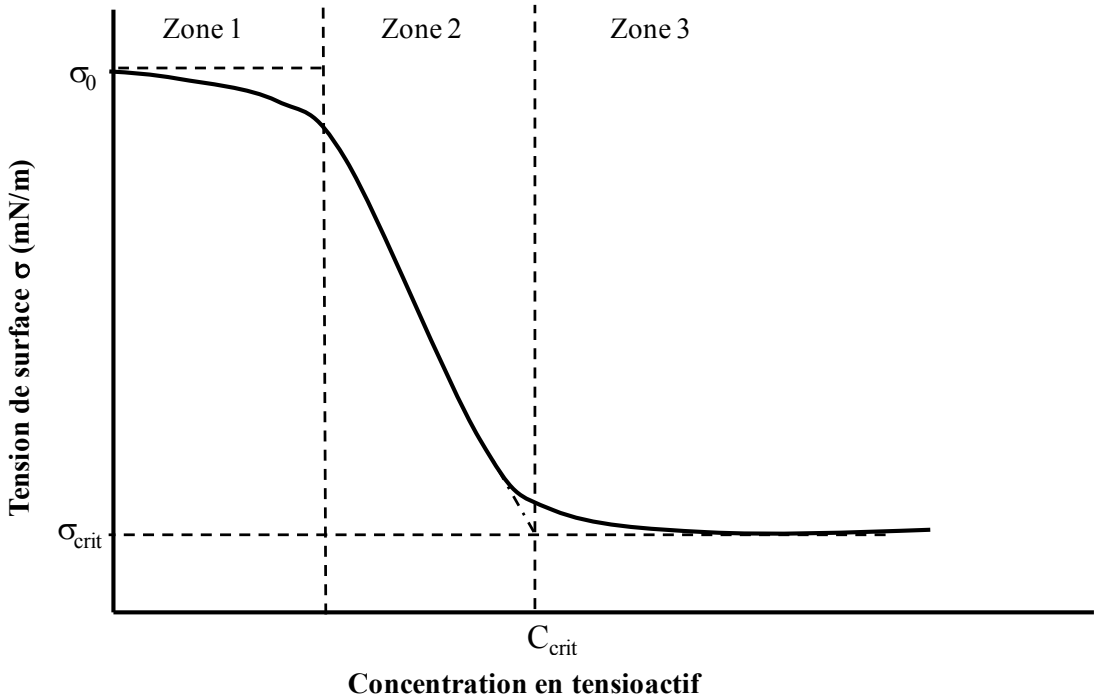


Figure III-8. Isotherme de Gibbs : Courbe théorique de tension interfaciale en fonction de la concentration en tensioactif.

• Dans la 1ère zone, la tension interfaciale ne diminue que très peu car la quantité de tensioactif dans le milieu est trop faible pour saturer complètement l'interface liquide/liquide. La valeur de cette tension interfaciale est imposée par la cohabitation des molécules des deux liquides à l'interface.

• Dans la 2ème zone, l'interface se sature à partir d'une concentration caractéristique en tensioactif,. L'augmentation progressive de la concentration en tensioactif dans une phase provoque l'adsorption d'un plus grand nombre de ces molécules à l'interface liquide/liquide, et donc la stabilisation de cette dernière. Ceci se traduit par une décroissance linéaire de la tension interfaciale avec le logarithme de la concentration en tensioactif. Cet effet est décrit par la relation de Gibbs (équation III-2).

$$\partial\sigma = 2,303.R.T.\Gamma_{max}\,\partial\log(C)$$ ***Equation III- 2***

Où Γ_{max} est le taux de recouvrement maximal de l'interface en tensioactif.

• Dans la 3ème zone, la tension interfaciale reste stable à partir d'une certaine concentration en tensioactif appelée « concentration micellaire critique (CMC) ». En effet, à partir de cette CMC, l'interface liquide/liquide est entièrement saturée par les molécules de tensioactif. Par conséquent, le travail à fournir pour augmenter l'interface du système ne peut plus être abaissé. Au-delà de cette CMC, des agrégats de tensioactif, dites micelles, se forment en solution et la concentration en molécules libres de tensioactif ne varie plus. Seul le nombre des micelles augmente. Dans le cas des copolymères amphiphiles, cette concentration est appelée concentration critique C_{crit} au lieu de « CMC ». On parle également de « concentration d'agrégation critique du copolymère (CAC) ». Dans certains cas, C_{crit} dépend non seulement de l'énergie d'agrégation du copolymère mais également de sa solubilité et de sa dispersité.

La tension interfaciale peut être mesurée par deux méthodes : i) soit par la méthode appelée « goutte pendante », basée sur l'étude de la forme d'une goutte d'un liquide 1 dans un liquide 2. Cette méthode est plutôt utilisée pour mesurer des tensions interfaciales dont les valeurs sont comprises entre 1 et 20 mN/m. ii) Soit par la mesure des forces s'exerçant sur un objet solide plongeant dans l'un des deux liquides. Lorsque cet objet est une lame verticale, on parle de tensiomètre à lame de *Wilhelmy*. Cependant, cette technique présente un certain nombre de difficultés, la principale étant de connaître et de contrôler l'angle de mouillage θ. Le cas idéal est d'avoir un angle de contact nul. Pour cela, un fil horizontal de faible section est utilisé, en forme d'anneau. La technique est appelée « anneau de Du Noüy ». Dans le cadre de ce travail, c'est cette dernière technique qui a été utilisée pour évaluer le caractère amphiphile des copolymères Dex-g-PADEGChol.

II.2 CARACTERE AMPHIPHILE DES DEX-g-PADEGCHOL

Une sélection de glycopolymères Dex-g-PADEGChol, de paramètres macromoléculaires différents (nombre et taille des greffons PADEGChol sur la dorsale dextrane), ont été utilisés pour étudier leurs propriétés tensioactives (tableau III-1).

L'absence d'un bon solvant commun des greffons PADEGChol et de la dorsale dextrane ne nous a malheureusement pas permis de solubiliser les Dex-g-PADEGChol dans les solvants classiquement utilisés pour réaliser l'étude des propriétés interfaciales. En effet, malgré la forte teneur en greffons PADEGChol (fraction massique du PADEGChol dans le copolymère supérieure ou égale à 50%), les glycopolymères se sont avérés très peu solubles dans des solvants chlorés tels que le dichlorométhane ou le chloroforme et relativement peu

solubles dans le toluène ($C_{copo} \leq 0,2$ g/L). Aussi, nous avons opté pour réaliser des mesures de tension interfaciale entre une solution de copolymère dans le toluène et une solution aqueuse. Cette étude a été réalisée à température ambiante, à l'aide de la technique « anneau de Du Noüy ». La tension interfaciale entre l'eau et le toluène purs a été estimée à 28,8 mN/m. Les mesures ont été effectuées à l'équilibre thermodynamique, après avoir attendu suffisamment de temps pour atteindre cet équilibre. En effet, des mesures préalables de tensiométrie dynamique, menées sur des dextranes modifiés par des chaînes alkyle [4] avaient démontré que l'équilibre thermodynamique n'était atteint qu'après 4h de contact entre les deux liquides. Aussi, les interfaces (solution de polymère dans le toluène)/eau ont été préparées à l'avance, puis laissées 12h au repos à température ambiante avant toute mesure.

La figure III-9 montre la variation de la tension interfaciale (σ) en fonction de la concentration en glycopolymères dans la phase organique. Contrairement à la courbe théorique présentée dans la figure III-8, le profil des courbes en présence des glycopolymères Dex-g-PADEGChol n'est composé que de deux zones:

- Dans la 1ère zone, une diminution très lente de la tension interfaciale (σ) est observée jusqu'à C_1= 1,5 mg/L dans le cas des glycopolymères ayant une fraction massique relativement élevée en greffons hydrophobes (Dex-g^3-PADEGChol^{63} et Dex-g^5-PADEGChol^{79}) et jusqu'à C_2= 6,2 mg/L pour le glycopolymère possédant une plus faible fraction en greffons (Dex-$g^{1,5}$-PADEGChol^{50}). Si on considère que ces trois glycopolymères possèdent des longueurs de greffons similaires (8900 à 12 600 g/mol- tableau III-1), cette différence de comportement, traduite par ces concentrations C_1 et C_2, est reliée au nombre de greffons sur la dorsale : Dex-$g^{1,5}$-PADEGChol^{50} ne comporte que 1,5 greffons pour 100 unités glucopyranose.

- Dans la 2ème zone, une décroissance relativement rapide de la tension interfaciale est observée dans le cas des trois glycopolymères étudiés. Ceci témoigne de l'occupation progressive de l'interface par les glycopolymères. Dans notre cas, la saturation de l'interface peut également être observée visuellement. En effet, dans le cas des glycopolymères Dex-g^3-PADEGChol^{63} et Dex-g^5-PADEGChol^{79}, une couche blanche a été observée à l'interface toluène/eau à partir de 15 mg/L de glycopolymère en phase toluène, alors que son apparition n'a lieu qu'à partir de 100 mg/L dans le cas du Dex-$g^{1,5}$-PADEGChol^{50}. Malheureusement, au-delà de ces concentrations en glycopolymère, la formation de cette couche blanche nous a empêché de poursuivre cette étude de la tension interfaciale. Cette couche, qui est sans doute un film solide de copolymère devient alors trop cassante. Ceci explique pourquoi le second

plateau dans l'isotherme de Gibbs n'est pas observé (figure III-9). Par conséquent la concentration d'agrégation critique de chaque Dex-g-PADEGChol étudié n'a pas pu être déterminée. Dans le cas du glycopolymère possédant une fraction massique de greffons encore plus élevée (Dex-g^{24}-PADEGChol^{90}), cette couche a été très rapidement observée à l'interface toluène/eau, en dessous même d'une concentration égale à 0,1 mg/L de glycopolymère dans le toluène. Très certainement la formation de ce film est due au caractère amphiphile des copolymères Dex-g-PADEGChol et à la faible solubilité des greffons PADEGChol dans le toluène.

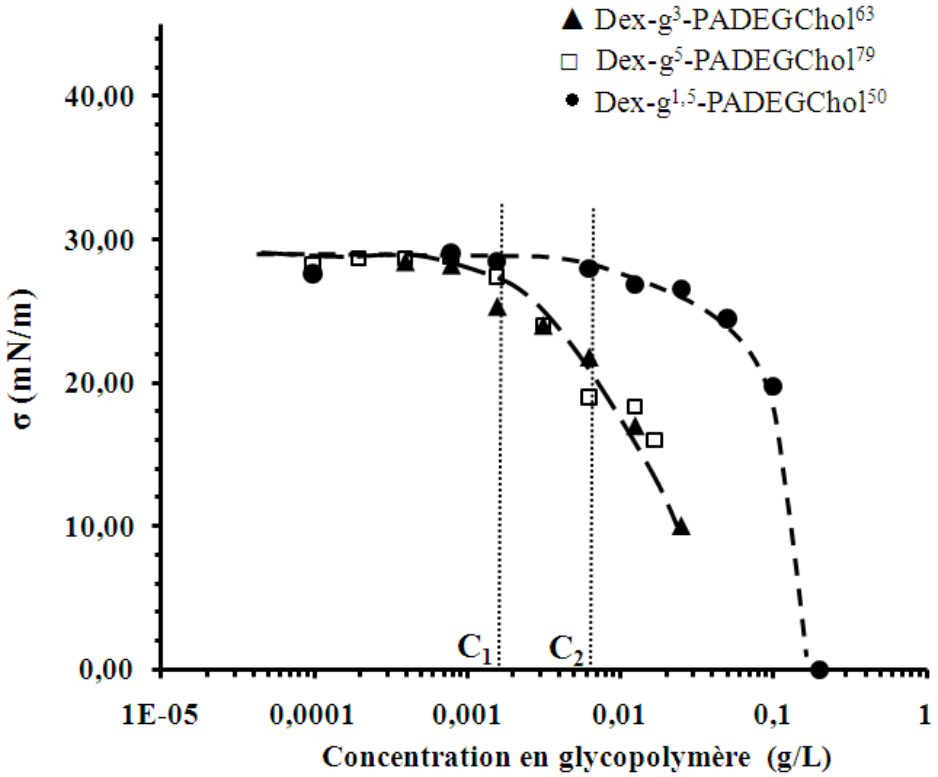


Figure III-9. **Variation de la tension interfaciale (σ) entre le toluène et l'eau à 25 °C en fonction de la concentration en glycopolymères.**

Malgré le profil incomplet des évolutions de la tension interfaciale (toluène/eau) en présence des glycopolymères Dex-g-PADEGChol, la chute de σ à partir d'une certaine concentration en glycopolymère démontre le caractère amphiphile de ces glycopolymères et leur potentielle aptitude à réduire la tension interfaciale entre ces deux solvants incompatibles ; d'où leur potentiel caractère tensioactif. De plus, ce caractère tensioactif des Dex-g-PADEGChol apporte une preuve indirecte supplémentaire que l'hydrolyse des fonctions acétate (quatrième étape de synthèse des Dex-g-PADEGChol) ne clive pas les greffons de la dorsale dextrane.

III.AUTO-ORGANISATION DES DEX-g-PADEGCHOL EN PHASE AQUEUSE

Comme il a été évoqué précédemment (partie-I, paragraphe III.3.2.1), le poly(acryloyloxyéthyl carbonate cholestéryle) (PAChol) a déjà été associé avec le poly(éthylène glycol) (PEG) sous forme de copolymères dibloc pour formuler des nano-objets de morphologies vésiculaires ou tubulaires [5]. Ces morphologies ont été obtenues grâce au caractère amphiphile de ces composés et aux propriétés mésomorphes du bloc hydrophobe PAChol qui apporte un ordre supplémentaire à l'auto-organisation des copolymères. Certains de ces travaux ont essayé d'établir une relation entre l'ordre cristal-liquide desdits copolymères et la morphologie des auto-organisations formées. Ainsi, ces auteurs ont essayé de déterminer pourquoi des vésicules aux formes ellipsoïdales ou à facettes sont observées avec des copolymères à mésophases smectiques, alors qu'en présence des copolymères à mésophases nématiques seuls des vésicules sphériques avaient été observées. Cependant, aucune corrélation simple n'a véritablement pu être établie dans le cas de ces copolymères dibloc, d'autant plus que d'autres facteurs doivent être pris en considération telles que la fraction massique du bloc hydrophobe « rod » dans le copolymère, la masse molaire du copolymère, sa dispersité et la méthode d'induction de l'auto-organisation [1,5–8]. De plus, dans le cas des copolymères greffés, l'établissement de cette relation est encore plus complexe puisque d'autres facteurs supplémentaires doivent être pris en considération tels que le nombre et la longueur des greffons. D'ailleurs, à notre connaissance et sauf erreur de notre part, aucun travail n'a été relaté jusqu'à présent sur l'étude de l'organisation de copolymères greffés porteurs de greffons mésogènes.

Dans ce paragraphe, les premiers résultats que nous avons pu obtenir sur l'étude de l'auto-organisation des glycopolymères Dex-g-PADEGChol en solution aqueuse seront exposés. Le caractère amphiphile très prononcé des glycopolymères Dex-g-PADEGChol, traduit par l'absence de solvant commun entre le dextrane hydrophile et les greffons PADEGChol hydrophobes, nous a obligé à réduire le nombre de glycopolymères à étudier. Seul quatre glycopolymères du tableau III-1 ont été utilisés: Dex-g^{24}-PADEGChol^{90} de très forte fraction massique en greffons (0,90), Dex-g^{5}-PADEGChol^{79} et le Dex-$g^{6,6}$-PCholADEG^{73} de fraction massique moyenne en greffons respectivement égale à 0,79 et 0,73 et le Dex-$g^{1,5}$-PADEGChol^{50} de faible fraction massique en greffons 0,50. La morphologie et la taille des auto-organisations obtenues ont été déterminées respectivement par microscope électronique à transmission (MET) et par diffusion dynamique de la lumière (DLS).

III.1 MISE EN SOLUTION

La méthode co-solvant (partie-I, paragraphe II.2.4.4) est la technique que nous avons employée pour induire l'auto-organisation des copolymères Dex-g-PADEGChol en solution aqueuse. Compte-tenu du manque de solvant commun des deux parties des glycopolymères Dex-g-PADEGChol (greffons et dorsale), nous avons employé séparément, deux solvants sélectifs, miscibles à l'eau et de natures différentes (polaire : DMSO et moins polaire : THF) pour favoriser la solubilisation de chacune des deux parties. Le THF a été utilisé pour solubiliser les greffons PADEGChol, alors que le DMSO a été employé à chaud (100 °C) pour solubiliser la dorsale dextrane. Ceci permettra d'étudier l'éventuelle influence de la nature du co-solvant sur la morphologie de l'auto-organisation des copolymères Dex-g-PADEGChol en phase aqueuse. Dans chaque cas, le mélange organique obtenu a été ensuite progressivement hydraté par dialyse contre de l'eau milli-Q pendant 48h, afin d'éliminer le solvant organique employé et pour induire par conséquent l'auto-organisation des copolymères. La figure III-10 schématise le mode opératoire utilisé.

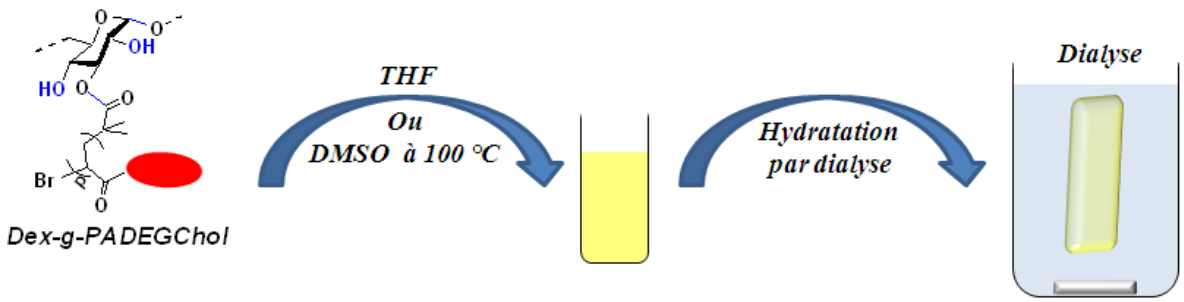


Figure III-10 Solubilisation des copolymères Dex-g-PADEGChol dans le THF ou dans le DMSO à 100 °C et induction de leur auto-organisation en phase aqueuse par dialyse.

La stabilité de la dorsale dextrane dans de telles conditions opératoires (THF, mais surtout DMSO à 100 °C) a été vérifiée par SEC-MALLS : aucune dégradation de la dorsale dextrane n'a été observée.

La taille des objets se formant pendant la solubilisation des glycopolymères Dex-g-PADEGChol dans le THF ou dans le DMSO et après leur hydratation par dialyse a été estimée par diffusion dynamique de la lumière (tableau III-3).

