

N° d'ordre : 3287

# THÈSE

*Présentée à*

**L'UNIVERSITÉ BORDEAUX 1**

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

*Par* **Maude LE HELLAYE**

*Pour obtenir le grade de*

**DOCTEUR**

*Spécialité :* **POLYMÈRES**

---

**Synthèse et auto-assemblage de copolymères diblocs  
polyester-*b*-poly(acide  $\alpha$ -aminé)**

---

Soutenue le : 13 Décembre 2006

Après avis de :

**M. M. VERT**

Directeur de Recherche - CNRS

**Rapporteur**

**M. L. BOUTEILLER**

Directeur de Recherche - CNRS

**Rapporteur**

Devant la commission d'examen formée par :

**M. S. RAVAINÉ**

Professeur - Université Bordeaux1

**Président**

**M. L. BOUTEILLER**

Directeur de Recherche - CNRS

**Rapporteur**

**M. M. VERT**

Directeur de Recherche - CNRS

**Rapporteur**

**M. A. SOUM**

Professeur - ENSCPB

**Examineur**

**M. S. LECOMMANDOUX**

Professeur - ENSCPB

**Examineur (Ra)**

**Mme S. GUILLAUME**

Chargée de Recherche - CNRS

**Examineur**

## Remerciements

*Ce manuscrit rassemble les résultats de trois années de recherche menées au Laboratoire de Chimie des Polymères Organiques (LCPO). Je tiens à remercier son directeur, Monsieur Yves Gnanou, pour m'avoir permis d'intégrer son laboratoire, et ainsi de bénéficier d'excellentes conditions de travail et de tout le savoir-faire qu'il rassemble.*

*Je remercie les membres du jury d'avoir accepté de juger ce travail, tout particulièrement Messieurs Michel Vert et Laurent Bouteiller qui m'ont fait l'honneur d'accepter la charge de rapporteurs et Monsieur Serge Ravaine pour avoir présidé ce jury.*

*Je remercie mon directeur de thèse, Monsieur Alain Soum, qui a suivi cette recherche tout en m'accordant une grande confiance et une grande autonomie, pour l'aide précieuse qu'il m'a apportée lors de la rédaction de ce manuscrit.*

*Je tiens à adresser mes sincères remerciements à Sophie Guillaume et à Sébastien Lecommandoux qui m'ont encadré durant ces trois années, pour leur disponibilité, leur rigueur, leurs conseils, leur bonne humeur et les discussions scientifiques et plus personnelles que nous avons pu avoir. Travailler à leurs côtés a été un réel plaisir.*

*Je tiens également à remercier l'ensemble des permanents du LCPO, plus particulièrement Corinne et Catherine pour leur aide précieuse, leur patience et leur disponibilité, Mimi pour son accueil. Et bien sûr Eric Cloutet, qui a été mon premier contact au laboratoire en 2002 à l'occasion du stage REU et qui m'a donné envie d'y rester.*

*Je voudrais également remercier les étudiants stagiaires qui par leur contribution ont apporté leur pierre à l'édifice, Nicolas Fortin et Julien Guilloteau.*

*Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à ce travail : Emmanuel Ibarboure du LCPO pour les analyses AFM et pour son aide précieuse en DSC, Nicolas Guidolin du LCPO et Marie-France Achard du CRPP pour les analyses en diffusion des rayons X.*

*Enfin, je voudrais remercier toutes les personnes sans qui ces trois années passées au laboratoire n'auraient pas eu le même goût ... Ceux qui nous ont déjà quitté, depuis plus ou moins longtemps, qui nous ont accueilli à notre arrivée et sans qui le labo nous a semblé bien triste parfois : Thomas, Rachid, Pierre, Isa, Cyrille & Claire, Damien, Amélie, Baptiste avec qui j'ai partagé bureau et labo et enfin Jérôme, mon co-bureau à mi-temps et « sa blonde » Cécile, futurs Québécois. Ceux qui restent en N1-18 : Cheng, Julien et surtout Olivier également collègue de labo dont l'humour et les blagues pourries, mais aussi les discussions que nous pouvions avoir, vont vraiment me manquer. Mes copains de promo Anne et David, et aussi les ingénieurs Séb et Christelle. Et enfin ceux qui ne sont pas encore au bout de leur peine : Clément, Flu, Géraldine, Fumi, Willy, Antoine, Virginie et Amélie ...*