Dans le cas des glycopolymères Dex-$g^{1,5}$-$PADEGChol^{50}$, Dex-g^{5}-$PADEGChol^{79}$ et Dex-$g^{6,6}$-$PADEGChol^{73}$, des objets ont été caractérisés à température ambiante avant même l'étape de dialyse, que ces glycopolymères soient solubilisés dans le DMSO ou dans le THF. Après 24h de « solubilisation » dans ces solvants, des objets de tailles submicroniques et avec

des dispersités inferieures à 0,3 sont observés (tableau III-3). Ils proviennent sans doute de la solubilité partielle des copolymères dans le solvant sélectif utilisé (THF ou DMSO). On peut imaginer que des objets avec une couronne dextrane et un cœur hydrophobe PADEGChol sont formés dans le DMSO; alors que dans le THF on obtient l'inverse, c'est-à-dire des objets avec une couronne hydrophobe (greffons PADEGChol) et un cœur hydrophile (dextrane).

Cependant, dans le cas du DMSO, les mesures de DLS à 100 °C (c'est-à-dire à la température de dispersion du glycopolymère dans ce solvant) n'ont pas pu être effectués et nous ne pouvons donc pas conclure en toute rigueur sur la présence ou non d'objets colloïdaux à cette température. Nous pouvons en effet imaginer qu'à cette température supérieure à la Tg des greffons PADEGChol (≅ 35 °C mesurée par DSC) la mobilité des greffons est suffisante pour permettre l'auto-assemblage des copolymères. Une fois revenus à température ambiante, les objets obtenus seraient figés et leurs caractéristiques correspondraient alors à celles des objets formés à haute température.

Tableau III-3 Tailles des objets estimées par diffusion de la lumière dynamique dans le DMSO et dans le THF (avant dialyse) et en phase aqueuse (après dialyse) à température ambiante. La concentration des glycopolymères en phase organique (THF ou DMSO) est égale à 1 mg/ml.

	Solvant [(a)]	Diamètre des objets en nm [(b)]		(C) [(c)] mg/mL
		Avant dialyse (en phase organique)	Après dialyse (en phase aqueuse)	
Dex-$g^{1,5}$-PADEGChol^{50}	DMSO	1044 (0,10)	194 (1,00)	0,48
	THF	380 (0,30)	860 (0,46)	0,63
Dex-g^{5}-PADEGChol^{79}	DMSO	650 (0,36)	44 (0,50)	0,43
	THF	641 (0,11)	410 - 2000 (0,53)	0,39
Dex-$g^{6,6}$-PADEGChol^{73}	DMSO	-	34 (1,00)	0,55
	THF	780 (0,26)	2000 (0,50)	0,37

(a) Solvant organique sélectif utilisé pour disperser les copolymères.
(b) La dispersité est indiquée entre parenthèses.
(b) Concentration massique du copolymère après dialyse (en phase aqueuse).

Après hydratation, et lorsque l'auto-organisation est induite à partir d'une solution THF de copolymère, des objets de taille micrométrique sont observés pour les trois glycopolymères. En revanche, lorsque l'auto-organisation est induite à partir d'une solution de copolymère dans le DMSO, des nano-objets de taille plus petite sont observés (inférieure à 200 nm). Pour nous permettre de mieux commenter la nature de ces nano-objets, une étude de leur morphologie a été réalisée par MET et fera l'objet du prochain paragraphe.

Remarquons cependant que dans le cas du Dex-g^{24}-$PADEGChol^{90}$ qui possède une forte concentration massique en greffons hydrophobes PADEGChol, un précipité s'est formé directement après l'étape d'hydratation, aussi bien à partir de la solution de THF que de celle de DMSO, rendant l'étude de l'auto-organisation de ce glycopolymère en phase aqueuse impossible.

III.2 MORPHOLOGIE DES AUTO-ORGANISATIONS APRES DIALYSE

Les objets formés après dialyse ont été caractérisés par microscope électronique à transmission en présence d'une solution aqueuse d'acétate d'uranyle. Seuls les glycopolymères Dex-$g^{1,5}$-$PADEGChol^{50}$, Dex-$g^{6,6}$-$PADEGChol^{73}$ et le Dex-g^{5}-$PADEGChol^{79}$ ont été caractérisés, puisque le Dex-g^{24}-$PADEGChol^{90}$ précipite rapidement dans l'eau comme nous l'avons évoqué dans les lignes précédentes.

Afin d'étudier l'effet du co-solvant sur la morphologie des auto-organisations de ces glycopolymères en phase aqueuse, nous exposerons dans un premier temps la morphologie des objets formés en phase aqueuse par des glycopolymères solubilisés dans le THF comme co-solvant, puis celle observée quand le DMSO est utilisé comme co-solvant dans un deuxième temps.

III.2.1 A partir d'une solution de glycopolymère dans le THF

La dispersion des copolymères Dex-g-PADEGChol dans le THF permet sans doute de favoriser la solubilisation des greffons hydrophobes PADEGChol au détriment de la dorsale hydrophile dextrane. A l'aide de la diffusion dynamique de la lumière (DLS) nous avons observé que ceci avait une conséquence sur la taille des objets préparés. Dans le cas des trois glycopolymères, Dex-$g^{1,5}$-$PADEGChol^{50}$, Dex-g^{5}-$PADEGChol^{79}$ et le Dex-$g^{6,6}$-$PADEGChol^{73}$, les images MET (figure III-11) montrent l'observation de particules solides de taille microscopique, en accord avec les tailles estimées précédemment par DLS (tableau III-4).

La dispersité élevée des objets, estimée précédemment par DLS, provient de la présence de particules de tailles différentes dans la solution. En effet, lors de la caractérisation par MET, nous avons également observé la présence de particules de taille variable (tableau III-4) et seules quelques particules sont représentées dans la figure III-11. Dans le cas du glycopolymère Dex-$g^{1,5}$-$PADEGChol^{50}$ des particules de diamètre compris entre 200 nm et

700 nm ont été observées. Des diamètres entre 500 nm et 1200 nm ont été élaborés dans le cas du Dex-g^5-PADEGChol^{79} par exemple.

Tableau III-4 diamètres estimés par diffusion de la lumière dynamique (DLS) et par MET des particules obtenues par dialyse contre l'eau d'une solution de copolymère dans le THF. Concentration des glycopolymères en phase THF égale à 1 mg/ml.

	C (mg/ml) [(a)]	d (MET) [(b)]	d (DLS) [(c)]
Dex-$g^{1,5}$-PADEGChol^{50}	0,63	191nm – 640nm	860 nm
Dex-g^5-PADEGChol^{79}	0,39	500 nm – 1200 nm	410 nm – 2000 nm
Dex-$g^{6,6}$-PADEGChol^{73}	0,37	2000 nm	2000 nm

(a) Concentration massique du copolymère après dialyse contre l'eau.

(b) Gamme des diamètres de particules observées par MET.

(c) Diamètre moyen des particules estimée par DLS (dans le cas du Dex-g^5-PADEGChol^{79}, on distingue deux populations).

Puisque des particules solides ont été observées dans le cas des trois glycopolymères étudiés, on peut penser qu'elles se forment par précipitation des greffons PADEGChol lorsqu'ils sont mis en contact avec l'eau au cours de la dialyse. Comme nous l'avons supposé précédemment lors de la mise en solution des copolymères Dex-g-PADEGChol dans le THF, des objets de cœur hydrophile (dextrane) et de couronne hydrophobe (PADEGChol) se sont probablement formés. Dès que cette solution est mise en contact avec l'eau, au cours de la dialyse, l'échange du THF par l'eau a été probablement rapide et on peut penser que les chaînes de copolymères n'ont pas eu suffisamment de temps pour inverser la morphologie des particules formées dans le THF (cœur hydrophile et couronne hydrophobe) et adopter la morphologie d'auto-organisation la plus stable en phase aqueuse. Ceci a probablement induit la rapide précipitation dans l'eau des greffons très hydrophobes PADEGChol qui formaient alors la couronne des objets observés en solution THF, ce qui explique la présence des particules solides dans la figure III-11. Nous proposons dans la figure III-11d un schéma représentatif de ces particules.

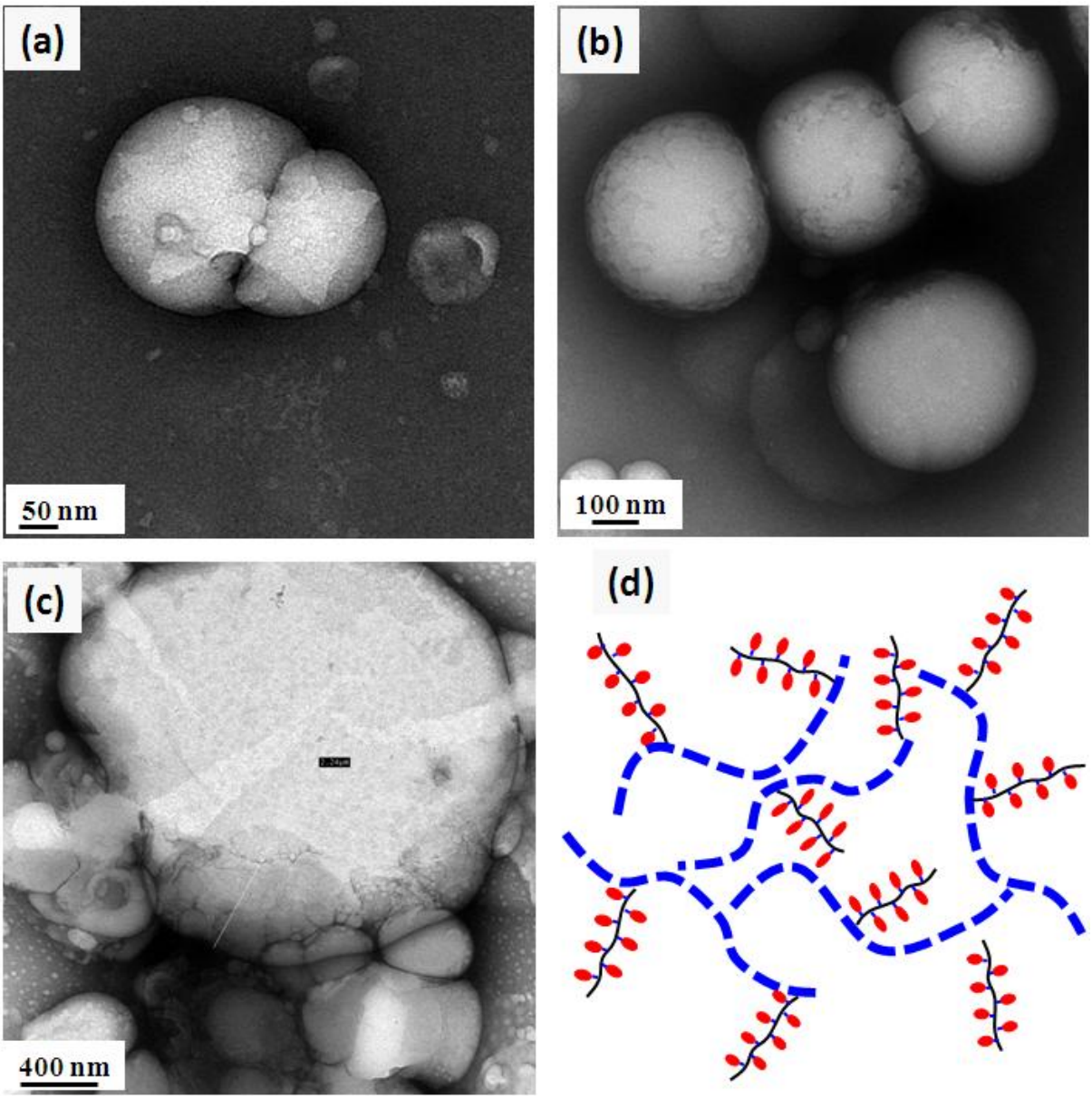


Figure III-11. Clichés caractéristiques de particules solides préparées par dialyse contre l'eau en utilisant le THF comme co-solvant, observées par microscope électronique à transmission (MET) en présence d'acétate d'uranyle . (a) Dex-g^{1,5}-PADEGChol^{50}, (b) Dex-g^{5}-PADEGChol^{79} et (c) Dex-g^{6,6}-PADEGChol^{73}. (d) Schéma représentatif de la constitution des particules observées

III.2.2 A partir d'une solution de copolymère dans le DMSO

Comme précédemment évoqué, le DMSO permet de solubiliser la dorsale dextrane, alors que les greffons PADEGChol ne sont pas solubles dans ce solvant. Lorsque l'eau remplace le DMSO lors de l'étape de dialyse, la morphologie de l'auto-assemblage que ces glycopolymères adoptent en solution DMSO est alors figée dans l'eau. La caractérisation par MET des objets obtenus dans le cas des trois copolymères Dex-g^{1,5}-PADEGChol^{50}, Dex-g^{5}-PADEGChol^{79} et le Dex-g^{6,6}-PADEGChol^{73} montre que ces derniers adoptent une morphologie vésiculaire (polymersomes) comme l'atteste la figure III-12, contrairement aux

particules observées lorsque le THF a été utilisé comme co-solvant. La membrane des polymersomes enfermant une phase aqueuse est ici très clairement observée. Toutefois, ces vésicules apparaissent agrégées et déformées. Ceci provient sans doute du processus de séchage (évaporation de l'eau) appliqué lors de la préparation des échantillons sur la grille de MET qui conduit à l'agrégation de ces objets et au déchirement de leur membrane.

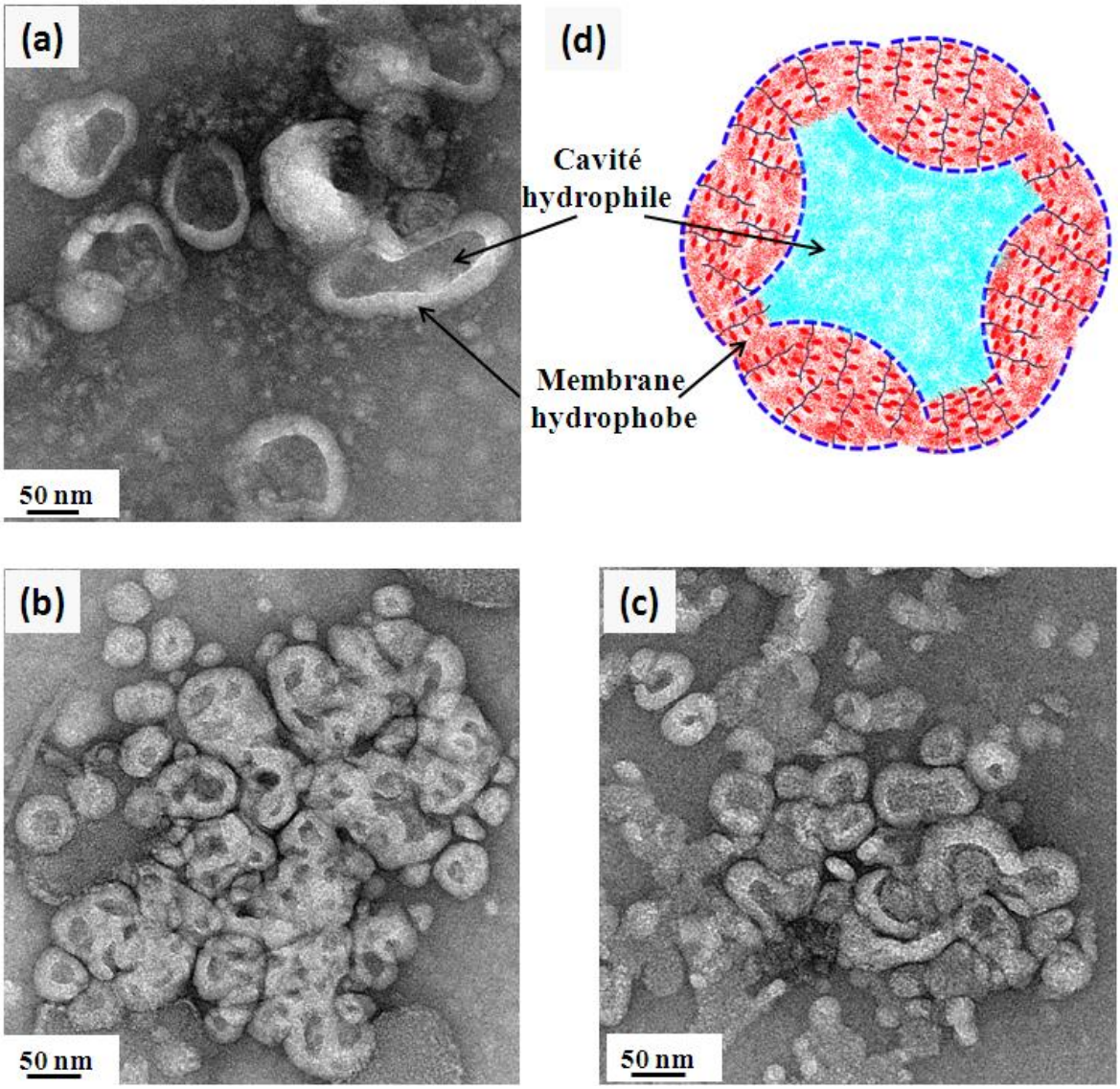


Figure III-12. Polymersomes préparés par dialyse contre l'eau en utilisant le DMSO comme co-solvant, et observés par microscope électronique à transmission (MET) en présence d'acétate d'uranyle. (a) Dex-g^{1,5}-PADEGChol^{50}, (b) Dex-g^{5}-PADEGChol^{79} et (c) Dex-g^{6,6}-PADEGChol^{73}. (d) Schéma représentatif général de la constitution des vésicules obtenues dans le cas des trois glycopolymères. Pour simplifier la figure les flèches désignent seulement le glycopolymère Dex-g^{1,5}-PADEGChol^{50}.

Contrairement à ce que nous observons pour le Dex-g^{1,5}-PADEGChol^{50} (vésicules), la théorie de Discher et Eisenberg [9] prévoit la formation de micelles lorsque la fraction massique de la partie hydrophobe d'un tensioactif est inférieure à 55% (paragraphe II.2.4.2 de la partie-

I). Cependant, dans le cas des glycopolymères Dex-g^{5}-PADEGChol^{79} et Dex-g^{6,6}-PADEGChol^{73} possédant des fractions massiques respectivement de 79% et 73%, la morphologie vésiculaire obtenue est en accord avec cette théorie [9] (prédisant ce type d'organisation lorsque la fraction massique de la partie hydrophobe est supérieure à 65 %). En d'autres mots, cette théorie ne s'applique pas parfaitement à nos copolymères greffés à greffons mésogènes « rod ». Rappelons que cette théorie a été élaborée pour l'auto-organisation des petites molécules (phospholipides) et que son extension dans le cas des copolymères n'a été concluante que pour les copolymères dibloc « coil-coil » [9]. Dans le cas des copolymères dibloc possédant un bloc « rod », des écarts à cette théorie avaient également été relatés [10–15].