*Pour la fin, j'ai gardé mes parents qui m'ont soutenu durant toutes ces années notamment dans les moments difficiles, et surtout Mervyn qui m'a soutenue, encouragée et supportée, qui a toujours été là et sans qui je n'aurais pas trouvé le courage et la force nécessaires. Merci !*

# SOMMAIRE

## Introduction générale

### Partie 1 : Etude bibliographique

I. Les polymères synthétiques dégradables	9
I.1. Les polyesters aliphatiques : synthèse, propriétés et applications	10
I.1.1. <i>Les polyesters préparés par polycondensation</i>	11
I.1.2. <i>Les polyesters préparés par polymérisation par ouverture de cycle</i>	12
I.1.3. <i>Les polyesters préparés par voie enzymatique</i>	20
I.1.4. <i>Propriétés et utilisation des polyesters aliphatiques</i>	22
I.2. Les poly(acides $\alpha$ -aminé)s : synthèse, propriétés et applications	30
I.2.1. <i>Les poly(acides <math>\alpha</math>-aminé)s préparés par polymérisation par ouverture de cycle</i>	31
I.2.2. <i>Propriétés et utilisations des poly(acides <math>\alpha</math>-aminé)s</i>	38
II. Les copolymères polyester-poly(acide $\alpha$ -aminé)	43
II.1. Copolymères statistiques poly(ester-co-acide $\alpha$ -aminé)s	43
II.2. Copolymères à blocs polyester- <i>b</i> -poly(acide $\alpha$ -aminé)	49
II.2.1. <i>Préparation de macroamorceurs polyester-NH<sub>2</sub></i>	49
II.2.2. <i>Synthèse du bloc poly(acide <math>\alpha</math>-aminé)</i>	54
Conclusion	63
Références bibliographiques	63

### Partie 2 : Synthèse d'architectures à blocs polyester-*b*-poly(acide $\alpha$ -aminé)

I. Polymérisation de l' $\epsilon$ -CL et du TMC	71
I.1. Polymérisation de l' $\epsilon$ -CL	73
I.1.1. <i>Détermination des conditions optimales de polymérisation</i>	73
I.1.2. <i>Caractérisation des polymères fonctionnels</i>	76
I.2. Polymérisation du TMC	78
I.2.1. <i>Détermination des conditions optimales de polymérisation</i>	79
I.2.2. <i>Caractérisation des polymères fonctionnels</i>	80
II. Déprotection de la fonction amine primaire terminale de la PCL et du PTMC	81

II.1. Effet des conditions de réaction	84
II.2. Effet de la nature de l'espaceur et du groupe protecteur	86
II.3. Effet de la nature du polymère	88
III. Synthèse des copolymères diblocs polyester- <i>b</i> -poly(L-glutamate de $\gamma$ -benzyle)	91
III.1. Conditions de synthèse	91
III.2. Caractérisation des copolymères diblocs	96
IV. Synthèse des copolymères à blocs amphiphiles	97
Conclusion	100
Références bibliographiques	101

### **Partie 3 : Organisation à l'état solide des copolymères à blocs polyester-*b*-poly(acide $\alpha$ -aminé)**

I. Introduction aux phénomènes de diffusion	105
II. L'auto-assemblage en masse : généralités	108
III. Organisation à l'état solide des systèmes rigide-flexible PCL- <i>b</i> -PBLG et PTMC- <i>b</i> -PBLG	112
III.1. Etude structurale préliminaire	112
III.2. Etude thermique	114
III.3. Organisation locale et à grande échelle	120
<i>III.3.1. Organisation locale</i>	<i>120</i>
<i>III.3.2. Organisation à grande échelle</i>	<i>124</i>
Conclusion	127
Références bibliographiques	128

### **Partie 4 : Nanoparticules de copolymères à blocs polyester-*b*-poly(acide $\alpha$ -aminé)**

I. Nanoparticules de copolymères à blocs pour le transport de médicaments	131
I.1. Micelles de polymères à base de POE	132
I.2. Complexes micellaires de polyions ou micelles PIC (PolyIon Complex)	135
I.3. Vésicules de polymères	135
II. Nanoparticules de copolymères hydrophobes PCL- <i>b</i> -PBLG et PTMC- <i>b</i> -PBLG	136