Nos observations indiquent que l'auto-organisation de nos glycopolymères est très influencée par le choix du co-solvant utilisé, puisque le même glycopolymère produit des particules solides lorsque le THF est utilisé comme co-solvant, alors que des vésicules sont formées lorsque le DMSO est employé. Le même phénomène a été observée dans le cas des copolymères PEG_{45}-b-PAChol (ratio massique hydrophobe/ hydrophile : 28/72) : des microsphères solides avaient été observées par MET quand le THF avait été employé, tandis que des vésicules étaient observées pour le même copolymère lorsque le DMSO avait été utilisé [10].

De plus, l'analyse des images MET permet d'estimer le diamètre des vésicules (polymersomes) obtenues en phase aqueuse à partir d'une solution de ces trois glycopolymères dans le DMSO. Comme le montre le tableau III-5, ce diamètre (d) estimé par MET est du même ordre de grandeur que celui obtenu par DLS mais varie d'un copolymère à l'autre. Cette variation provient probablement des paramètres structuraux des glycopolymères, et notamment du nombre de greffons. Chose surprenante, le tableau III-5 montre que d varie inversement au nombre de greffons dans le glycopolymère. Par exemple, on peut comparer les vésicules formées à partir des glycopolymères Dex-g-^{1,5}-PADEGChol^{50} et Dex-g^{5}-PADEGChol^{79} qui varient essentiellement par le nombre des greffons PADEGChol (la longueur de ces greffons étant très voisine dans ces 2 glycopolymères (Xn≅20)). Dans le cas du glycopolymère Dex-g-^{1,5}-PADEGChol^{50}, les vésicules observées présentent un grand diamètre et donc une faible courbure, alors qu'elles sont de petit diamètre avec une courbure plus élevée dans le cas de Dex-g^{5}-PADEGChol^{79} (figure III-13). Ce n'est pas le résultat auquel on pouvait s'attendre : l'augmentation du nombre de greffons, « rod » de part leur caractère mésomorphe, sur la dorsale de dextrane devrait entrainer une certaine rigidité de cette

dernière, et par conséquent, une diminution de la courbure des objets obtenus associée à une augmentation de leur diamètre.

Tableau III-5 Caractéristiques des vésicules estimées par diffusion de la lumière dynamique (DLS) et par MET. Vésicules obtenues par dialyse contre l'eau à partir d'une solution de copolymère dans le DMSO. La concentration des glycopolymères dans le DMSO avant dialyse était constante et égale à 1 mg/ml.

	C (mg/ml) [(a)]	d (MET) [(b)]	d (DLS) [(c)]	Xn [(d)]	N [(e)]
Dex-g^{1,5}-PADEGChol^{50}	0,48	130 nm	194 nm	20	1,5
Dex-g^{5}-PADEGChol^{79}	0,43	60 nm	44 nm	24	5
Dex-g^{6,6}-PADEGChol^{73}	0,55	40 nm	34 nm	13	6,6

(a) Concentration massique du copolymère après dialyse (en phase aqueuse). (b) Diamètre moyen des des vésicules estimé par MET. (c) Diamètre moyen des vésicules estimé par DLS. (d) Nombre d'unités monomère dans un greffon. (e) Nombre de greffons par 100 unités glucopyranose.

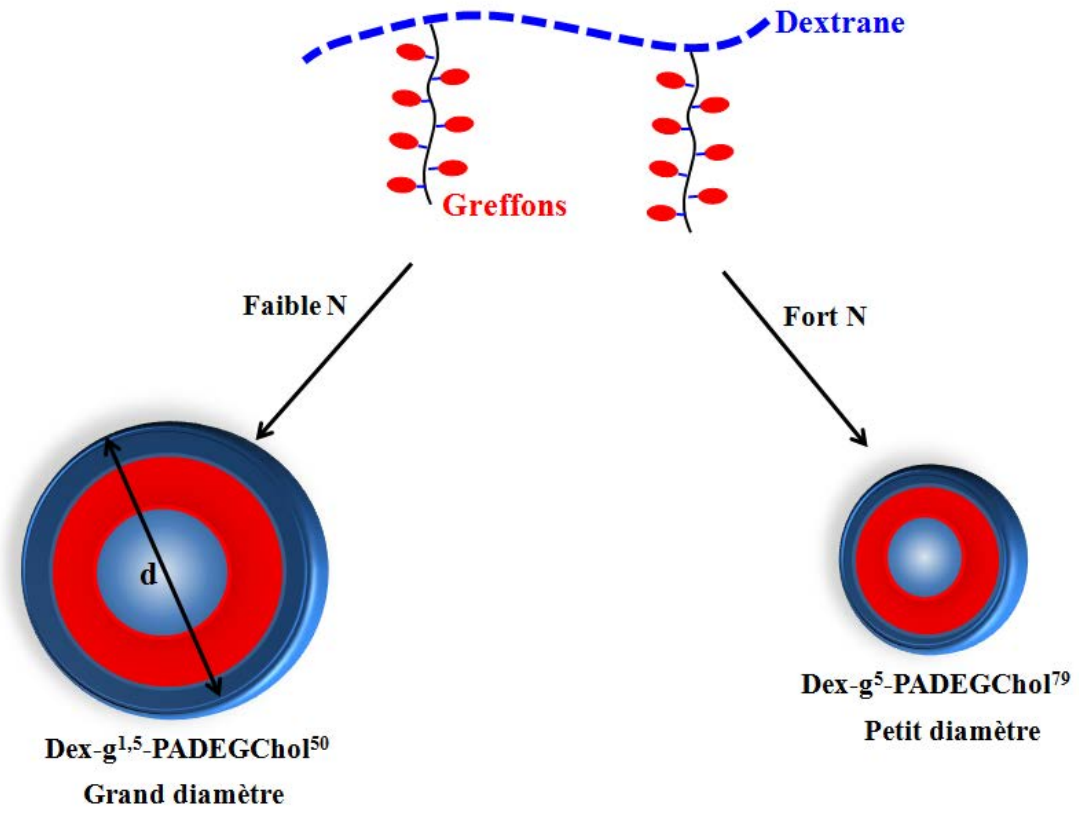


Figure III-13. Influence des paramètres structuraux des glycopolymères Dex-g-PADEGChol sur les caractéristiques des polymersomes observés par MET. N= nombre de greffons PADEGChol sur la dorsale dextrane pour 100 unités glucopyranose. d(MET) = diamètre des vésicules estimé par MET.

Ces premiers résultats semblent indiquer que le choix du co-solvant est un paramètre crucial pour la bonne préparation des polymersomes et que le nombre des greffons PADEGChol influencent fortement la dimension des vésicules préparées à partir des

glycopolymères Dex-g-PADEGChol. Sauf erreur de notre part, cette étude, bien que très préliminaire, est la première qui démontre la faculté des glycopolymères greffés à s'auto-organiser en phase aqueuse sous forme de polymersomes, contrairement aux micelles habituellement relatées [16,17,18,19,20]. Cette aptitude est sans doute liée aux propriétés mésomorphes des greffons PADEGChol qui apportent un ordre supplémentaire à l'auto-organisation de ces copolymères greffés.

Nous sommes conscients que ces travaux ne constituent qu'une approche préliminaire de l'étude de l'auto-organisation en solution aqueuse de tels glycopolymères greffés. Le nombre limité à la fois des produits étudiés et des techniques de caractérisation disponibles ne permettent pas d'établir une véritable relation entre les paramètres macromoléculaires complexes des copolymères greffés (nombre et longueur des greffons) et leur ordre cristal-liquide, ou encore la morphologie des auto-organisations obtenues. Cependant, aucun résultat de ce type ne semble avoir relaté dans la littérature.

IV.CONCLUSION DU CHAPITRE

Dans cette partie, consacrée à l'étude des propriétés physico-chimiques, le caractère cristal-liquide thermotropique du glycopolymère Dex-g^5-PADEGChol^{79} a tout d'abord été démontré en utilisant la calorimétrie différentielle à balayage. Dans un second temps, une structure biréfringente traduisant une mésophase smectique A (SmA) a été observée par microscope optique à lumière polarisée dans le cas du PADEGChol. Malheureusement, cette technique ne nous a pas permis d'établir une même conclusion pour le glycopolymère. Cependant, par la présence de pics de Bragg observés par diffraction des rayons X, nous avons établi que ce glycopolymère (Dex-g^5-PADEGChol^{79}) possède bien une structure lamellaire. Aussi, nous avons proposé que ce glycopolymère pouvait s'organiser selon un ordre smectique A interdigité, d'une manière analogue à l'homopolymère PADEGChol. Contrairement au glycopolymère Dex-g^5-PADEGChol^{79}, la DSC du Dex-$g^{1,5}$-PADEGChol^{50}, porteur d'un plus faible nombre de greffons PADEGChol démontre que ce dernier ne présente pas de propriétés mésomorphes.

Le caractère tensioactif des copolymères Dex-g-PADEGChol a ensuite été confirmé grâce à des mesures de tension interfaciale. L'augmentation de la concentration des glycopolymères en phase organique (toluène) conduit effectivement à une diminution de la tension interfaciale entre eau/toluène. La concentration critique d'agrégation n'a cependant

pas pu être déterminée à cause de la formation rapide d'une couche de polymère à l'interface eau/toluène qui empêche l'observation du second plateau de l'isotherme de Gibbs.

Finalement, et après avoir « solubilisé » certains Dex-g-PADEGChol dans deux solvants différents (THF ou DMSO à 100 °C), puis avoir éliminé ces derniers par dialyse contre l'eau milli-Q, les objets obtenus ont été caractérisés par DLS et MET. Des particules solides ont été observées pour tous les glycopolymères lorsqu'ils étaient préalablement solubilisés dans le THF comme co-solvant. En revanche, des polymersomes ont été observés lorsque le DMSO a été employé.

REFERENCES

(1) Jia, L.; Cao, A.; Lévy, D.; Xu, B.; Albouy, P.-A.; Xing, X.; Bowick, M. J.; Li, M.-H. Smectic polymer vesicles. *Soft Matter* **2009**, 5, 3446–3451.

(2) Cabane, B.; Hénon, S. Liquides: Solutions, dispersions, émulsions, gels; *édition revue et augmentée.; Belin,* **2007**, 147-164.

(3) Nouvel, C.; Frochot, C.; Sadtler, V.; Dubois, P.; Dellacherie, E.; Six, J.-L. Polylactide-Grafted Dextrans: Synthesis and Properties at Interfaces and in Solution. *Macromolecules* **2004**, 37, 4981–4988.

(4) Rotureau, E.; Leonard, M.; Dellacherie, E.; Durand, A. Amphiphilic derivatives of dextran: Adsorption at air/water and oil/water interfaces. *Journal of Colloid and Interface Science* **2004**, 279, 68–77.

(5) Pinol, R.; Jia, L.; Gubellini, F.; Levy, D.; Albouy, P.-A.; Keller, P.; Cao, A.; Li, M.-H. Self-assembly of PEG-b-Liquid crystal polymer: The role of smectic order in the formation of nanofibers. *Macromolecules* **2007**, 40, 5625–5627.

(6) oissé, S.; Rieger, J.; Di-Cicco, A.; Albouy, P.-A.; Bui, C.; Li, M.-H.; Charleux, B. Synthesis via RAFT of Amphiphilic Block Copolymers with Liquid-Crystalline Hydrophobic Block and Their Self-Assembly in Water. *Macromolecules* **2009**, 42, 8688–8696.

(7) Yang, J.; Levy, D.; Deng, W.; Keller, P.; Li, M. H. Polymer vesicles formed by amphiphilic diblock copolymers containing a thermotropic liquid crystalline polymer block. *Chemical Communications* **2005**, 4345–4347.

(8) Yang, J.; Piñol, R.; Gubellini, F.; Lévy, D.; Albouy, P.-A.; Keller, P.; Li, M.-H. Formation of Polymer Vesicles by Liquid Crystal Amphiphilic Block Copolymers. *Langmuir* **2006**, 22, 7907–7911.

(9) Discher, D. E.; Eisenberg, A. Polymer vesicles. *Science* **2002**, 297, 967–973.

(10) Jia, L.; Albouy, P.-A.; Di Cicco, A.; Cao, A.; Li, M.-H. Self-assembly of amphiphilic liquid crystal block copolymers containing a cholesteryl mesogen: Effects of block ratio and solvent. *Polymer* **2011**, 52, 2565–2575.

(11) Houga, C.; Giermanska, J.; Lecommandoux, S.; Borsali, R.; Taton, D.; Gnanou, Y.; Le Meins, J.-F. Micelles and Polymersomes Obtained by Self-Assembly of Dextran and Polystyrene Based Block Copolymers. *Biomacromolecules* **2009**, 10, 32–40.

(12) Houga, C.; Meins, J.-F. L.; Borsali, R.; Taton, D.; Gnanou, Y. Synthesis of ATRP-induced dextran-b-polystyrene diblock copolymers and preliminary investigation of their self-assembly in water. *Chemical Communications* **2007**, 3063–3065.

(13) Babin, J.; Taton, D.; Brinkmann, M.; Lecommandoux, S. Synthesis and self-assembly in bulk of linear and Mikto-arm star block copolymers based on polystyrene and poly(glutamic acid). *Macromolecules* **2008**, 41, 1384–1392.

(14) Upadhyay, K. K.; Le Meins, J.-F.; Misra, A.; Voisin, P.; Bouchaud, V.; Ibarboure, E.; Schatz, C.; Lecommandoux, S. Biomimetic Doxorubicin Loaded Polymersomes from Hyaluronan-block-Poly(gamma-benzyl glutamate) Copolymers. *Biomacromolecules* **2009**, 10, 2802–2808.

(15) Schatz, C.; Louguet, S.; Le Meins, J.-F.; Lecommandoux, S. Polysaccharide-block-polypeptide Copolymer Vesicles: Towards Synthetic Viral Capsids. *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, 48, 2572–2575.

(16) Wang, D.; Tan, J.; Kang, H.; Ma, L.; Jin, X.; Liu, R.; Huang, Y. Synthesis, self-assembly and drug release behaviors of pH-responsive copolymers ethyl cellulose-graft-PDEAEMA through ATRP. *Carbohydrate Polymers* **2011**, 84, 195–202.

(17) Yuan, W.; Li, X.; Gu, S.; Cao, A.; Ren, J. Amphiphilic chitosan graft copolymer via combination of ROP, ATRP and click chemistry: Synthesis, self-assembly, thermosensitivity, fluorescence, and controlled drug release. *Polymer* **2011**, 52, 658–666.

(18) Yuan, W.; Zhao, Z.; Gu, S.; Ren, J. Synthesis, Characterization, and Properties of Amphiphilic Chitosan Copolymers with Mixed Side Chains by Click Chemistry. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2010**, 48, 3476–3486.

(19) Wang, X.-L.; Zhai, Y.-L.; Tang, D.-L.; Liu, G.-Y.; Wang, Y.-Z. Self-assembly, drug-delivery behavior, and cytotoxicity evaluation of amphiphilic chitosan-graft-poly(1,4-dioxan-2-one) copolymers. *Journal of Polymer Research* **2012**, 19, 1–9.

(20) Liu, W.; Liu, Y.; Hao, X.; Zeng, G.; Wang, W.; Liu, R.; Huang, Y. Backbone-collapsed intra- and inter-molecular self-assembly of cellulose-based dense graft copolymer. *Carbohydrate Polymers* **2012**, 88, 290–298.

CONCLUSIONS GENERALE

ET

PERSPECTIVES

CONCLUSION GENERALE

De nombreux types de vecteurs de principes actifs ont été relatés dans la littérature. Au-delà du transport de principes actifs, ces vecteurs ont la faculté d'offrir une protection chimique et physique contre les diverses agressions que peut subir un principe actif et de lui permettre de traverser les différentes barrières biologiques rencontrées tout au long de son parcours vers la cible désirée. Dans la majorité des cas, la nature chimique du matériau constitutif de ces vecteurs dépend essentiellement de la polarité (hydrophile ou hydrophobe) du principe actif à transporter. Cependant, et contrairement à la plupart des autres vecteurs, ceux qui ont une architecture vésiculaire peuvent transporter les principes actifs à la fois hydrophiles et hydrophobes.

Les « polymersomes », et bien qu'ils ne soient pas encore commercialisés, sont des candidats potentiels pour devenir des vecteurs de principes actifs « universels». Pour rappel, ces derniers sont des vésicules artificielles plus robustes et chimiquement plus stables que leur homologues « liposomes », obtenues par auto-assemblage de copolymères amphiphiles. Le plus souvent, les polymersomes sont élaborés à partir de copolymères dibloc, mais la littérature relate quelques rares exemples de polymersomes formulés à partir de copolymères greffés. Dans la plupart des cas, les blocs hydrophiles et hydrophobes décrits dans la littérature sont de nature flexible, cependant des études récentes ont démontré l'intérêt d'employer des polymères rigides. Le caractère cristal-liquide de certains polymères rigides peut de plus améliorer la stabilité et les propriétés mécaniques de la bicouche membranaire des polymersomes.

L'objectif de ce doctorat était d'élaborer le premier glycopolymère greffé amphiphile porteur de greffons à caractère mésomorphe cristal-liquide. Plus précisément, il est constitué

d'une dorsale hydrophile dextrane et de greffons hydrophobes PADEGChol à propriétés mésomorphes. Ce glycopolymère, libellé dextrane-g-poly(Acrylate de Diéthylène Glycol Cholestéryle) Dex-g-PADEGChol, a été obtenu en employant la stratégie « grafting from ». Cette technique est basée sur la croissance des greffons à partir d'une dorsale porteuse de site amorceur.

Dans un premier temps, notre travail a porté sur la synthèse du monomère ADEGChol, dont la synthèse a été améliorée. La stabilité chimique de ce monomère dans les conditions basiques qui seront employées par la suite a été démontrée.

Dans un second temps, nous avons choisi d'optimiser les conditions opératoires de l'homopolymérisation par ATRP de ce monomère, en utilisant un amorceur modèle E*i*Br. Deux solvants, l'un apolaire (toluène) et l'autre polaire (THF) ont été testés. Le $Cu^{I}Br$ a été utilisé comme catalyseur métallique et sa solubilité a été évaluée en présence de deux types de ligands : pyridylméthanimines (PPMI et OPMI) et PMDETA. Cette étude nous a permis de conclure que :

i) Le ligand OPMI permet une bonne solubilisation du $Cu^{I}Br$ dans le milieu réactionnel, grâce notamment à la présence d'une longue chaîne d'alkyle dans sa structure. Cette observation est en accord avec la littérature qui relate le pouvoir de ce ligand à homogénéiser le milieu réactionnel d'ATRP en présence des monomères hydrophobes, contrairement au PPMI qui possède une courte chaîne alkyle. Cependant, en présence de ces deux ligands, l'ATRP de l'ADEGChol était lente et aucun contrôle n'a été observé, que ce soit dans le THF ou dans le toluène.

ii) Un bon contrôle de l'ATRP de l'ADEGChol a été observé en présence du ligand PMDETA malgré la solubilité partielle du $Cu^{II}Br_2$ qui apparait au-delà de 50% de conversion. En effet, lorsque cette ATRP a été effectuée dans le THF, une évolution linéaire en fonction du temps, une très bonne corrélation des masses molaires expérimentales avec celles prévues par la théorie et des faibles dispersités des polymères synthétisés ont été observés. De plus, dans ce cas, une efficacité d'amorçage proche de 100% a été estimée. Ces conditions opératoires ont ensuite été retenues pour l'élaboration des glycopolymères Dex-g-PADEGChol.

Dans un troisième temps, plusieurs glycopolymères greffés d'architecture maîtrisée ont été élaborés en utilisant la méthode « grafting from ». Cette opération a été effectuée en quatre étapes :

i) A cause de l'absence d'un solvant commun entre le dextrane hydrophile et le monomère ADEGChol hydrophobe, il a été nécessaire d'hydrophobiser le dextrane pour le rendre soluble dans les solvants apolaires qui seront employés dans la 3ème étape. Plusieurs dérivés de dextrane ($DexAc_{\tau Ac}$), possédant des taux de modification supérieurs à 70%, ont été élaborés. Cette étape avait déjà été abordée au LCPM, néanmoins, la pyridine jusque là employée a été remplacée par la triéthylamine, ce qui nous a permis de préserver la dorsale dextrane d'un éventuel risque d'hydrolyse ou de dégradation.

ii) Les groupements amorceurs, de type α-halogénoester, ont été alors introduits en milieu homogène par estérification des fonctions hydroxyle résiduelles du dérivé dextrane (DexAc). L'α-halogénobromure d'acide employé pour mener cette modification a été sélectionné de telle manière que les sites amorceurs fixés soient de la même nature que l'E*i*Br utilisé pour mettre au point les conditions d'ATRP de l'ADEGChol. Les conditions opératoires utilisées dans cette 2ème étape permettent de contrôler la densité des sites amorceurs sur la dorsale dextrane (DexAcBr), et ainsi, *in fine* de moduler, à souhait, le nombre de greffons et donc l'architecture du glycopolymère final.

iii) La croissance des greffons PADEGChol à partir des différents macroamorceurs DexAcBr a été effectuée lors de la 3ème étape, en utilisant les conditions opératoires retenues précédemment lors de l'étude de l'ATRP par l'amorceur modèle E*i*Br. Plusieurs glycopolymères protégés DexAc-g-PADEGChol ont donc été élaborés avec différentes fractions massiques en greffons hydrophobes. L'obtention de ces glycopolymères a été vérifiée par RMN ^{1}H et prouvée par SEC-MALLS.

iV) Le caractère hydrophile de la dorsale dextrane dans les glycopolymères protégés a été restitué dans des conditions basiques douces, afin d'assurer le caractère amphiphile des glycopolymères Dex-g-PADEGChol. L'efficacité de ces conditions a d'abord été confirmée sur les dérivés DexAc et DexAcBr avant qu'elles soient appliquées sur les glycopolymères DexAc-g-PADEGChol. Aucun décrochage, ni dégradation des greffons PADEGChol n'a été observé dans ces conditions.

Finalement, le caractère tensioactif des glycopolymères Dex-g-PADEGChol a été évalué grâce à des mesures de tension interfaciale. En effet, l'augmentation de la concentration des glycopolymères en phase organique (toluène) conduit à une diminution de la tension interfaciale entre l'eau et le toluène. Les propriétés mésomorphes d'une sélection de glycopolymères Dex-g-PADEGChol ont été étudiées par MOP, DSC et DRX. Ainsi, une

mésophase smectique A interdigitée a été observée dans le cas de l'homopolymère PADEGChol et dans le cas du glycopolymère possédant une forte fraction en greffons hydrophobes. La présence d'une dorsale dextrane ne semble donc pas perturber le caractère cristal-liquide des PADEGChol dans ce cas précis. Notre présente investigation s'est clôturée par l'étude préliminaire de l'auto-organisation en solution aqueuse d'une sélection de glycopolymères Dex-g-PADEGChol présentant des paramètres structuraux différents (nombre et longueur de greffons). Cette auto-organisation a été induite par la méthode dite du co-solvant, en solubilisant les glycopolymères dans un solvant sélectif d'une de leurs deux parties constituantes (DMSO à 100 °C pour favoriser la solubilisation de la dorsale hydrophile dextrane et THF pour favoriser la solubilisation des greffons PADEGChol pendant une nuit). Ceci nous a alors permis d'étudier l'effet du co-solvant sur la morphologie des objets formés après dialyse contre une solution aqueuse. La caractérisation des objets obtenus par MET a permis l'observation de:

i) Particules solides polydisperses de taille microscopique lorsque le THF est utilisé comme co-solvant. Ceci peut être expliqué par la précipitation rapide des greffons PADEGChol du glycopolymère alors solubilisés dans le THF lorsqu'ils sont mis en contact avec l'eau, au cours de la dialyse, et qui forment *in fine* la couronne des particules.

ii) Vésicules creuses de taille submicronique qui rappellent la morphologie des « polymersomes » lorsque le DMSO est utilisé comme co-solvant. Les résultats préliminaires que nous avons pu obtenir semblent montrer que le diamètre des vésicules formées est influencé par les paramètres structuraux des glycopolymères (nombre des greffons sur la dorsale) employés.

PERSPECTIVES

Les travaux rapportés dans ce manuscrit étaient focalisés sur la synthèse de nouveaux glycopolymères greffés possédant des propriétés mésomorphes. Cependant, et à cause de plusieurs difficultés rencontrées tout au long de ce doctorat, nous n'avons pas eu suffisamment de temps pour étudier de manière plus approfondie les propriétés physicochimiques de ces glycopolymères. Malgré ces difficultés, l'étude préliminaire que nous avons menée a révélé que les glycopolymères greffés (Dex-g-PADEGChol) peuvent s'auto-organiser en phase aqueuse et adopter une morphologie vésiculaire appelée « polymersome », tout comme leurs homologues dibloc.

Néanmoins, nous sommes conscients que cette étude doit être approfondie. Plusieurs perspectives peuvent être évoquées :

i) Etudier un panel plus étendu de copolymères Dex-g-PADEGChol, pour bien comprendre l'influence de leur architecture (nombre et longueur de greffons) à la fois sur les propriétés mésomorphes et sur la morphologie de l'auto-organisation susceptible d'être obtenue en phase aqueuse.

ii) Mettre en œuvre des méthodes d'induction de l'auto-organisation autres que la méthode co-solvant utilisée lors de cette étude.

iii) Caractériser les nano-objets obtenus par des techniques de caractérisation plus avancées comme par exemple la cryo-MET qui permettra sans doute de confirmer la morphologie vésiculaire des auto-organisations observées par MET et d'évaluer au mieux leurs caractéristiques.

iv) Encapsuler et libérer des molécules hydrophiles ou hydrophobes modèles à partir de polymersomes formulés par les copolymères Dex-g-PADEGChol.

v) Améliorer la solubilité des copolymères Dex-g-PADEGChol qui était sans doute le principal obstacle rencontré au cours de ce doctorat. Pour cela, la structure du monomère peut être optimisée. En effet, des résultats préliminaires que nous avons pu obtenir en parallèle de notre étude nous a montré que l'utilisation d'un bras espaceur plus long (tri ou tétraéthylèneglycol au lieu du diéthylène glycol) permet d'abaisser l'hydrophobie des monomères et éventuellement des polymères correspondants. Ceci pourra permettre d'avoir des solvants communs entre le dextrane et les greffons cholestériques.

vi) Maîtriser l'architecture des copolymères greffés PADEGChol en utilisant d'autres stratégies de synthèse des copolymères greffés, comme la stratégie « grafting onto » via une étape de « chimie click ». Ceci, permettra sans doute de contrôler d'avantage, et plus facilement, la masse molaire des greffons PADEGChol préalablement élaborés, et de modeler à souhait l'architecture des copolymères finaux.

PARTIE

TECHNIQUES EXPERIMENTALES

I. PROTOCOLES OPERATOIRES DE SYNTHESES i

I.1 MATERIELS I

I.1.1 Synthèse des monomères ADEGChol et AChol i

I.1.2 ATRP de l'ADEGChol i

I.1.3 Synthèse des macroamorceurs dérivés du dextrane ii

I.2 SYNTHESE DES MONOMERES ADEGCHOL ET ACHOL II

I.2.1 Synthèse du monomère ADEGChol ii

I.2.1.1 1ère étape : synthèse du Chol-OTS ii

I.2.1.2 2ème étape : synthèse du DEGChol iii

I.2.1.3 3ème étape: synthèse de l'ADEGChol iv

I.2.2 Synthèse du monomère AChol iv

I.3 STABILITE DES MONOMERES EN MILIEU BASIQUE V

I.4 HOMOPOLYMERISATION DU MONOMERE ADEGCHOL V

I.4.1 Synthèse des ligands v

I.4.2 ATRP du monomère ADEGChol à partir de l'EiBr vi

I.5 SYNTHESE DES GLYCOPOLYMERES DEX-G-PADEGCHOL VII

I.5.1 Acétylation des fonctions hydroxyle du dextrane (1ère étape) vii

I.5.2 Fixation des groupements amorceurs sur un $DexAc_{71}$ (2ème étape) vii

I.5.3 Croissance des greffons PADEGChol (3ème étape) viii

I.5.4 Déprotection des fonctions acétate (4ème étape) viii

I.6 STABILITE DES GLYCOPOLYMERES EN MILIEU BASIQUE IX

I.6.1 Stabilité du macroamorceur DexAcBr ix

I.6.2 Stabilité des greffons PADEGChol ix

I.7 AUTO-ORGANISATION DES GLYCOPOLYMERES DEX-G-PADEGCHOL IX

II. TECHNIQUES DE CARACTERISATION x

II.1 SPECTROSCOPIE PAR RESONANCE NUCLEAIRE MAGNETIQUE X

II.2 CHROMATOGRAPHIE D'EXCLUSION STERIQUE X

II.2.1 Phase aqueuse xi

II.2.2 Phase organique xi

II.3 INFRA-ROUGE A TRANSFORMEE DE FOURIER (TFIR) XII

II.4 TENSION INTERFACIALE XII

II.5 PROPRIETES MESOMORPHES XIII

II.5.1 Calorimétrie différentielle à balayage (DSC) xiii

II.5.2 Calorimétrie différentielle à balayage à température modulée (MDSC) xiii

II.5.3 Microscope optique a lumière polarisante (MOP) xv

II.5.4 Diffraction des rayons X (DRX) xvi

II.6 DIFFUSION DYNAMIQUE DE LA LUMIERE (DLS) XVI

II.7 MICROSCOPE ELECTRONIQUE A TRANSMISSION (MET) XVII

REFERENCES XVIII

TECHNIQUES EXPERIMENTALES

I.PROTOCOLES OPERATOIRES DE SYNTHESES

I.1 MATERIELS

I.1.1 Synthèse des monomères ADEGChol et AChol

Le cholestérol (94%), le chlorure de p-toluènesulfonyle (TsCl, > 99%), la triméthylamine chlorohydrate (Me_3N-HCl, 98%), le diéthylène glycol (DEG, 99%) et la pyridine ont été fournis par Aldrich. Le chlorure d'acryloyle (ACl, > 98%) a été acheté chez Fluka. L'acrylate de 2-hydroxyéthyle (HEA, 98%), et le chloroformate de cholestéroyle (99%) ont été fournis par Alfa Aesar. Le sulfate de magnésium et l'éther de pétrole ont été fournis par le magasin de chimie de l'Université de Lorraine et ont été utilisés en l'état. La triéthylamine (Et_3N, 99%) (Aldrich) a été séchée sur tamis moléculaire activé. Le dichlorométhane (CH_2Cl_2) et le dioxane ont été séchés sur CaH_2 puis distillés sous vide réduit.

I.1.2 ATRP de l'ADEGChol

Le toluène a été séché puis distillé sur CaH_2, puis redistillé sur paroi froide en présence de polystyryl lithium. Le THF a été distillé en présence du sodium/benzophénone. L'amorceur 2-bromoisobutanoate d'éthyle (EiBr, 99%), le bromure de cuivre ($Cu^{I}Br$, 99%) et le dibromure de cuivre ($Cu^{II}Br_2$, %) et le ligand N,N,N',N',N''- pentaméthyldiéthylène-triamine (PMDETA,%) ont été fournis par Aldrich et ont été utilisés tels quels.

Les ligands N-(*n*-propyl)-2-pyridylméthanimine (PPMI) et N-(*n*-octyl)-2-pyridylméthanimine (OPMI) ont été élaborés selon le protocole de synthèse décrit dans la littérature [1]. Les produits nécessaires à leurs synthèses sont les suivants : pyridine-2-carboxaldéhyde, n-octylamine (%), n-propylamine (%), diéthyléther (Aldrich).

Pour préserver la réactivité des agents de modification chimique du dextrane (anhydride acétique, bromure de 2-bromoisobutanoyle), et éviter le risque d'oxydation du $Cu^{I}Br$ et la désactivation des centres actifs lors de la polymérisation, les réacteurs et les verreries utilisés ont été préalablement séchés et flambés sous vide dynamique avant chaque utilisation,.

I.1.3 Synthèse des macroamorceurs dérivés du dextrane

Le dextrane T_{40}, fourni par Pharmacia Biotech ($\overline{M_n}$= 34 800 g/mol et Đ = 1,10), a été caractérisé par chromatographie d'exclusion stérique couplée à une diffusion de lumière multi-angles (SEC-MALLS) dans l'eau (0,1 M $NaNO_3$). Avant chaque utilisation, le dextrane est séché directement dans le réacteur pendant une nuit sous vide dynamique à 100°C.

L'anhydride acétique, le bromure de 2-bromoisobutanoyle (BriBBr) et le 4-diméthylamino-pyridine (DMAP) sont fournis par Aldrich et ont été utilisés en l'état. Le THF a été séché en présence du complexe sodium/benzophénone puis distillé, alors que le DMSO a été séché pendant une nuit sur CaH_2, distillé sous vide puis stocké sous pression d'Azote. La purification du dextrane modifié a été effectuée par des membranes de dialyse fournies par Spectra Por (Molecular Weight Cut-OFF : 6000-8000 g/mol).

I.2 SYNTHESE DES MONOMERES ADEGCHOL ET ACHOL

I.2.1 Synthèse du monomère ADEGChol

I.2.1.1 1ère étape : synthèse du Chol-OTS

Le rapport molaire cholestérol/Et_3N/TsCl/Me_3N-HCl = 1/2,5/1,5/0,1 est utilisé. 10 g de cholestérol (26 10^{-3} mol) et 9 mL de triéthylamine (65 10^{-3} mol) sont solubilisés à température ambiante dans 60 mL du dichlorométhane fraichement distillé sur paroi froide. Ensuite, une solution de 7,4 g de TsCl (39 10^{-3} mol) et 0,247 g de triméthylamine chlorohydrate (2,6 10^{-3} mol) dans 40 mL de dichlorométhane est ajoutée au milieu réactionnel goutte à goutte à 0 °C. Après 2 heures de réaction à température ambiante, les sels formés au cours de la réaction sont filtrés puis le solvant est partiellement évaporé. La phase organique est lavée trois fois par 100 mL d'une solution saline (3%) puis séchée sur $MgSO_4$. Après filtration et évaporation

totale du solvant sous pression réduite un solide brut est obtenu. Ce dernier est lavé par 100 mL de MeOH. Finalement, une poudre blanche est récupérée (m=12,5 g, R= 87%, $M_{Chol-OTS}$=555 g/mol) après séchage sous vide toute la nuit.

L'avancement de la réaction est suivi par chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant le mélange éther de pétrole/acétate d'éthyle (9V : 1V) comme éluant et une solution d'acide phosphomolybdique (2%) dans l'éthanol comme révélateur. Le tableau I regroupe les rapports frontaux (R_f) des différents composés révélés au cours de la réaction.

Tableau 1. R_f des différents composants du milieu réactionnel de la première étape.

Composé	Cholestérol	Chol-Cl**	TsCl*	Chol-OTs
R_f	0,3	0,45	0,6	0,6

*réactif en excès révélé par UV.
**produit formé par réaction secondaire.

I.2.1.2 2ème étape : synthèse du DEGChol

Le rapport molaire Chol-OTs/DEG = 1/30 est utilisé. Un mélange de 10 g de Chol-OTs ($18,5\times10^{-3}$ mol) et 52,7 mL de DEG (555×10^{-3} mol) dans 50 mL du dioxane est porté à reflux (100 °C) pendant 2 h. Après évaporation du dioxane, le CholDEG est extrait de la phase DEG par décantation en utilisant 100 mL d'éther de pétrole. Après évaporation de l'éther du pétrole, le produit brut obtenu est solubilisé dans 50 mL de CH_2Cl_2 puis lavé trois fois avec une solution saline 3%. Ensuite, la phase organique est séchée dans $MgSO_4$. Finalement, après filtration et évaporation du solvant, un liquide brut visqueux est obtenu.

L'avancement de la réaction est suivi par chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant le mélange éther de pétrole/acétate d'éthyle (9V : 1V) comme éluant et une solution d'acide phosphomolybdique (2%) dans l'éthanol comme révélateur. Le tableau II regroupe les rapports frontaux (R_f) des différents composés révélés au cours de la réaction.

Tableau 2. R_f des différents composants du milieu réactionnel de la deuxième étape

Composé	DEGChol	Chol-OTs	Chol-Cl	Chol=*
R_f	0,1	0,6	0,45	1

*produit insaturé formé par la réaction secondaire d'élimination à haute température.

Le produit brut est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (0,063 – 0,2 mm) en utilisant le mélange éther de pétrole/acétate d'éthyle (9V : 1V) comme éluant et une

solution d'acide phosphomolybdique (2%) dans l'éthanol comme révélateur. Après purification un liquide jaune très visqueux est obtenu ($M_{DEGChol}$= 430 g/mol) avec un rendement massique égale à 90%.

I.2.1.3 3ème étape: synthèse de l'ADEGChol

Le rapport molaire DEGChol/Et_3N/ACl = 1/3/1,5 est utilisé. 2,7 mL de chlorure d'acryloyle (25×10^{-3} mol) sont solubilisés dans 5 mL de dichlorométhane puis ajoutés goutte à goutte à 0°C à un mélange de 8 g de DEGChol (17×10^{-3} mol) et 7 mL de NEt_3 (51×10^{-3} mol) dans 80 mL du dichlorométhane. Après 2 heures de réaction à température ambiante le solvant est partiellement évaporé. Le mélange réactionnel est lavé avec 100 mL d'une solution saline (3%), puis séché par $MgSO_4$. Après filtration, un solide brut est récupéré après évaporation du dichlorométhane.

L'avancement de la réaction est suivi par chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant le mélange éther de pétrole/acétate d'éthyle (7V : 3V) comme éluant et une solution d'acide phosphomolybdique (2%) dans l'éthanol comme révélateur. Le tableau III regroupe les rapports frontaux (R_f) des différents composés révélés au cours de la réaction.

Tableau 3 R_f des différents composants du milieu réactionnel de la troisième étape

Composé	DEGChol	ADEGChol
R_f	0,3	0,8

Le produit brut est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (0,063 – 0,2 mm) en utilisant le mélange éther de pétrole/acétate d'éthyle (7V : 3V) comme éluant. Après purification une poudre blanche est obtenue ($M_{ADEGChol}$= 524 g/mol) avec un rendement massique égal à 66%.