II.1. Préparation des particules par nanoprecipitation	138
II.2. Analyse structurale des nanoparticules	141
III. Micellisation des copolymères amphiphiles PCL- <i>b</i> -PGA et PTMC- <i>b</i> -PGA	144
IV. Dégradation des nanoparticules de copolymères par voie enzymatique	146
Conclusion	148
Références bibliographiques	149

## **Conclusion générale**

## **Partie expérimentale**

## **Annexes**

---

# INTRODUCTION GÉNÉRALE

---



Quand le poly(acide glycolique) fut découvert en 1954,<sup>1</sup> sa faible stabilité thermique et son instabilité vis-à-vis de l'hydrolyse le reléguèrent au rang des matières plastiques inutilisables pour les applications visées à l'époque, alors principalement basées sur la bonne résistance mécanique et la relative stabilité dans le temps des matériaux polymères synthétiques, en contraste avec les polymères d'origine naturelle. Ce n'est qu'une vingtaine d'années plus tard que le poly(acide glycolique) devint la première suture dégradable entièrement synthétique.<sup>2</sup> Dès lors l'intérêt pour les applications des polymères de synthèse dans le domaine thérapeutique n'a cessé de croître. L'aptitude de ces systèmes à fournir des gammes de compositions, de structures et de propriétés très diversifiées en fait l'une des classes de biomatériaux les plus importantes. Les polymères synthétiques sont aujourd'hui largement utilisés en médecine et chirurgie et concernent un très large éventail d'applications qui peuvent être intra- ou extracorporelles et qui sont aussi diverses que les sutures, les organes artificiels, les lentilles de contact, les prothèses dentaires, ou les cathéters et les seringues.<sup>3-6</sup>

Les avancées en sciences des matériaux et en chirurgie permettent aujourd'hui de reconstruire une grande partie du corps humain. Tandis que les matériaux polymères biocompatibles stables sont utilisés pour des applications thérapeutiques permanentes (prothèses ou organes artificiels), les systèmes polymères biocompatibles, dégradables et biorésorbables ont été développés avec la notion d'aide thérapeutique temporaire. Les sutures, les dispositifs de fixation osseuse et les systèmes de libération contrôlée sont des applications largement étudiées pour ces types de polymères.<sup>3-5</sup> Plus récemment, les polymères synthétiques dégradables ont trouvé de nouvelles applications dans le domaine médical avec le développement de la médecine régénératrice.<sup>6</sup>

Dans un autre domaine d'applications, les problématiques très importantes liées au traitement des déchets et à la pollution environnementale auxquelles nous devons faire face aujourd'hui et qui ne cesseront d'empirer, étant donnée l'explosion démographique de la population mondiale, font des systèmes polymères dégradables une solution d'avenir dans le domaine de la protection de l'environnement. Les avancées spectaculaires réalisées ces trente dernières années dans ce domaine ont donné lieu à un large éventail d'applications possibles pour ces matériaux, allant de l'emballage et des produits de nettoyage aux filtres de cigarette et, dans le domaine de l'agriculture, des films de paillage aux agrafes, en passant par les films protecteurs pour les graines et les systèmes pour la libération de fertilisants.<sup>7</sup>

Parmi les polymères dégradables/biodégradables découverts ces quarante dernières années, les polyesters aliphatiques sont apparus comme les plus prometteurs et sont aujourd'hui largement utilisés en tant que dispositifs dégradables en chirurgie et en pharmacologie.<sup>8</sup> Les polymères synthétiques dérivés des acides  $\alpha$ -aminés constituent une autre famille importante dans ce domaine. Ils sont principalement utilisés dans le domaine des « polymères thérapeutiques » (terme qui englobe les principes actifs macromoléculaires, les conjugués polymère-protéine ou polymère-principe actif, les micelles pour l'encapsulation de principes actifs et les « polyplexes » pour le transport d'ADN).<sup>9,10</sup>