I.2.2 Synthèse du monomère AChol

La synthèse du monomère Achol est réalisée selon le protocole expérimental décrit dans la littérature [2]. Une solution de chloroformate de cholestéroyle (9 g, 20×10^{-3} mol) dans 20 ml de CH_2Cl_2 est ajoutée goutte à goutte à 0°C à une solution d'acrylate de 2-hydroxyéthyle (13 ml, 113×10^{-3} mol, 5,65 équivalent) et 1,8 ml de pyridine et 20 ml de CH_2Cl_2. Le mélange réactionnel est agité pendant 24 h à température ambiante. La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince dans le CH_2Cl_2 et stoppée lorsque la tâche correspondante

au chloroformate a totalement disparue. (R_f du AChol =0,6 en utilisant le CH_2Cl_2 comme éluant). Le mélange réactionnel obtenu est dilué avec 125 ml de CH_2Cl_2 et lavé avec une solution HCl (1N, 30 ml), puis avec une solution aqueuse 3% jusqu'à ce qu'à ce que le pH du mélange se stabilise à 7. La phase organique extraite est séchée sur $MgSO_4$, filtrée à vide. Un solide est obtenu après évaporation des solvants. La purification du produit est réalisée par recristallisation dans un mélange éthanol-acétone (V/V : 4/1). Une poudre blanche est obtenue après séchage sous vide à T_{amb}. Le rendement de la réaction est de 84%.

I.3 STABILITE DES MONOMERES EN MILIEU BASIQUE

100 mg de monomères ADEGChol et AChol (0,19 mmol) sont solubilisés séparément dans 10 mL d'un mélange de solvants de qualités techniques (présence de traces d'eau) THF/MeOH (70/30, v/v). Une solution basique de KOH (1M dans MeOH) est ensuite ajoutée afin d'obtenir un rapport molaire $n_{KOH}/n_{acrylate}$ égal à 0,09 mole de KOH par mole de monomère ADEGChol ou AChol. Après 4 h d'agitation à température ambiante, le produit obtenu est récupéré par précipitation par le MeOH. Après évaporation de ce dernier, les produits obtenus ont été analysés par Infra-Rouge.

I.4 HOMOPOLYMERISATION DU MONOMERE ADEGCHOL

I.4.1 Synthèse des ligands

Les ligands N-(*n*-propyl)-2-pyridylméthanimine (PPMI) et N-(n-octyl)-2-pyridylméth-animine (OPMI) ont été élaborés selon le protocole expérimental décrit dans la littérature [1]. Dans ce qui suit nous présenterons seulement le protocole de synthèse du ligand OPMI. Le PPMI peut être élaboré selon le même mode opératoire en remplaçant la n-propylamine par la n-octylamine.

20,7 mL de n-octylamine (125×10^{-3} mol) sont ajoutés goutte à goutte à 0 °C à une solution de 10 mL de pyridine-2-carboxaldéhyde (105×10^{-3} mol) dans le diéthyléther (12,5 mL). Après addition complète de l'amine, le mélange réactionnel est agité pendant 2 h à température ambiante en présence de 2,5 g de sulfate de magnésium anhydre. La solution est ensuite filtrée puis le solvant est éliminé par évaporation. Le produit brut est purifié par distillation sous pression réduite à 130 °C puis stocké au frais. La caractérisation du produit final par RMN ^1H dans le $CDCl_3$ montre un produit pur (figure 1). Le rendement massique de cette réaction est supérieur à 94%.

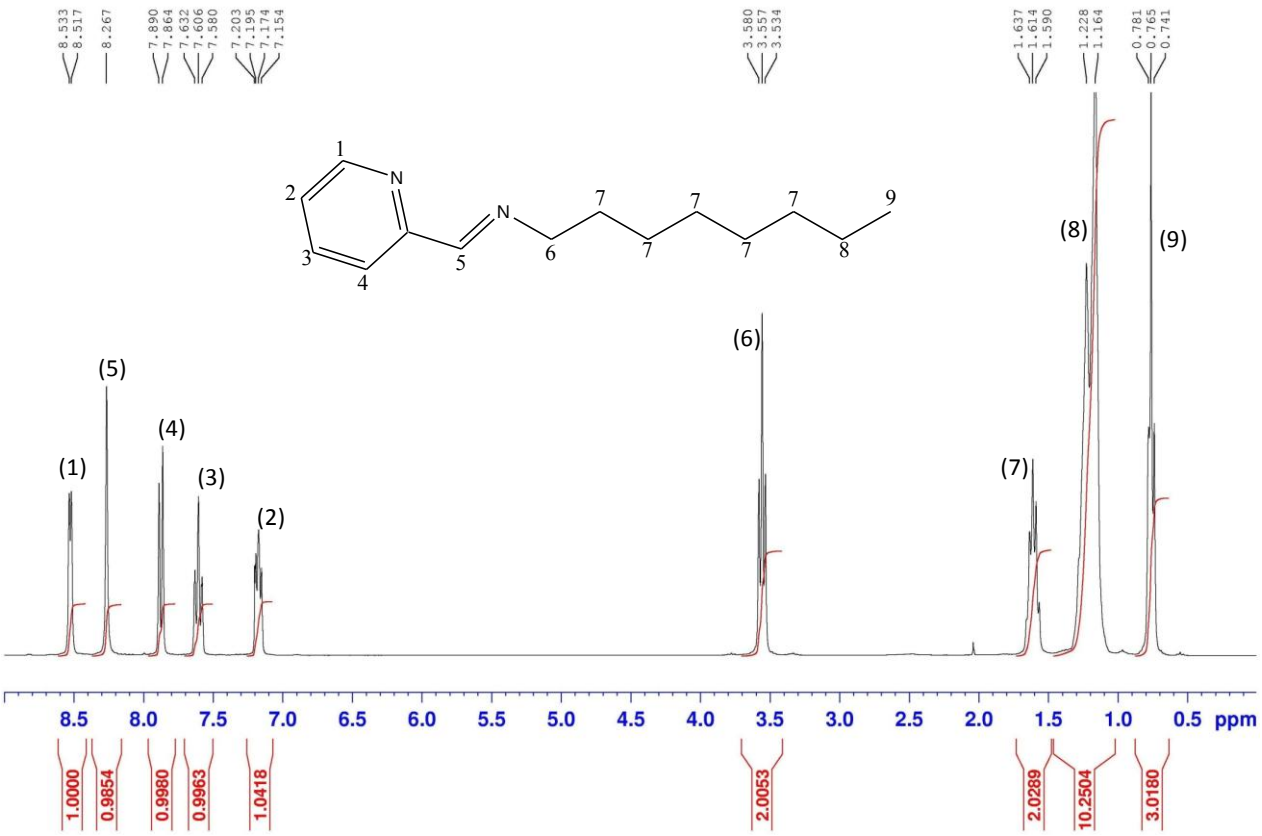


Figure 1. Spectre RMN ^{1}H dans le $CDCl_3$ du N-(n-octyl)-2-pyridylméthanimine (OPMI).

I.4.2 ATRP du monomère ADEGChol à partir de l'EiBr

Plusieurs conditions ont été testées pour la mise au point des conditions opératoires de l'ATRP de l'ADEGChol en utilisant un amorceur modèle (2-bromoisobutanoate d'éthyle (E*i*Br)). Un exemple de polymérisation est décrit en présence du ligand PMDETA. Dans une polymérisation typique, le rapport molaire $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^IBr]_0/[PMDETA]_0$ = 50/1/1/1 et $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L sont utilisés. Dans un schlenk préalablement flambé, 1 g ($1{,}9\times10^{-3}$ mol) de monomère ADEGChol et 7,97 µL de ligand PMDETA ($0{,}038 \times 10^{-3}$ mol) sont solubilisés sous azote dans 1 ml de solvant (THF ou toluène). Le mélange est ensuite dégazé par un cycle congélation-décongélation sous vide. Puis 5,48 mg de Cu^IBr (0.038×10^{-3} mol) sont introduits sous azote dans le schlenk. Le mélange réactionnel est dégazé à nouveau par trois cycles congélation-décongélation sous vide. Ensuite, 5,6 µL d'E*i*Br ($0{,}038\times10^{-3}$ mol) sont ajoutés sous azote au milieu réactionnel. Finalement, le milieu réactionnel est chauffé à la température souhaitée (60°C ou 80°C).

Lorsque l'OPMI est utilisé comme ligand, le protocole utilisé reste le même sauf qu'on utilise le rapport $[Cu^IBr]_0/[OPMI]_0$ =1/2.

Des prélèvements sont effectués sous azote pendant la polymérisation. Une petite partie du prélèvement est caractérisée par RMN ^{1}H dans le $CDCl_3$ afin d'estimer l'avancement de la polymérisation. L'autre partie est purifiée par précipitation par un mélange éthanol/acétone (80/20, v/v) puis analysée par SEC-MALLS dans le THF afin d'estimer la masse molaire de l'homopolymère.

I.5 SYNTHESE DES GLYCOPOLYMERES DEX-G-PADEGCHOL

La synthèse des glycopolymères Dex-g-PADEGChol est effectuée en quatre étapes. Les deux premières étapes consistent à synthétiser le macroamorceur DexAcBr. La troisième étape est le siège de la croissance des greffons PADEGChol à partir de ce macroamorceur. La déprotection des fonctions hydroxyle du tronc dextrane est réalisée lors de la quatrième étape. La synthèse des macroamorceurs DexAcBr a été adaptée à partir du protocole expérimental mis au point au LCPM et décrit dans la littérature [3].

I.5.1 Acétylation des fonctions hydroxyle du dextrane (1ère étape)

86 ml de DMSO fraîchement distillé sur paroi froide sont ajoutés par canule sous N_2 sur 4,8 g de dextrane ($8{,}8\times10^{-2}$ mol de fonctions hydroxyle) préséché. Le dextrane est alors dissous sous agitation à température ambiante. 37 ml de triéthylamine (3 équivalents / OH) sont ajoutés sous courant d'azote sur 545 mg de DMAP (0,05 équivalent / OH). Une fois le DMAP dissous, le mélange catalytique est ajouté à la solution de dextrane sous courant d'azote via une canule préalablement flambée. Pour un rapport molaire anhydride/fonctions hydroxyle du dextrane égal à 0,7, 5,88 ml d'anhydride acétique ($6{,}2\times10^{-2}$ mol) sont ajoutés sous flux d'azote à l'aide d'une seringue préflambée. Après 20 h de réaction à 50 °C, le DMSO est évaporé puis le dextrane partiellement acétylé (DexAc) est récupéré par précipitation par le MeOH.

I.5.2 Fixation des groupements amorceurs sur un $DexAc_{71}$ (2ème étape)

90 ml de THF fraichement distillé sont ajoutés par canule sous pression d'azote sur 5 g de dextrane acétylé $DexAc_{71}$ ($1{,}73\times10^{-2}$ mol de fonctions hydroxyle résiduelles) séché une nuit à 100 °C. Le $DexAc_{71}$ est alors dissous à température ambiante. 2,4 ml de NEt_3 ($1{,}73\times10^{2}$ mol) sont ajoutés sous N_2 par seringue préflambée. La solution de dextrane acétylé est placée dans un bain froid à 0 °C pendant 15 min. Pour un rapport molaire bromure d'acyle/OR du dextrane (R étant soit un proton soit un groupement acétate) égal à 0,03, 221

µl de bromure 2-bromoisobutanoyle ($1,78\times10^{-3}$ mol) sont ajoutés sous N_2 par seringue préflambée. Après 24 h de réaction et filtration des sels formés au cours de la réaction, le THF est partiellement évaporé. le THF est partiellement évaporé puis le DexAc est récupéré par précipitation par le MeOH..

I.5.3 Croissance des greffons PADEGChol (3ème étape)

Dans une polymérisation typique en présence du macroamorceur $DexAc_{71}Br_1$, les conditions opératoires utilisées sont : 60 °C, $[ADEGChol]_0$=1,9 mol/L, $[Br]_0$=0,038 mol/L, et le rapport molaire : $[ADEGChol]_0/[Br]_0/[PMDETA]_0/[Cu^IBr]_0$= 50/1/1/1. $[Br]_0$ étant la concentration initiale des groupements amorceurs dans le milieu réactionnel. Dans un schlenk préalablement flambé, 1,3 g de macroamorceur $DexAc_{71}Br_1$ (5.09×10^{-3} mol) sont solubilisés dans 4 mL du THF fraichement distillé. Puis 31,87 µL de ligand PMDETA ($0,15\times10^{-3}$ mol). Le mélange est ensuite dégazé par un cycle congélation-décongélation sous vide. Puis 5,48 mg de Cu^IBr (0.038×10^{-3} mol) sont introduits sous azote dans le schlenk. Le mélange réactionnel est dégazé à nouveau par trois cycles congélation-décongélation sous vide. Finalement, le milieu réactionnel est chauffé pendant 10 min à 60 °C à l'aide d'un bain d'huile préalablement chauffé. La polymérisation est amorcée après l'ajout de 4 g de monomère ADEGChol ($7,6\times10^{-3}$ mol) sous azote dans le milieu réactionnel. La polymérisation est désactivée en exposant le milieu réactionnel à l'air libre. Une partie du prélèvement est caractérisée par RMN ^1H dans le $CDCl_3$ afin d'estimer la conversion de la polymérisation. L'autre partie est purifiée par précipitation par un mélange éthanol/acétone (70/30, v/v) puis analysée par RMN ^1H (dans le $CDCl_3$ ou le DMSO-d_6) et par SEC-MALLS dans le THF.

I.5.4 Déprotection des fonctions acétate (4ème étape)

100 mg d'un glycopolymère $DexAc_{\tau Ac}$-g-PDEGCholA sont solubilisés à température ambiante dans 10 mL d'un mélange de solvant de qualité technique (présence de traces d'eau) THF/MeOH (70/30, v/v). Une quantité appropriée d'une solution basique de KOH (1 mol/L dans MeOH) est ensuite ajoutée, correspondant au rapport molaire n_{KOH}/n_{ester} égal à 0,09 mole de KOH par mole de fonction ester sur le dextrane. Après 4 h de réaction, le glycopolymère amphiphile Dex-g-PADEGChol est récupéré par précipitation par MeOH puis analysé par RMN ^1H dans le $CDCl_3$ ou DMSO-d_6.

I.6 STABILITE DES GLYCOPOLYMERES EN MILIEU BASIQUE

La stabilité des glycopolymères DexAc-g-PADEGChol dans les conditions basiques de déprotection a été vérifiée indirectement, en étudiant la stabilité d'un macroamorceur DexAcBr et d'un homopolymère PADEGChol.

I.6.1 Stabilité du macroamorceur DexAcBr

100 mg d'un macroamorceur DexAcBr ont été solubilisés dans 10 mL d'un mélange de solvants de qualités techniques THF/MeOH (70/30, v/v). Ensuite, une solution basique de KOH (1M dans MeOH) a été ajoutée afin d'obtenir un rapport molaire n_{KOH}/n_{Ac+Br} égal à 0,09 mole de KOH par mole de fonction (acétate + groupement amorceur) sur le dextrane. Après 4 h d'agitation à température ambiante, le produit obtenu est précipité par le MeOH. Après évaporation de ce dernier, les produits obtenus ont été analysés par RMN ^{1}H dans le DMSO-d_6 et par SEC-MALLS dans l'eau/$NaNO_3$ (1M).

I.6.2 Stabilité des greffons PADEGChol

Le mode opératoire utilisé dans ce cas est analogue à celui utilisé pour étudier la stabilité du macroamorceur DexAcBr présenté dans le paragraphe précédent. Sauf que la quantité de la solution KOH (1M dans MeOH) utilisée correspond au rapport n_{KOH}/n_{ester} égal à 0,09 mole de KOH par mole de fonctions esters présentes dans l'homopolymère PADEGChol.

I.7 AUTO-ORGANISATION DES GLYCOPOLYMERES DEX-G-PADEGCHOL

Dans un premier temps, le glycopolymère Dex-g-PADEGChol a été solubilisé dans le THF ou dans le DMSO (à 100 °C) pendant 24 h. La solution obtenue est placée dans une membrane de dialyse et placée contre l'eau milli-Q pendant 48 h afin d'éliminer le solvant organique employé (DMSO ou THF). La concentration massique finale du glycopolymère dans la phase aqueuse est déterminée en estimant le volume de l'eau introduit dans la membrane de dialyse.

II. TECHNIQUES DE CARACTERISATION

II.1 SPECTROSCOPIE PAR RESONANCE NUCLEAIRE MAGNETIQUE

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est une technique spectroscopique fondée sur la mesure de l'absorption d'une radiation dans le domaine des fréquences radio (10^7–10^6 Hz ou $\lambda \approx 10^4$ cm avec des énergies $\approx 5.10^{-2}$ J.mol^{-1}) par un noyau atomique dans un champ magnétique fort. L'interaction se produit avec la composante magnétique plutôt qu'avec la composante électrique de la radiation électromagnétique. Elle constitue l'une des plus puissantes méthodes de détermination de la structure des espèces aussi bien organiques qu'inorganiques. Elle est également utilisée dans la détermination quantitative des espèces absorbantes.

Lors de notre travail, les spectres RMN ^{1}H ont été réalisés à 25°C à l'aide d'un spectromètre Brüker Avance 300 avec un champ 300,13 MHz. Un programme est utilisé afin de déterminer la concentration de la solution de polymère dans le tube RMN et ainsi adapter au mieux le nombre de scans à réaliser :

[Polymère] = 10 g/L
Nombre de scans : 64-128
Points d'acquisition : 32 Ko.
Fenêtre d'apodisation : exponentielle décroissance. LB=0,3 Hz.

II.2 CHROMATOGRAPHIE D'EXCLUSION STERIQUE

La chromatographie d'exclusion stérique (SEC) est une chromatographie en phase liquide dans laquelle la phase stationnaire est un gel réticulé poreux disposé dans une colonne chromatographique et gonflé par la phase mobile. Son principe est basé sur la rétention sélective des macromolécules en solution en fonction de leur volume hydrodynamique. Cette technique permet d'estimer les masses molaires moyennes et la dispersité des polymères (Đ). Le couplage avec un détecteur de diffusion de la lumière a la particularité de fournir la masse molaire absolue tout au long de la distribution du polymère, éliminant ainsi l'étalonnage du jeu de colonnes, à condition de connaître le dn/dc de l'chantillon

Dans notre étude, et selon la nature hydrosoluble ou non des produits, deux systèmes (en phase aqueuse ou en phase organique) ont été employés.

II.2.1 Phase aqueuse

- *Appareillage :*

L'appareillage de SEC en phase aqueuse utilisé est constitué d'une pompe Waters 515 (débit = 0,7mL/min), d'un dégazeur (Degazys DG 1310, Uniflow), d'une boucle d'injection de 200 µl et d'une série de deux colonnes PL aquagel-OH 40 et 50 (8 µm) avec une pré-colonne de même type. Un photodiffusiomètre de modèle miniDawn (Wyatt Technology Corporation) (λ= 690 nm) est situé à la sortie des colonnes. Il est constitué de trois photodiodes qui mesurent l'intensité diffusée à 45, 90 et 140°. Un réfractomètre différentiel de type Merk RI-71 est également installé en série.