L'amélioration de l'efficacité biologique et pharmaceutique de principes actifs, le prolongement de leur activité biologique et la diminution de leur fréquence d'administration sont les principales motivations dans le développement de systèmes polymères pour la libération contrôlée.<sup>11</sup> Ces systèmes peuvent se présenter principalement sous forme d'implants (ex : bâtonnets pour l'administration de contraceptifs), de fibres (extension de l'application des sutures) ou bien de microparticules/microsphères, principalement à base de polyesters et préparées par diverses techniques nécessitant la plupart du temps l'utilisation de solvants organiques ou de tensio-actifs.<sup>12-14</sup> Plus récemment, des nanoparticules préparées par auto-assemblage en solution aqueuse de copolymères amphiphiles ont fait l'objet de nombreuses études. L'utilisation de systèmes amphiphiles de type micelles à structure cœur-couronne a notamment été proposée pour le transport de médicaments faiblement solubles dans l'eau. Outre la solubilité apportée par la couronne hydrophile, les avantages de tels systèmes par rapport aux systèmes conventionnels sont nombreux. En particulier, la taille des objets obtenus (<100 nm) permet notamment de prévenir d'une éventuelle phagocytose (phagocyte : type de globule blanc qui aide à combattre l'infection en stimulant le système immunitaire et en ingérant des substances étrangères, des cellules altérées et des tissus sanguins) et cette taille peut être contrôlée par divers paramètres moléculaires comme la masse molaire ou la composition du copolymère.

Les recherches réalisées dans le cadre du travail présenté dans ce document s'inscrivent dans ce contexte et se situent à l'interface entre la chimie et la physico-chimie. Elles reposent sur l'idée d'associer deux polymères biocompatibles, dégradables et biorésorbables, au sein d'une architecture de type copolymère dibloc aux nouvelles propriétés. Il s'agit d'une part d'un bloc polyester hydrophobe tel que la poly( $\epsilon$ -caprolactone) (PCL) ou le poly(triméthylène carbonate) (PTMC), tous deux déjà largement connus

et utilisés, et d'autre part un bloc précurseur de poly(acide  $\alpha$ -aminé) tel que le poly(L-glutamate de  $\gamma$ -benzyle) (PBLG), connu pour ses structures complexes d'organisation (structures secondaires en hélice  $\alpha$  ou en feuillet  $\beta$ ) et qui, après hydrolyse, permet d'obtenir un bloc hydrophile, le poly(acide glutamique) (PGA), sensible à différents stimuli tels que le pH ou la température. L'objectif de ces travaux était donc la préparation d'architectures à blocs de type PCL-*b*-PBLG et PTMC-*b*-PBLG et de leurs homologues amphiphiles PCL-*b*-PGA et PTMC-*b*-PGA, leur caractérisation complète, l'étude de leur comportement auto-associatif à l'état solide et en solution organique ou aqueuse ainsi que l'étude de l'influence de la nature du bloc polyester (semi-cristallin ou amorphe) sur les propriétés globales du système. L'objectif à plus long terme était l'évaluation du potentiel de telles architectures en tant que dispositifs pour la libération contrôlée de diverses molécules.

Ce mémoire se divise en quatre parties. La première permet de faire le point sur la place occupée à l'heure actuelle par les polymères synthétiques dégradables et plus particulièrement sur l'utilisation des polyesters et des poly(acide  $\alpha$ -aminés). Après un bilan non exhaustif des travaux réalisés sur la synthèse de ces polymères et une présentation de leurs principales propriétés et applications, les études réalisées sur des systèmes associant au sein d'une même architecture des polyesters et des poly(acide  $\alpha$ -aminés) (copolymères à blocs, statistiques etc.) sont détaillées.

La seconde partie est dédiée à la présentation des résultats obtenus lors de la synthèse des architectures diblocs PCL-*b*-PBLG(PGA) et PTMC-*b*-PBLG(PGA). Les différentes étapes de synthèse, les caractérisations physico-chimiques et les principales propriétés de ces systèmes sont discutées. Dans la troisième partie les propriétés d'organisation à l'état solide des copolymères à blocs sont évaluées. Enfin, la dernière partie concerne la préparation de nanoparticules et l'évaluation des propriétés d'auto-assemblage en solution organique ou aqueuse.

---

<sup>1</sup> Lowe, C. E.; E. I. du Pont de Nemours and Company: Buffalo, N. Y., *US Patent*, 2,668,162, 1954

<sup>2</sup> Schmitt, E. E.; American Cyanamid Company: Norwalk, Conn., *US Patent*, 3,297,033, 1967

<sup>3</sup> Kroschwitz, J. I. *Polymers : biomaterials and medical applications*, J. Wiley ed.: New York, 1989.

<sup>4</sup> Dumitriu, S. *Polymeric biomaterials*, M. Dekker ed.: New York, 1993.

<sup>5</sup> Chasin, M.; Langer, R. *Biodegradable polymers as drug delivery systems*, M. Dekker ed.: New York, 1990.

<sup>6</sup> Reis, R. L.; San Roman, J. *Biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine*; CRC Press: Boca Raton, 2005.

<sup>7</sup> Guilbert, S.; Feuilloley, P.; Bewa, H.; Bellon-Maurel, V. Biodegradable polymers in agricultural applications In *Biodegradable Polymers for Industrial Applications*; Smith, R., Ed.; CRC Press: Boca Raton, 2005; pp 494-516.

<sup>8</sup> Albertsson, A.-C.; Varma, I. K. *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 1466-1486.

- <sup>9</sup> Duncan, R.; Ringsdorf, H.; Satchi-Fainaro, R.; Dhal, P. K.; Holmes-Farley, S. R.; Huval, C. C.; Jozefiak, T. H.; Amir, R. J.; Shabat, D.; Pasut, G.; Veronese, F. M.; Wagner, E.; Kloeckner, J. Polymer Therapeutics I In *Advances in Polymer Science*; Satchi-Fainaro, R.; Duncan, R., Eds.; Springer-Verlag: Berlin, 2006; Vol. 192.
- <sup>10</sup> Satchi-Fainaro, R.; Duncan, R.; Barnes, C. M.; Nishiyama, N.; Kataoka, K.; Maeda, H.; Greish, K.; Fang, J. Polymer Therapeutics II In *Advances in Polymer Science*; Satchi-Fainaro, R.; Duncan, R., Eds.; Springer-Verlag: Berlin, 2006; Vol. 193.
- <sup>11</sup> Urich, K. E.; Cannizzaro, S. M.; Langer, R. S.; Shakesheff, K. M. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 3181-3198.
- <sup>12</sup> Anderson, J. M.; Shive, M. S. *Advanced Drug Delivery Reviews* **1997**, *28*, 5-24.
- <sup>13</sup> O'Donnell, P. B.; McGinity, J. W. *Advanced Drug Delivery Reviews* **1997**, *28*, 25-42.
- <sup>14</sup> Edlund, U.; Albertsson, A.-C. Degradable Polymer Microspheres for Controlled Drug Delivery In *Advances in Polymer Science*; Albertsson, A.-C., Ed.; Springer-Verlag: Berlin, 2002; Vol. 157, pp 67-112.

---

Partie 1 :

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

---

I. Les polymères synthétiques dégradables	9
I.1. Les polyesters aliphatiques : synthèse, propriétés et applications	10
I.1.1. Les polyesters préparés par polycondensation	11
I.1.2. Les polyesters préparés par polymérisation par ouverture de cycles	12
I.1.2.1. La voie cationique	
I.1.2.2. La voie anionique	
I.1.2.3. La voie coordination-insertion	
I.1.3. Les polyesters préparés par voie enzymatique	20
I.1.4. Propriétés et utilisations des polyesters aliphatiques	22
I.1.4.1. Propriétés physiques	
I.1.4.2. Applications les plus courantes	
I.2. Les poly(acide $\alpha$ -aminé)s : synthèse, propriétés et applications	30
I.2.1. Les poly(acide $\alpha$ -aminé)s préparés par polymérisation par ouverture de cycles	31
I.2.1.1. Amorçage par les amines primaires, secondaires ou tertiaires	
I.2.1.2. Amorçage par les complexes de métaux de transition	
I.2.2. Propriétés et utilisations des poly(acide $\alpha$ -aminé)s	38
I.2.2.1. Propriétés physiques	
I.2.2.2. Applications les plus courantes	
II. Les copolymères polyester-poly(acide $\alpha$ -aminé)	43
II.1. Copolymères statistiques ou alternés poly(ester-co-acide $\alpha$ -aminé)s	43
II.2. Copolymères à blocs polyester- <i>b</i> -poly(acide $\alpha$ -aminé)	49
II.2.1. Préparation de macroamorceurs polyester-NH <sub>2</sub>	49
II.2.1.1. Fonctionnalisation par modification chimique	
II.2.1.2. Utilisation de systèmes d'amorçage comportant un précurseur de fonction NH <sub>2</sub>	
II.2.2. Synthèse du bloc poly(acide $\alpha$ -aminé)	54
Conclusion	63
Références bibliographiques	63

---

Cette partie est dédiée à la présentation des deux catégories de polymères synthétiques dégradables que nous allons utiliser pour nos travaux, les polyesters et les poly(acide  $\alpha$ -aminé)s.