- *Mode opératoire :*

L'éluant eau/NaNO3 (0,1M) est préparé avec de l'eau milli-Q (système de filtration Millipore), puis filtré sur membrane Millipore de 0,1µm. Les solutions de polymères (10 g/L) sont préparées la veille dans l'éluant, puis filtrées sur des filtres Millex HA de 0,2 µm. Les solutions sont injectées au moins deux fois pour s'assurer de la reproductibilité des résultats. La valeur du rapport dn/dc = 0,146 est utilisée dans le cas du dextrane ou dans le cas des dérivés déprotégés (HDexAc et HdexAcBr).

II.2.2 Phase organique

- *Appareillage :*

L'appareillage de la SEC en phase organique (THF) utilisé est constitué d'une pompe Waters 515 (débit = 0,7mL/min), d'un dégazeur AF (waters in-line), d'une boucle d'injection de 100 µl et d'une série de trois colonnes PLgel 5µm, 300 mm × 7,5 mm, (10^5 Å, 10^3 Å, 100 Å) avec une pré-colonne de même type. Un détecteur de diffusion de la lumière de modèle mini Dawn Treos (Wyatt Technology Corporation) (λ= 658 nm) est situé à la sortie des colonnes. Il est constitué de trois photodiodes qui mesurent l'intensité diffusée à 45, 90 et 140°. Un réfractomètre différentiel de type OPTILAB rex (Wyatt Technology Corporation) est également installé en série. L'appareil est équipé d'un passeur d'échantillon de type Waters 2707.

- *Mode opératoire :*

Les solutions à 10 g/L de l'échantillon à caractériser (ADEGChol, PADEGChol, DexAc, DexAcBr ou DexAc-g-PADEGChol) sont préparées la veille dans le THF, puis filtrées sur des filtres Millex HA de 0,2 µm. Les solutions sont injectées au moins deux fois. La valeur du rapport dn/dc = 0,111 de l'homopolymère PADEGChol a été évaluée à partir de

plusieurs solutions de concentrations connues de PADEGChol dans le THF et en utilisant un réfractomètre différentiel de type Waters 410. Cette valeur a été utilisée pour déterminer la masse molaire des copolymères protégés (DexAc-g-PADEGChol) dont la fraction massique en greffons PADEGChol est supérieure à 70%.

II.3 INFRA-ROUGE A TRANSFORMEE DE FOURIER (TFIR)

La TFIR est une technique de caractérisation des échantillons en poudre, rapide, non destructive, permettant l'analyse de surface de matériaux ayant une forte absorbance. Dans notre cas, le spectromètre utilisé (Tensor 27, Brucker Optics) est équipé d'une source lumineuse émettant des longueurs d'onde dans l'infrarouge-moyen et d'un détecteur de type DLaTGS.

Les monomères ADEGChol et AChol (sous forme de poudres) ont été séchés une nuit à 40 °C sous vide avant l'analyse.

II.4 TENSION INTERFACIALE

La technique utilisée est celle de l'anneau de Du Noüy. Ce système consiste en un anneau suspendu au bras d'une balance tarée. Il s'agit de positionner l'anneau à l'interface de la solution de polymère et de l'eau milli-Q, puis de le remonter jusqu'à la position limite où l'anneau est uniquement retenu par les molécules présentes à la surface de la solution. La tension de surface de la solution se manifeste alors par la formation d'un ménisque de solution suspendu à l'anneau (voir figure 2). La force de rétention F de ce ménisque est mesurée et est liée à la tension interfaciale (σ) par la relation suivante : $F = p \cdot \sigma \cdot \cos\theta$. (p étant le périmètre immergé, σ la tension interfaciale et θ l'angle de contact).

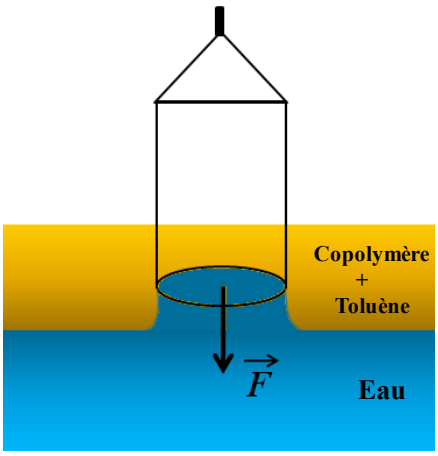


Figure 2. Anneau de Noüy utilisé pour la mesure de la tension interfaciale entre une solution du copolymère dans le toluène et l'eau.

Les piluliers utilisés sont préalablement nettoyés avec de l'acide sulfurique (afin d'éliminer toute trace organique) puis abondamment rincés à l'eau et séchés. Une solution mère du polymère à étudier est préparée 48h avant la mesure (solubilisation pendant 24h à température ambiante). Les solutions de polymères à différentes concentrations sont préparées puis placées la veille directement dans les godets de mesure, une quantité identique d'eau milli-Q est alors ajoutée au dessus. Les solutions biphasées ainsi obtenues sont laissées au repos pendant 24h à température ambiante et à l'abri de la lumière. Les mesures de tension superficielle sont effectuées à l'aide d'un tensiomètre automatique Kruss Easy Dyne. Le pilulier contenant la solution est maintenu à 25°C dans un bain thermostaté.

II.5 PROPRIETES MESOMORPHES

L'étude des propriétés mésomorphes des monomères (AChol et ADEGChol), de l'homopolymère PADEGChol et des copolymères Dex-g-PADEGChol ont été réalisés par nos collaborateurs:

II.5.1 Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

Les analyses par DSC ont été réalisées par nos collègues à l'Institut Curie en utilisant un appareil de type Perkin-Elmer DSC7 calibré à l'aide d'un kit de calibration Perkin-Elmer indium pour les variations de température et d'enthalpie (mp, 156,6 °C et ΔH = 6,80 cal/g). Les échantillons ont été analysés pour des températures comprises entre -10 et 210°C avec des vitesses de chauffe et de refroidissement de 5 ou 10°C /min. Les températures de transition vitreuse (Tg) ont été déterminées à la demi Cp extrapolé au point Cp et les températures de transition cristal-liquide (T_{CL-I}) au sommet du pic dans les thermogrammes.

II.5.2 Calorimétrie différentielle à balayage à température modulée (MDSC)

Cette technique est une version évoluée de DSC tradiotionnelle. Grâce à l'application d'une rompe de température sinusoïdale ($T= \sin(\omega t)$) à la place d'une rompe linéaire, cette technique permet de séparer les évènements thermiques complexes en leurs composantes: capacité calorifique (Cp) et cinétique :

$$\frac{dQ}{dt} = C_p \frac{dT}{dt} + f(T,t)$$

Flux total = composante Cp + composante cinétique

La décomposition des signaux permet ainsi d'obtenir en plus du flux total, in flux inversible et un flux non inversible :

- Dans le cas de la composante Cp, le flux enregistré en fonction de la température est appelé « flux inversible ». Il permet de détecter des phénomènes tels que la transition vitreuse et la fusion de l'échantillon analysé.
- Dans le cas de la composante cinétique, le flux enregistré en fonction de la température est appelé « flux non inversible ». Il permet de détecter des transitions relatives à plusieurs événements thermiques tels que : relaxation enthalpique, cristallisation, évaporation, réticulation, oxydation, décomposition,…

La figure 3 montre un exemple d'une analyse MDSC effectuée sur le glycopolymère $DexAc_{69}$-g^5-PADEGChol[71] :

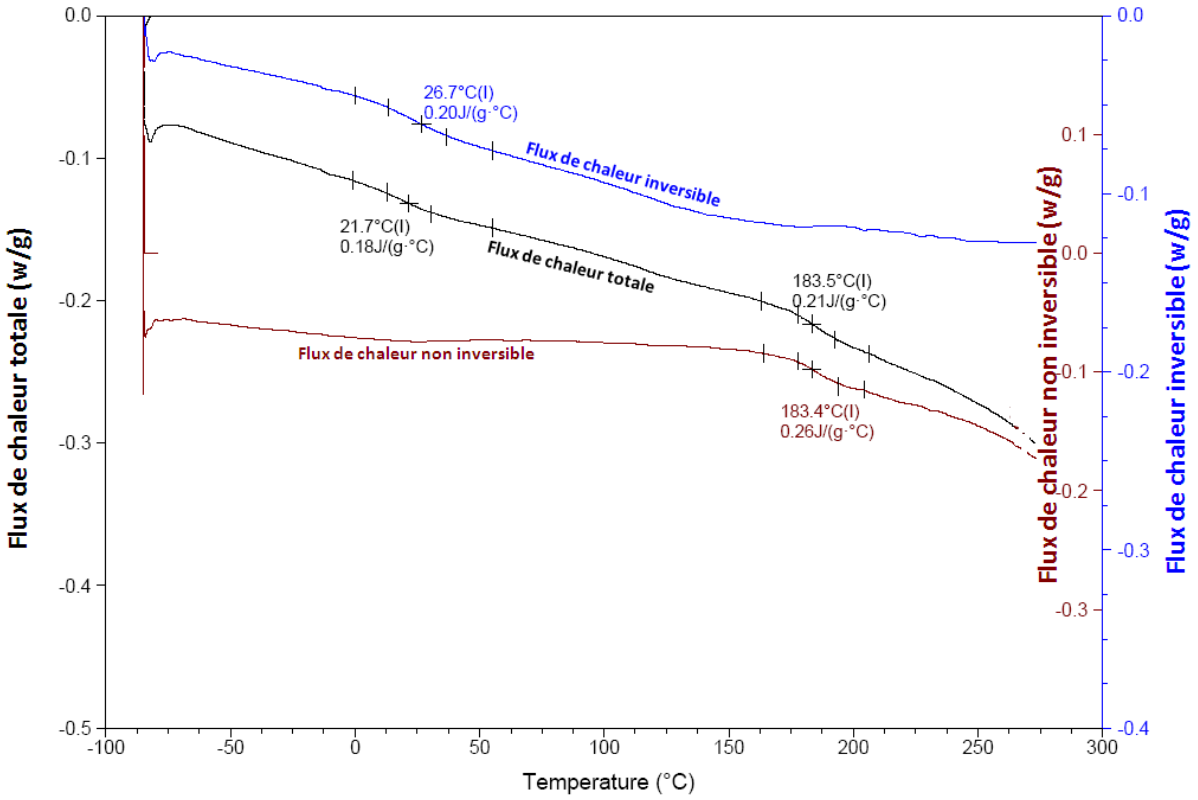


Figure 3. Thermogramme MDSC enregistré dans le cas du $DexAc_{69}$-g^5-PADEGChol[71] avec une vitesse de chauffage de 2 °C.min^{-1}. Les flux total, inversible et non inversible représentés correspondent au 2ème cycle de chauffage.

II.5.3 Microscope optique a lumière polarisante (MOP)

Les propriétés mésomorphes des monomères (AChol et ADEGChol), de l'homopolymère PADEGChol et des copolymères Dex-g-PADEGChol ont été analysées en masse à l'aide du microscope optique polarisant de type Leitz Ortholux munie d'une plaque chauffante de type Mettler FP 82. (Collaboration Institut Curie).

Principe

Un microscope optique entre polariseurs croises est composé d'une source lumineuse, d'un polariseur, d'un porte échantillon, d'une platine chauffante, d'un polariseur perpendiculaire au premier nomme également analyseur et enfin d'un dispositif classique de microscopie optique (figure 4). La lumière passe tout d'abord par le premier polariseur, puis par l'échantillon disposé sur une platine chauffante et maintenu serré entre lame et lamelle et enfin par le deuxième polariseur perpendiculaire au premier. Le liquide isotrope ne possède qu'un seul indice de réfraction. Le plan de polarisation de la lumière reste donc inchangé lorsque la lumière polarisée traverse l'échantillon et au final cette dernière est bloquée par l'analyseur. L'état isotrope apparait donc noir entre polariseur et analyseur croises. La phase cristal liquide est biréfringente. Comme dans la plupart des phases cristallines de minéraux, la lumière n'aura pas la même vitesse suivant la direction de polarisation. Le rayon lumineux se dédouble en deux rayons de polarisation différents qui se propagent avec des vitesses différentes (suivant l'indice de réfraction ordinaire n_o ou extra-ordinaire n_e).

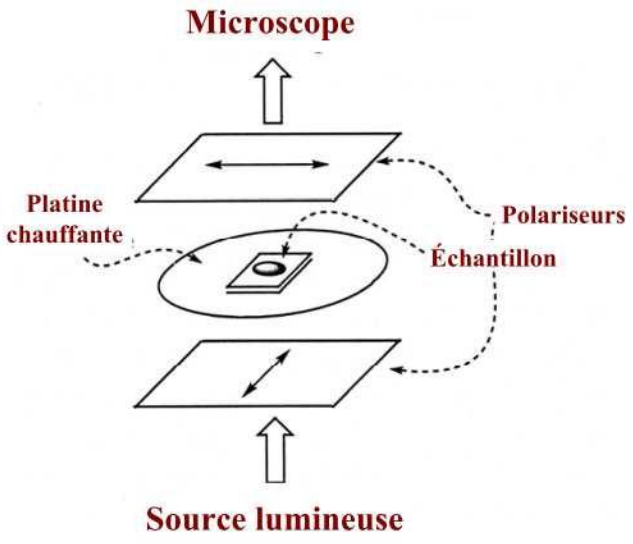


Figure 4. Représentation schématique d'un microscope optique muni de polariseur et analyseur croises.

II.5.4 Diffraction des rayons X (DRX)

Les structures cristal liquide de l'homopolymère PADEGChol et du copolymère en masse ont été étudiées à température ambiante par diffraction des rayons X avec un rayonnement monochromatique CuKα (λ = 1,54 Å) (1,5 kW). L'homopolymère est introduit sous forme de poudre dans un capillaire en verre de 1 mm de diamètre et chauffé à 200 °C dans un bain d'huile (température supérieure à T_{CL-I}) afin d'éliminer les bulles d'air, puis refroidi à température ambiante. Le copolymère Dex-g-PADEGChol plutôt visqueux est placé à l'extrémité d'une aiguille métallique, ou introduit dans un capillaire en verre de 1 mm de diamètre. Les diffractogrammes sont ensuite enregistrés sur des plaques photosensibles. Ces expériences ont été réalisées par Pierre-Antoine Albouy du Laboratoire de Physique des Solides à l'Université de Paris Sud (Orsay).

II.6 DIFFUSION DYNAMIQUE DE LA LUMIERE (DLS)

La diffusion dynamique de la lumière (DLS) permet d'estimer la taille des particules comprises entre 500 nm et 2 nm environ. Elle est basée sur le principe de diffusion de la lumière par des particules colloïdales soumises à des mouvements thermiques aléatoires. La diffusion de lumière varie avec le temps et peut être reliée au coefficient de diffusion des particules dans un milieu donné et donc, par la suite, à un diamètre de particule. Pour une population étroite de distribution de particules de taille submicronique et étroite, de particules au-dessous de 200nm, la DLS est une technique très efficace, rapide et précise.

L'appareil utilisé pour mesurer la taille des nano-objets composés de Dex-g-PADEGChol est appelé HPPS (High Performance Particle Sizer) de Malvern Instrument. Il possède un laser de type (He-Ne, 3,0 mW, 633 nm), un atténuateur automatique ou à transmission (100% à 0,0003%), un détecteur de type Avalanche Photodiode, Q,E > 50% à 633 nm, et permet un contrôle en régulation température entre 10 °C et 55 °C. Les mesures se font en rétro-diffusion à un angle d'observation de 173° ce qui permet d'étudier des dispersions relativement concentrées. La position de mesure du faisceau s'ajuste automatiquement en fonction de la concentration de l'échantillon pour éviter les effets de diffusion multiple.

La détermination de la taille des nano-objets a été effectuée à température ambiante, en utilisant une cuve en quartz après avoir dispersés les nano-objets dans le DMSO. Dans le cas des échantillons dispersés dans l'eau milli-Q, une cuve en plastique a été utilisée.

II.7 MICROSCOPE ELECTRONIQUE A TRANSMISSION (MET)

Les études de caractérisation morphologiques ont été menées à l'aide d'un microscope électronique à transmission Philips CM200 opérant à 200 kV (résolution par point : 0,27 nm, résolution en lignes : 0,14 nm). Il est équipé de deux caméras CCD (rapide et HR) et d'un spectromètre de dispersion d'énergies des photons X.

Caractéristiques techniques

Filament : LaB6
Tensions d'accélérations : 20, 40, 60, 80, 120, 160, 200 kV
Type de lentille : TWIN
Cs : 2 mm, Cc : 2 mm
Taille de sonde minimale : 2 nm
Résolution par point : 0.27 nm, résolution en lignes : 0.14 nm
Grandissement : x 50 à x 750 000

Préparation des échantillons

Une goutte de la solution aqueuse du glycopolymère Dex-g-PADEGChol est déposée sur une grille en cuivre. Après 3 minutes, l'excès de la solution est absorbé à l'aide d'un papier filtre. Une goutte d'une solution aqueuse d'acétate d'uranyle (2% en masse) est ensuite ajoutée sur la grille. Après 1 minute, l'excès de cette solution est absorbé à l'aide d'un papier filtre. La grille est finalement laissée à sécher pendant 5 minutes avant les mesures.

REFERENCES

(1) Haddleton, D. M.; Crossman, M. C.; Dana, B. H.; Duncalf, D. J.; Heming, A. M.; Kukulj, D.; Shooter, A. J. Atom transfer polymerization of methyl methacrylate mediated by alkylpyridylmethanimine type ligands, copper(I) bromide, and alkyl halides in hydrocarbon solution. *Macromolecules* **1999**, 32, 2110–2119.

(2) Shannon, P. J. Photopolymerization in cholesteric mesophases. *Macromolecules* **1984**, 17, 1873–1876.

(3) Dupayage, L.; Save, M.; Dellacherie, E.; Nouvel, C.; Six, J.-L. PMMA-grafted dextran glycopolymers by atom transfer radical polymerization. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2008**, 46, 7606–7620.

LISTE DES FIGURES

Partie I Chapitre I :
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Figure I-1. Schéma représentatif d'une prodrogue 7

Figure I-2. Composition d'un vecteur multifonctionnel 9

Figure I-3. Formules chimiques de quelques principes actifs transportés sous forme de nanocristaux. 10

Figure I-4. Nanosphère polymère 11

Figure I-5. Nanocapsule polymère. 12

Figure I-6. Exemples de techniques de préparation des nanogels : a) au sein d'un liposome, b) à la surface d'une nanoparticule d'or 13

Figure I-7. Schéma représentatif d'une nanoparticule lipidique solide (SLN). 14

Figure I-8. Schéma représentatif d'un dendrimère 15

Figure I-9. Influence des paramètres géométriques de la molécule amphiphile sur la morphologie de l'auto-organisation 17

Figure I-10. Représentation d'une micelle formée par auto-organisation de molécules amphiphiles. 18

Figure I-11. Auto-organisation des phospholipides sous forme de bicouche. (a) Formule générale des phospholipides. R1 et R2 sont des chaînes hydrocarbonées, dites grasses. (b) liposome conventionnel, (c) liposome furtif. 19

Figure I-12. (A) Schéma représentatif en 3D d'un demi- polymersome. Les blocs hydrophiles (bleu) forment les parois extérieure et intérieure de la vésicule, alors que l'épaisseur de la membrane est formée par rassemblement des blocs hydrophobes (rouge). (B) Image cryo-MET d'un polymersome obtenu par auto-organisation du copolymère poly(éthylène glycol)-b-polybutadiène (PEG-b-PB) 20

Figure I-13. Réhydratation d'un film de copolymères amphiphiles, (i) film, (ii) hydratation du film et séparation des phases, (iii) formation des lamelles par auto-assemblage des copolymères, (iv) expansion et formation de la bicouche, (v) détachement de la bicouche, (vi) minimisation de l'énergie par la formation de polymersomes. 22

Figure I-14. Structures probables des bicouches de polymersomes obtenues à partir de copolymères (A) blocs, (B) greffés ou (C) en étoile. 22

Figure I-15. Structures chimiques des copolymères greffés utilisés pour l'élaboration des polymersomes. 23

Figure I-16. Structures chimiques de quelques polymères rigides. 24

Figure I-17. Principales morphologies des mésogènes. (a) mésogènes calamitiques, (b) mésogènes discotiques. 25

Figure I-18. Diagramme de phase des molécules cristaux-liquides. T_m : température de transition d'un état solide à une mésophase, T_c : température claire, température de transition de la mésophase à un état liquide isotrope. $T_m < T < T_c$: gamme de température de la mésophase cristal-liquide. 26

Figure I-19. Exemples de mésogènes, (a, b) thermotropiques calamitiques et (c) thermotropique discotique, et (d, e) mésogènes lyotropiques. **27**

Figure I-20. Schéma représentatif des mésophases nématiques. (A) calamitiques N, (B) calamitiques obtenues par molécules chirales N, (C) discotiques N_D.* **28**

Figure I-21. Schéma représentatif des mésophases smectiques. (a) Smectique A (SmA), (b) Smectique A_1 (SmA1) (c) Smectique A_d (SmA_d) et (d) Smectique C (SmC). **29**

Figure I-22. Schéma représentatif d'une phase colonnaire obtenue à partir des mésogènes discotiques. **29**

Figure I-23. Thermogramme obtenu par calorimétrie différentielle à balayage d'une mésophase smectique. T_g : transition vitreuse (T_g), T_{CL-I} : transition cristal-liquide à un liquide isotropique. **30**

Figure I-24. Exemples de textures d'une mésophase : (a) nématique, (b) smectique A et (c) colonnaire (observation par microscope optique à lumière polarisante). **32**

Figure I-25. Schéma représentatif des clichés de la diffraction des rayons-X dans les cas des mésophases : (a) nématique et (b) smectique A. **32**

Figure I-26. Structure chimique du cholestérol. Les lettres A, B, C, D désignent les différents cycles constituant le noyau cyclopentano-perhydro-phénanthrénique. **34**

Figure I- 27. Structures chimiques de quelques copolymères à blocs amphiphiles porteurs de groupements cholestérol latéraux.(a) Poly(N- propargylamide de cholestéryle)-b-poly(N-propargylamide d'éthyle), (b) Poly(méthacrylate de cholestéryle) -b-poly(méthacrylate d'hydroxyéthyle), (c) poly(acrylate d'ascorbyle)-b-poly(acrylate de diéthylène glycol et de cholestéryle), (d) poly(éthylène glycol)-b-poly(acryloyloxyéthyl carbonate de cholestéryle), (e) Poly(acide acrylique)-co-poly(éthylène glycol)-b-poly(acryloyloxy tétraéthylène glycole carbonate et cholestéryle). (f) est un groupement cholestérique. **37**

Figure I- 28. Images cryo-MET des auto-organisations observées dans l'eau à partir d'une solution dioxane. (a) PEG_{114}-b-$PAChol_{60}$, (b) PEG_{45}-b-$PAChol_{10}$ et (c) PEG_{45}-b-$PAChol_{16}$. **38**

Figure I-29. Morphologies d'auto-organisations des PEG_{114}-b-$PAChol_m$ dans le système dioxane/eau, observées par MET (échelle = 200nm). (a) PEG_{114}-b-$PAChol_{20}$ (32/68), (b) PEG_{114}-b-$PAChol_{30}$ (24/76), (c) PEG_{114}-b-$PAChol_{37}$ (20/80), (d) PEG_{114}-b-$PAChol_{42}$ (18/82), (e) PEG_{114}-b-$PAChol_{50}$ (16/84), (f) PEG_{114}-b-$PAChol_{60}$ (14/86).(ratio massique blocs hydrophile/hydrophobe donné entre parenthèses). **40**

Figure I-30. Morphologies des auto-organisations du copolymère PEG_{45}-b-$PAChol_{10}$ obtenues dans le système (a) dioxane/eau (image obtenue par cryo-MET), (b) THF/eau (image obtenue par SEM) et du copolymère PEG_{45}-b-$PAChol_{44}$ obtenues dans le système (c) dioxane/eau (image obtenue par SEM) et (d) THF/eau (image obtenue par SEM) **41**

Figure I-31. Images MET de l'auto-organisation des copolymères (PAA-co-PEGA)-b-P(Chol-TEGA préparés par polymérisation RAFT dans un milieu dispersé Ethanol/Eau (95/5, v/v). Les copolymères présentent différentes longueurs du bloc hydrophobe : (a) Xn=20, (b) Xn=86 ..... **42**

Figure I- 32. Structures des unités de répétition des acides nucléiques et protéines. **43**

Figure I- 33. Structures chimiques de quelques polysaccharides. **44**

Figure I-34. Structure chimique du dextrane. Les unités glucopyranose sont majoritairement liées par des liaisons glycosidiques α (1→6) avec la présence de quelques branchements en α

(1→2), α (1→3) et α (1→4) selon la souche bactérienne. Dans la suite du manuscrit, on ne considèrera que les liaisons α (1→6). **45**

Figure I-35. Exemples de quelques principes actifs conjugués avec le dextrane (prodrogues) **49**

Figure I-36. Evolution du nombre des publications focalisées sur les glycopolymères entre 1968 et 2012. ..... **50**

Figure I-37. Structures chimiques de quelques glycomonomères étudiés dans la littérature . **51**

Figure I-38. Influence de la fraction massique du dextrane (f_{Dex}) dans le copolymère dex-b-PS sur la morphologie de l'auto-assemblage en solution aqueuse. Image du microscope à force atomique : micelles (A) f_{Dex} = 0,93. Polymersomes (B) f_{Dex} = 0,19, (C) f_{Dex}=0,08. ..... **70**

Figure I-39. Image MET des polymersomes formés à partir de l'auto-assemblage du copolymère Dex-b-PBLG **71**

Partie II
ELABORATION DE GLYCOPOLYMERES DEX-g-PADEGCHOL

Chapitre I :
Synthèse et homopolymérisation de l'ADEGChol par ATRP

Figure I-1. *Structures chimiques des monomères (a) Achol et (b) ADEGChol.* **80**

Figure I-2. Spectre RMN ^1H du cholestérol dans le $CDCl_3$. Attribution des pics à leur protons correspondant est inspirée des références (7,8). **85**

Figure I-3. Spectres RMN ^1H ($CDCl_3$) des produits : (A) cholestérol, (B) Chol-OTs, (C) DEGChol, (D) ADEGChol **86**

Figure I-4. Influence des conditions basiques sur la stabilité des monomères AChol et ADEGChol. Spectres Infrarouge du AChol (a) avant, (b) après le test de stabilité ; ADEGChol (c) avant, (b) après le test de stabilité. **89**

Figure I-5. Influence de la terminaison, de l'amorçage lent et du transfert sur (a) la cinétique de polymérisation, (b) l'évolution des masses molaires en fonction de la conversion. **91**

Figure I-6. Influence d'une variété de ligands azotés sur la constante d'équilibre K_{ATRP} des polymérisations amorcées par 2-bromoisobutanoate d'éthyle (EiBr) en présence de Cu^1Br dans l'acétonitrile à 22 °C. Couleur : rouge (N2), noir (N3), bleu (N4). Symbole :¶ (linéaire), Δ (étoile), ○ (cyclique), plein (amine/imine), vide (pyridine), moitié plein (mixte amine et pyridine) **100**

Figure I-7. Structures chimiques de quelques monomères acryliques polymérisés avec succès par ATRP : (a) acrylate de méthyle, (c) acrylate d'éthoxyéthyle, (d) acrylate d'allyle, (e) acrylate d'hydroxyéthyle, (f) acrylate de méthoxyéthyle, (g) acrylate de glycidyle, (h) acrylate de tert-butyle, (i) acrylate de butyle, (j) acrylate de 2-éthylhexyle, (k) acrylate d'adamantyle, (m) acrylate d'hexyle, (n) acrylate de lauryle, (o) acrylate d'octadécyle, (p)

acryloyloxyéthyl carbonate cholestéryle. L'ATRP n'est pas contrôlée pour l'acide acrylique (b) et l'acrylate de nitrobenzyle (l). **103**

Figure I-8. Ligands utilisés lors de l'ATRP de l'ADEGChol. **106**

Figure I-9. Spectre RMN ^1H dans le $CDCl_3$ d'un prélèvement brut du milieu réactionnel de l'ATRP de l'ADEGChol **107**

Figure I-10. Evolution du $ln([M]_0/[M]_t)$ et du taux de conversion en fonction du temps pour l' ATRP de l'ADEGChol dans le toluène à 60°C. $[ADEGChol]_0/[EBiB]_0/[Cu^IBr]_0/[PPMI]_0$ = 20/1/1/2. $[ADEGChol]_0$ = 1 mol/L. **108**

Figure I-11. Evolution du $ln([M]_0/[M]_t))$ en fonction du temps. ATRP de l'ADEGChol réalisées dans le toluène en présence du ligand OPMI; $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^IBr]_0/[OPMI]_0$=x/1/1/2. x= 50 pour les expériences à (♦) 60 °C et (■)100 °C. (●) x= 100 pour l'expérience à 80 °C. $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L. **110**

Figure I-12. Chromatogrammes SEC-MALLS dans le THF des PADEGChol obtenus lors de l'ATRP réalisée dans le toluène à 80°C ; $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^IBr]_0/[OPMI]_0$ = 100/1/1/2. $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L. (x= conversion). **110**

Figure I-13. Evolution du $ln([M]_0/[M]_t)$ en fonction de $t^{2/3}$. ATRP de l'ADEGChol réalisées dans le toluène en présence du ligand OPMI. $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^IBr]_0/[OPMI]_0$=x/1/1/2. x= 50 pour les expériences effectuées à (♦) 60 °C et à (■) 100 °C. (●) x= 100 est utilisé pour l'expérience réalisée à 80 °C. $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L. **111**

Figure I-14. Evolution du $ln([M]_0/[M]_t)$ en fonction du temps. ATRP de l'ADEGChol réalisées dans le toluène à 100 °C en présence du ligand OPMI; $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^IBr]_0/[OPMI]_0$ =50/1/1/2. (■) en absence de $Cu^{II}Br_2$, (○) en présence de 10% de $Cu^{II}Br_2$. $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L. **112**

Figure I-15. Evolution du $ln([M]_0/[M]_t)$ en fonction du temps. ATRP de l'ADEGChol réalisées en présence du ligand OPMI à 60°C. $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^IBr]_0/[OPMI]_0$ =x/1/1/2. $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L. Expériences réalisées (♦) dans le toluène (x=50) et dans le THF (▲) x=100 et (Δ) x=50. ..... **113**

Figure I-16. *Chromatogrammes SEC-MALLS dans le THF des PADEGChol obtenus lors de l'ATRP réalisée dans le THF à 60°C ; $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^IBr]_0/[OPMI]_0$ = 100/1/1/2. $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L. (x= conversion).* **114**

Figure I-17. Evolution des Mn (symboles pleins) et des Đ (symboles vides) en fonction de la conversion. ATRP de l'ADEGChol $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^IBr]_0/[OPMI]_0$=x/1/1/2, $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L. Expériences réalisées (♦) dans le toluène (x=50) et dans le THF : (▲) x=100 et (Δ) x=50. Mnthéoriques : (—) x=50 et (- - -) x=100. ..... **114**

Figure I-18. Evolution du $ln([M]_0/[M]_t)$ en fonction du temps. ATRP de l'ADEGChol réalisées dans le toluène à 80°C. $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^IBr]_0/[ligand]_0$ =100/1/1/z. $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L. (●) OPMI (z=2) et (■) PMDETA (z=1). **117**

Figure I-19. Chromatogrammes SEC-MALLS dans le THF des PADEGChol obtenus lors de l'ATRP réalisée dans le toluène à 80 °C. $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^IBr]_0/[PMDETA]_0$ = 100/1/1/1. $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L. (X= conversion). **118**

Figure I-20. Évolution des Mn (symboles pleins) et des Đ (symboles vides) en fonction de la conversion. ATRP de l'ADEGChol réalisées dans le toluène à 80°C. $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^IBr]_0/[ligand]_0$=100/1/1/z, $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L. en présence du ligand : (●) OPMI (z=2) et (■) PMDETA (z=1).— : Mnthéoriques . (dn/dc = 0,111). **118**

Figure I-21. Evolution du ln($[M]_0/[M]_t$) en fonction du temps. De l'ATRP de l'ADEGChol réalisée dans le toluène à 80°C. $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^IX]_0/[PMDETA]_0$ =100/1/1/1. $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L. (■) X = Br, (▲) X= Cl. **119**

Figure I-22. Évolution des Mn (symboles pleins) et des Đ (symboles vides) en fonction de la conversion. ATRP de l'ADEGChol réalisée dans le toluène à 80 °C. $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^IX]_0/[PMDETA]_0$ = 100/1/1/1, $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L. (■) X = Br, (▲) X= Cl .— : Mnthéoriques . (dn/dc = 0,111). **120**

Figure I-23. Evolution du ln($[M]_0/[M]_t$) en fonction du temps. ATRP de l'ADEGChol dans le THF à 60 °C. $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^IBr]_0/[Cu^{II}Br_2]_0/[PMDETA]_0$ =x/1/1/y/1. $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L. (♦) x=50, y=0. (▲) x=50, y=0,1, (●) x=100, y= 0. ..... **121**

Figure I-24. Évolution des Mn (symboles pleins) et des Đ (symboles vides) en fonction de la conversion. ATRP de l'ADEGChol réalisée dans le THF à 60 °C. $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^IBr]_0/[Cu^{II}Br_2]_0/[PMDETA]_0$ =x/1/1/y/1. $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L. x=50 : (♦) y=0, (▲) y=0,1, (—) Mnthéorique . x=100 : (●) y= 0, (- - -) Mnthéorique. dn/dc = 0,111. ..... **122**

Figure I-25. *Chromatogrammes SEC-MALLS dans le THF des PADEGChol obtenus lors de l'ATRP réalisée dans le THF à 60 °C ; $[ADEGChol]_0/[EiBr]_0/[Cu^IBr]_0/[PMDETA]_0$ = 100/1/1/1. $[ADEGChol]_0$ = 1,9 mol/L.(a) en absence de Cu^{II}, (b) en présence de 10% de Cu^{II}. (x=conversion).* **123**

Chapitre II :
Synthèse de glycopolymère Dex-g-PADEGChol

Figure II- 1 Spectres RMN ^1H du dextrane T_{40} dans le DMSO-d_6 (a), $DexAc_{64}$ dans le DMSO-d_6 (b) et dans le $CDCl_3$ (c). **131**

Figure II-2. Chromatogrammes SEC-MALLS dans le DMSO/$NaNO_3$(0,1 mol/L) d'un Dextrane T_{40}, du $DexAc_{67}$ et du $DexAc_{64}$. La base utilisée pour la synthèse des DexAc est indiquée entre parenthèses. Le dn/dc utilisé est égal à 0,074 pour le dextrane natif et à 0,022 pour les $DexAc_{67}$ et $DexAc_{64}$. **133**

Figure II-3. Spectres RMN ^1H du $DexAc_{64}Br_{10}$ dans le $CDCl_3$ (a) et dans le DMSO-d_6 (c) et de son précurseur $DexAc_{64}$ dans le $CDCl_3$ (b) et dans le DMSO-d_6 (d). **136**

Figure II-4. Influence du rapport molaire BriBBr/OR (OR correspond soit à une fonction OH ou à un groupement acétate) sur le taux en groupement amorceur (τ_{Br}). Expériences réalisées sur $DexAc_{70}$, à 25 °C pendant 20 h dans le THF, 3eq de NEt_3 par mole de fonctions OH résiduelles sur le $DexAc_{70}$. **137**

Figure II-5. Spectre RMN ^1H dans $CDCl_3$ du milieu réactionnel brut (1) greffons PADEGChol, (2) monomère résiduel ADEGChol. **139**

Figure II-6. Spectres RMN ^1H dans $CDCl_3$ (A) du glycopolymère $DexAc_{69}$-g^5-$PADEGChol^{71}$ et (B) de son précurseur $DexAc_{69}Br_{1,6}$. **141**

Figure II-7. Chromatogrammes SEC-MALLS dans le THF du $DexAc_{70}$-$g^{6,6}$-$PADEGChol^{64}$, du $DexAc_{70}Br_{2,2}$ et d'un PADEGChol ayant la même taille que les greffons. **142**

Figure II-8. Spectres RMN ^{1}H dans DMSO-d_6 des (a) dextrane T40 natif, (b) HDexAc$_{71}$Br$_1$: macroamorceur DexAc$_{71}$Br$_1$ ayant subit les conditions basiques douces d'hydrolyse et (c) macroamorceur DexAc$_{71}$Br$_1$. **149**

Figure II-9. Spectres RMN ^{1}H dans $CDCl_3$ des (a) DexAc$_{71}$-g^3-PADEGChol^{52}et (b) Dex-g^3-PADEGChol^{63}. **151**

Figure II-10. Spectres RMN ^{1}H dans DMSO-d_6 des (a) DexAc$_{71}$-g^3-PADEGChol^{52}, (b) Dex-g^3-PADEGChol^{63} et (c) dextrane T_{40} natif. **153**

Figure II-11. Les différentes actions possibles du milieu basique sur le glycopolymère DexAc-g-PADEGChol. **155**

Figure II-12. Chromatogrammes SEC-MALLS (eau/$NaNO_3$) d'un dextrane T_{40} natif, d'un dextrane (HDextrane) et d'un macroamorceur DexAcBr (HDexAcBr) ayant subit les conditions basiques de déprotection. **157**

Figure II-13. Chromatogrammes SEC-MALLS dans le THF d'un homopolymère (avant PADEGChol) et après (après HPADEGChol). **158**

Figure II-14. Spectres RMN ^{1}H dans le $CDCl_3$ d'un PADEGChol avant et après (HPADEGChol) le test d'hydrolyse et d'un DEGChol. **158**