Un bilan non exhaustif des travaux réalisés sur la synthèse de ces polymères et une présentation des principales applications et utilisations de ces systèmes font l'objet du premier chapitre. Le second présente les différentes études réalisées sur des systèmes de copolymères associant les polyesters et les poly(acide  $\alpha$ -aminé)s ; elles concernant aussi bien la synthèse et la préparation des architectures que l'étude de leurs propriétés.

## I. LES POLYMÈRES SYNTHÉTIQUES DÉGRADABLES

Parce qu'il ne faut pas confondre dégradation, biodégradation, bioassimilation ou encore élimination, une mise au point de la terminologie employée s'impose avec les quelques définitions qui suivent :<sup>1</sup>

- **Dégradation** : clivage chimique des chaînes macromoléculaires formant le système polymère, entraînant une altération des propriétés initiales.
- **Biodégradation** : dégradation du système polymère en présence de cellules vivantes (dégradation abiotique par des enzymes  $\neq$  biodégradation).
- **Biorésorbable** : polymère biocompatible dont les résidus de la dégradation *in situ* sont éliminés par l'organisme (bioassimilation, minéralisation ou filtration rénale)
- **Bioassimilation** : conversion d'un composé en biomasse (i.e. matière organique constituant les organismes vivants et résidus organiques post-mortem.)
- **Minéralisation** : conversion d'un composé en CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O et minéraux.

Il apparaît maintenant clairement qu'un polymère dégradé n'est pas nécessairement biodégradable, alors qu'un polymère biodégradable est dégradé. De même, un polymère dégradé ou biodégradable n'est pas forcément bioassimilable, mais un polymère bioassimilable est *a fortiori* dégradé.

Les polyesters aliphatiques sont les polymères synthétiques dégradables les plus utilisés de nos jours pour des applications médicales, en particulier le poly(lactide) (PLA), le poly(glycolide) (PGL), la poly( $\epsilon$ -caprolactone) (PCL) et leurs copolymères. Ces polymères ne sont pas seulement dégradables (ou biodégradables pour certains d'entre eux)<sup>†</sup>, mais ils sont également bioassimilables puisque leur hydrolyse en milieu physiologique donne respectivement les acides lactique, glycolique et 6-hydroxy caproïque, composés non toxiques, complètement éliminés par l'organisme. Les polyesters aliphatiques ont fait et font toujours l'objet de très nombreuses études. Ces dernières années, ces polymères ont trouvé de nouvelles applications comme substituts à certains « plastiques » de commodité, qui génèrent à l'heure actuelle un volume important de déchets, et apparaissent comme une solution

---

<sup>†</sup> Le poly(L-lactide) et la poly( $\epsilon$ -caprolactone) sont dégradables mais pas biodégradables. La poly( $\epsilon$ -caprolactone) est dégradé par voie enzymatique, mais seulement en milieu environnemental.

prometteuse pour faire face aux problèmes liés à l'environnement. De plus, des études récentes ont permis la commercialisation du premier polymère synthétique entièrement produit à partir de ressources renouvelables (le maïs) : un PLA commercialisé sous la marque Nature Works<sup>®</sup>;<sup>2-5</sup> ce qui est également très prometteur face à la problématique de l'épuisement des ressources en pétrole.

Cependant, même si les polyesters aliphatiques sont aujourd'hui encore les polymères synthétiques dégradables les plus utilisés et disponibles commercialement sous diverses formes pour des applications très variées, il n'en reste pas moins que d'autres polymères dégradables ont été étudiés et des applications potentielles développées.<sup>6</sup> Parmi eux, les polymères synthétiques dérivés d'acides  $\alpha$ -aminés font l'objet d'un très grand intérêt et sont aujourd'hui surtout utilisés dans le domaine des « polymères thérapeutiques ».

## **I.1. Les polyesters aliphatiques : synthèse, propriétés et applications**

Les polyesters aliphatiques peuvent être préparés par polycondensation d'un diol et d'un diacide, par polycondensation d'un acide hydroxycarboxylique, ou bien par polymérisation par ouverture de cycle d'esters cycliques (lactones, lactides, carbonates, ...). Les polyesters synthétiques dégradables disponibles commercialement sont préparés par ces deux méthodes.