Figure II-15. Illustration de la stabilité des trois fonctions ester présentes dans un glycopolymère DexAc-PADEGChol. **159**

Chapitre III :
Propriétés physico-chimiques et auto-assemblage des Dex-g-PADEGChol

Figure III-1. Thermogrammes DSC du monomère ADEGChol enregistrés avec une vitesse de chauffage 1 °C.min^{-1}. (1) : 1er cycle, chauffage. (2) : 2ème cycle, chauffage. (3) : 1er cycle, refroidissement. (4) : 2ème cycle, refroidissement. CL_{M1} et CL_{M2} sont des mésophases cristal-liquides monotropiques métastables. T_{M1} et T_{M2} sont des températures de transition cristal-liquides-liquide. T_f est la température de fusion de l'ADEGChol. **166**

Figure III-2. Thermogrammes DSC de PADEGChol enregistrés avec une vitesse de chauffage de 10 °C.min^{-1}. (1) : 2ème cycle, refroidissement du Dex-g^5-PADEGChol^{79}. (2) : 2ème cycle, refroidissement PADEGChol. (3) : 2ème cycle, chauffage du Dex-g^5-PADEGChol^{79}. (4) : 2ème cycle, chauffage du PADEGChol. $Tg_{,H}$ et $T_{g,C}$ sont respectivement les températures de transition vitreuses du PADEGChol et du Dex-g^5-PADEGChol^{79}. $T_{CL-I,H}$ et $T_{CL-I,C}$ sont respectivement les températures de transition d'un état cristal-liquide à un état liquide isotrope du PADEGChol et du Dex-g^5-PADEGChol^{79}. S_H et S_C sont respectivement les états solides du PADEGChol et du Dex-g^5-PADEGChol^{79}. CL_H et CL_C sont respectivement les états cristal-liquide du PADEGChol et du Dex-g^5-PADEGChol^{79}. L_H et L_C sont respectivement les états liquides isotropiques du PADEGChol et du Dex-g^5-PADEGChol^{79}. **167**

*Figure III-3. Images par microscope optique à lumière polarisée (MOP) (a) du monomère ADEGChol à 20 °C, (b) de l'homopolymère PADEGChol (*Mn = 24 300 g mol^{-1}) *à 155°C.* **170**

Figure III-4. Image par microscope optique à lumière polarisée (MOP) du copolymère Dex-g^{5}-PADEGChol^{79} à 130°C. **170**

Figure III-5. (a) Formule chimique et représentation schématique de l'ADEGChol. (b) Représentation schématique de la mésophase smectique interdigitée (SmA$_d$) de l'ADEGChol (CL$_{M1}$). d est la distance inter-lamellaire déterminée par DRX à 20 °C. l est la longueur de l'ADEGChol estimée par Chem Draw 3D. **171**

Figure III-6. (a) Intensité de la diffraction des rayons X en fonction de l'angle 2θ du PADEGChol (Mn = 24 300 g mol^{-1}), *effectuée à 20 °C. Le premier pic (4,51 nm) correspond à la période de l'ordre smectique. Les deux autres pics (2,272 nm et 1,513 nm) sont des harmoniques du premier pic. Le large pic (0,56 nm) correspond à la distance latérale entre deux groupements cholestérol. (b) Présentation schématique proposée pour la mésophase smectique A interdigitée (SmA$_d$).* **172**

Figure III-7. Intensité de la diffraction des rayons X en fonction de l'angle 2θ à 130 °C (a) et à 20 °C (b) du copolymère Dex-g^{5}-PADEGChol^{79}. (c) *Présentation schématique proposée de la mésophase SmA$_d$ du copolymère à 130 °C (c).* **173**

Figure III-8. Isotherme de Gibbs : Courbe théorique de tension interfaciale en fonction de la concentration en tensioactif. **177**

Figure III-9. Variation de la tension interfaciale (σ) entre le toluène et l'eau à 25 °C en fonction de la concentration en glycopolymères. **180**

Figure III-10 Solubilisation des copolymères Dex-g-PADEGChol dans le THF ou dans le DMSO à 100 °C et induction de leur auto-organisation en phase aqueuse par dialyse. **182**

Figure III-11. Clichés caractéristiques de particules solides préparées par dialyse contre l'eau en utilisant le THF comme co-solvant, observées par microscope électronique à transmission (MET) en présence d'acétate d'uranyle . (a) Dex-g^{1,5}-PADEGChol^{50}, (b) Dex-g^{5}-PADEGChol^{79} et (c) Dex-g^{6,6}-PADEGChol^{73}. (d) Schéma représentatif de la constitution des particules observées **186**

Figure III-12. Polymersomes préparés par dialyse contre l'eau en utilisant le DMSO comme co-solvant, et observés par microscope électronique à transmission (MET) en présence d'acétate d'uranyle. (a) Dex-g^{1,5}-PADEGChol^{50}, (b) Dex-g^{5}-PADEGChol^{79} et (c) Dex-g^{6,6}-PADEGChol^{73}. (d) Schéma représentatif général de la constitution des vésicules obtenues dans le cas des trois glycopolymères. Pour simplifier la figure les flèches désignent seulement le glycopolymère Dex-g^{1,5}-PADEGChol^{50}. **187**

Figure III-13. Influence des paramètres structuraux des glycopolymères Dex-g-PADEGChol sur les caractéristiques des polymersomes observés par MET. N= nombre de greffons PADEGChol sur la dorsale dextrane pour 100 unités glucopyranose. d(MET) = diamètre des vésicules estimé par MET. **189**

LISTE DES TABLEAUX

Partie I Chapitre I :
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau I- 1 Exemples de produits commerciaux à base de microparticules polyesters à libération prolongée pour l'administration parentérale **8**

Tableau I-2 Pourcentage des liaisons glycosidiques dans les dextranes et leur solubilité dans l'eau en fonction de la bactérie productrice. (+) = soluble ; (-) = insoluble. **46**

Tableau I-3. Glycopolymères greffés élaborés par « grafting from » via une polymérisation radicalaire contrôlée en milieu homogène. **66**

Tableau I- 4 Glycopolymères greffés élaborés via la stratégie « grafting onto » **68**

Tableau I-5. Rigidité de quelques polysaccharides évaluée grâce à leur longueur persistances (L_p) **69**

Partie II
ELABORATION DE GLYCOPOLYMERES DEX-g-PADEGCHOL

Chapitre I :
Synthèse et homopolymérisation de l'ADEGChol par ATRP

Tableau I- 1 Effet de la température sur la 2ème étape. Expériences réalisées dans le dioxane, en utilisant le rapport molaire Chol-OTs/DEG : 1/30. ..... **83**

Tableau I- 2 Solubilité du cholestérol et de l'ADEGChol. C = 5mg/ml à T_{amb}. (+) : soluble, (-) non soluble. **87**

Chapitre II :
Synthèse de glycopolymère Dex-g-PADEGChol

Tableau II- 1 Influence du taux d'acétylation du dextrane sur sa solubilité. [DexAc]=1 mg/mL à 25 °C. **130**

Tableau II- 2 Taux et efficacité d'acétylation du dextrane estimés dans le DMSO-d_6 et $CDCl_3$. Taux d'acétylation théorique visé égal à 70%. **132**

Tableau II-3. ATRP de l'ADEGChol à partir de différents macroamorceurs $DexAc_{\tau Ac}Br_{\tau Ac}$ (sauf l'entrée 8 et 9 : utilisation de l'EiBr) à 60 °C. Rapport molaire $[ADEGChol]_0/[Br]_0/[Cu^IBr]_0/[PMDETA]_0$ = 50/1/1/1/1 pour toutes les polymérisations, sauf pour l'entrée 2 ($[ADEGChol]_0/[Br]_0/[Cu^IBr]_0/[PMDETA]_0$ = 100/1/1/1). $[ADEGChol]_0$= 1,9 mol/L. **146**

Tableau II-4. Fractions massiques théoriques des glycopolymères Dex-g^{N}-PADEGChol^{F} obtenus par hydrolyse des DexAc$_{\tau Ac}$-g^{N}-PADEGChol^{f} dans des conditions basiques douces. ***154***

Tableau II-5. Masses molaires et dispersités du dextrane natif, HDextrane et HDexAcBr, estimés par SEC-MALLS dans l'eau/$NaNO_3$ (1M) (dn/dc = 0,146). ***157***

Chapitre III :
Propriétés physico-chimiques et auto-assemblage des Dex-g-PADEGChol

Tableau III-1 Caractéristiques des glycopolymères utilisés pour l'étude des propriétés physico-chimiques. ***164***

Tableau III-2 Température de transition de phase de l'ADEGChol, du PADEGChol et du Dex-g^{5}-PDEGCholA^{79} obtenues par DSC avec rampes 1 °C min^{-1} ou 10 °C min^{-1} (les enthalpies de transition sont données entre les parenthèses). L'attribution des phases a été effectuée à l'aide des résultats de MOP et de DRX. Les données de l'homopolymère PAChol sont tirées de la référence (1). ***175***

Tableau III-3 Tailles des objets estimées par diffusion de la lumière dynamique dans le DMSO et dans le THF (avant dialyse) et en phase aqueuse (après dialyse) à température ambiante. La concentration des glycopolymères en phase organique (THF ou DMSO) est égale à 1 mg/ml. ***183***

Tableau III-4 diamètres estimés par diffusion de la lumière dynamique (DLS) et par MET des particules obtenues par dialyse contre l'eau d'une solution de copolymère dans le THF. Concentration des glycopolymères en phase THF égale à 1 mg/ml. ***185***

Tableau III-5 Caractéristiques des vésicules estimées par diffusion de la lumière dynamique (DLS) et par MET. Vésicules obtenues par dialyse contre l'eau à partir d'une solution de copolymère dans le DMSO. La concentration des glycopolymères dans le DMSO avant dialyse était constante et égale à 1 mg/ml. ***189***

LISTE DES SCHEMAS

Partie I Chapitre I :
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Schéma I-1 Synthèse d'un poly[2-(acrylamido) 2-méthylpropane sulfonate de sodium] fonctionnalisé à son extrémité. **35**

Schéma I- 2 Synthèse d'un poly(N-isopropylacrylamide-co-N,N-diméthylacrylamide) porteur d'un groupe cholestérol terminal. **36**

Schéma I-3 Synthèse du glycopolymère tribloc amylose-b-poly(éthylène glycol)-b-amylose par polymérisation enzymatique du α-D-glucose-1-phosphate (G-1-P) en présence de l'enzyme potato phosphorylase. **52**

Schéma I-4 Exemples de glycopolymères préparés par (a, b, c, d) couplage amide, (e, f) chimie click et (g) click thiol-ène. **53**

Schéma I-5. Stratégies de synthèse de glycopolymères à blocs à partir d'un polysaccharide naturel. **55**

Schéma I-6 Mécanisme d'amination réductrice de l'unité terminale d'un polysaccharide. ... **56**

Schéma I-7. Synthèse de quelques glycopolymères à base de dextrane. (a) dextrane-b-polystyrène, (b) dextrane-b-poly(éthylène glycol), (c) dextrane-b- poly(L-glutamate de γ-benzyle) **57**

Schéma I-8. Stratégies de synthèse de glycopolymères greffés à partir d'un polysaccharide naturel **58**

Schéma I-9. Croissance de greffons de poly(acrylate de méthyle) par ATRP à partir d'une surface de cellulose **59**

Schéma I-10. Croissance de greffons de poly(ε-caprolacotone) par ROP à partir d'une surface cellulose. **60**

Schéma I-11. Synthèse de glycopolymères CS-g-P(MMA-co-AN) et CS-g-PSS par NMP à partir de chitosane en un milieu hétérogène **60**

Schéma I-12. (a) Copolymérisation des monomères MMA et HMA par ATRP. (b) Greffage de chaînes de poly(MMA-co-HMA) sur la surface du coton par « chimie click ». PPMI :N-(n-propyl)-2-pyridylméthanimine **61**

Schéma I-13. Fonctionnalisation de la cellulose par la poly(ε-caprolactone) via une chimie click thiol-ène en milieu hétérogène **62**

Schéma I-14. Schéma de synthèse multi-étapes des glycopolymères (a) Dextrane-g-PLA et (b) dextrane-g-PMMA dans un milieu homogène selon la stratégie « grafting from » **64**

Schéma I-15. Schéma de synthèse du glycopolymère Dextrane-g-PHBHV selon la stratégie « grafting onto » par (A) estérification et (B) chimie click **67**

Partie II
ELABORATION DE GLYCOPOLYMERES
DEX-g-PADEGCHOL

Chapitre I :
Synthèse et homopolymérisation de l'ADEGChol par ATRP

Schéma I- 1 Synthèse multi-étapes du monomère ADEGChol ; (a) nos conditions opératoires, (b) conditions opératoires de la référence (5). **81**

Schéma I-2. Mécanisme réactionnel de la catalyse de la tosylation d'un alcool avec le Me_3N-HCl, inspiré de la référence (6). **82**

Schéma I-3. Réaction de substitution secondaire du groupement OTs par les ions chlorure. **83**

Schéma I- 4. Réaction d'élimination du groupement OTs à haute température. **83**

Schéma I-5. Hydrolyse de la fonction carbonate de l'AChol dans des conditions basiques. .. **89**

Schéma I- 6. Schémas simplifiés des équilibres mis en œuvre pour contrôler une polymérisation radicalaire. (a) Dissociation-Recombinaison, (b) Transfert de chaîne dégénératif et (c) Transfert d'Atome. k_d, k_{rec}, $k_{éch}$, k_{act}, $k_{désact}$ et k_p sont respectivement les constantes cinétiques de dissociation, de recombinaison, d'échange, d'activation, de désactivation et de propagation. **92**

Schéma I- 7. Réaction d'équilibre d'une NMP. Cas particulier du nitroxyde TEMPO. k_d, k_{rec} sont respectivement les constantes cinétiques de dissociation et de recombinaison. **93**

Schéma I- 8. Mécanisme général de la polymérisation par RAFT. Cas des agents de transfert thiocarbonylthio. **95**

Schéma I- 9. Mécanisme général de la polymérisation radicalaire par transfert d'atome (ATRP). K_{act}, $k_{désact}$, k_p, k_t, sont respectivement les constantes cinétiques d'activation, désactivation, propagation et de terminaison. **97**

Schéma I-10. Comparaison de la croissance des chaînes de polymère en utilisant (a) l'ATRP conventionnelle, (b) l'ATRP avec échange d'halogène. (schéma inspiré de la référence [57]). **102**

Schéma I- 11. Equilibre de formation des complexes de Cu^I en présence du ligand OPMI dans les solvants polaires et apolaires. **115**

Chapitre II :
Synthèse de glycopolymère Dex-g-PADEGChol

Schéma II- 1 Stratégie de synthèse du glycopolymère Dex-g-PADEGChol. **128**

Schéma II-2 Acétylation partielle des fonctions hydroxyle du dextrane. **129**

Schéma II-3 Introduction de groupements amorceurs sur un dextrane acétylé. **135**

Schéma II-4 Influence du taux en groupements amorceurs sur l'architecture du glycopolymère. **137**

Schéma II-5 Impact de la densité en sites amorceurs lors de la synthèse de polymère greffé. **145**

Schéma II-6. Mécanisme d'hydrolyse d'un DexAc dans un milieu non anhydre. **150**

Schéma II-7 Influence des conditions opératoires sur la morphologie des agrégats de Dex-g-PADEGChol formés après hydrolyse. **152**

Synthèse contrôlée et auto-organisation de glycopolymères amphiphiles à greffons polymères mésogènes, destinés à la vectorisation de principes actifs

Résumé : De nouveaux glycopolymères greffés aux paramètres macromoléculaires contrôlés [dextrane-g-poly(acrylate de diéthylène glycol cholestéryle), Dex-g-PADEGChol] ont été préparés en quatre étapes via la stratégie de synthèse « grafting from». L'originalité de ces glycopolymères réside dans la combinaison, et pour la première fois, d'une dorsale polysaccharide hydrophile biocompatible/ biodégradable et de greffons polymères hydrophobes à caractère mésogène. L'ATRP a été utilisée pour contrôler la croissance des greffons PADEGChol en milieu homogène à partir d'un macroamorceur dérivé de dextrane (DexAcBr). Les conditions de polymérisation avaient été préalablement ajustées en étudiant l'homopolymérisation du monomère ADEGChol en présence d'un amorceur modèle et de plusieurs systèmes catalytiques $Cu^{I}Br$/(PMDETA ou OPMI) dans différents solvants (THF ou toluène). Le caractère amphiphile de ces glycopolymères a été évalué et leurs propriétés mésomorphes ont été étudiées par calorimétrie différentielle à balayage, microscopie optique à lumière polarisante et par diffraction des rayons X. Des études préliminaires par microscope électronique à transmission et diffusion dynamique de la lumière polarisée ont démontré que ces glycopolymères adoptent une morphologie vésiculaire appelée « polymersome » en phase aqueuse, lorsque le DMSO est utilisé comme co-solvant. Ces nano-objets pourront être testés ultérieurement pour la formulation d'un nouveau type de vecteurs de principes actifs.

Mots-clés : Glycopolymère, grafting from, polymérisation radicalaire par transfert d'atome (ATRP), Cholestérol, dextrane, dextrane-g-poly(acrylate de diéthylène glycol cholestéryle) (Dex-g-PADEGChol), copolymère amphiphile, tensio-actif, cristal-liquide, mésomorphe, auto-assemblage, polymersome, vésicule, vecteur de principe actif.

Controlled synthesis and self-assembly of amphiphilic glycopolymers with polymeric mesogen grafts, in view of drug delivery applications

Abstract: New graft glycopolymers with well-defined parameters [dextran-g-poly(diethylene glycol cholesteryl ether acrylate) (Dex-g-PADEGChol)] have been prepared in four steps using the "grafting from" strategy. Challenge of this work arises from the combination for the first time of a hydrophilic, biocompatible/biodegradable polysaccharide backbone with mesogen hydrophobic polymeric grafts. Controlled growth of the grafts (PADEGChol) was obtained using ATRP initiated in homogeneous medium from a dextran derivative (DexAcBr). In order to find the best polymerization conditions, homopolymerization of ADEGChol monomer was investigated using an initiator model and various catalytic systems CuIBr/(PMDETA or OPMI) in two solvents (Toluene and THF). The amphiphilic properties of such glycopolymers were evaluated and their mesomorphic properties have been studied by thermal polarizing optical microscopy, differential scanning calorimetry and X-ray scattering. Using transmission electron microscopy and dynamic light scattering, vesicular morphology called "polymersome" was observed in aqueous medium when DMSO was used as co-solvent. These polymersomes could be tested as new drug delivery systems.

Keys-word : Glycopolymer, grafting from, atom transfer radical polymerization (ATRP), cholesterol, dextran, dextran-g-poly(diethylene glycol cholesteryl ether acrylate) (Dex-g-PADEGChol), amphiphilic copolymer, surfactant, liquid-crystal, mesomorphic, self-assembly, polymersome, vesicle, drug-delivery.