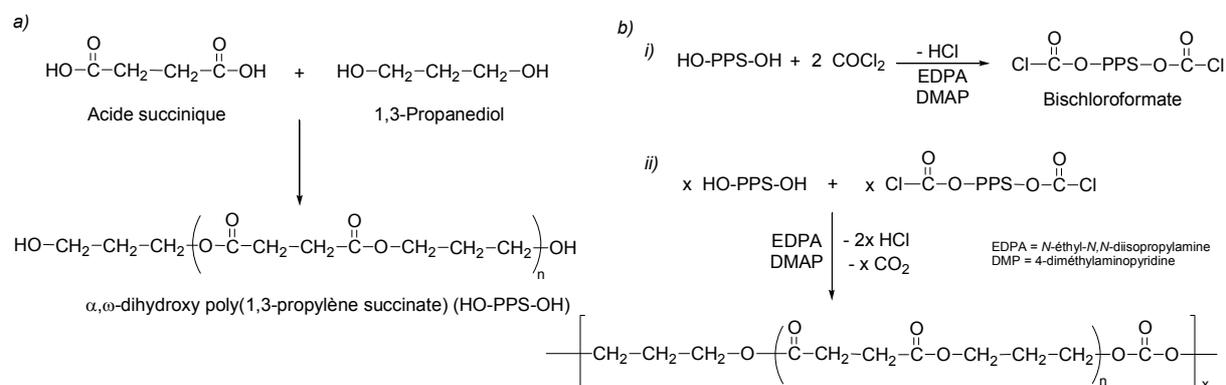
Alors que la première voie peut être appliquée à une très grande variété de combinaisons diol/diacide mais présente de nombreuses contraintes (températures de réaction élevées, temps de réaction longs, élimination des produits secondaires, degrés de polymérisation limités), la seconde voie, au contraire, même si elle permet un choix plus limité de monomères, se fait dans des conditions beaucoup plus douces, permet un meilleur contrôle des structures (réactions secondaires limitées voire inexistantes dans certains cas) et conduit à des polymères de masse molaire élevée en des temps relativement courts.

L'utilisation récente de monomères entièrement issus de ressources renouvelables concerne les deux voies de polymérisation (polycondensation et polymérisation par ouverture de cycle), de même que l'utilisation de catalyseurs enzymatiques qui a été développée dans les années 90.

### I.1.1. Les polyesters préparés par polycondensation

Malgré les nombreuses contraintes présentées par cette méthode de polymérisation pour la préparation de polyesters,<sup>7</sup> l'utilisation sans cesse croissante de ces polymères a poussé les auteurs à trouver de nouvelles techniques pour améliorer cette voie de synthèse et préparer des polymères de masses molaires plus importantes.<sup>6,8</sup> Mitsui Chemicals a notamment développé il y a quelques années un nouveau procédé visant à produire du PLA de haute masse molaire, par polycondensation directe d'acide L-lactique.<sup>9</sup>

S'il est difficile de préparer des polymères de forte masse molaire par polycondensation, des oligomères de masses molaires de l'ordre de quelques milliers sont en revanche facile à obtenir. Des études menées il y a une vingtaine d'années ont permis l'utilisation et la valorisation de ces oligomères, aux propriétés mécaniques et thermiques peu intéressantes, grâce à des extensions de chaîne par des réactions de couplage.<sup>10,11</sup> Divers polyesters ont ainsi été préparés par cette méthode ; on peut citer entre autres les poly(ester-carbonate)s de valeur de masse molaire proche de 30 000 g/mol synthétisés par Albertsson et coll.<sup>12</sup> (Schéma 1-1) et les polyesters aliphatiques dégradables commercialisés dans les années 90 par la société Showa Highpolymer Co. (Japon) sous le nom BIONOLLE® et utilisé notamment comme pot pour les plantes.<sup>13,14</sup>



**Schéma 1-1 : a) Synthèse de l'oligomère  $\alpha,\omega$ -dihydroxy poly(1,3-propylène succinate) ( $M_n = 2\,200$  g/mol). b) Obtention d'un poly(ester-carbonate) par extension de chaîne par la voie dichloroformate<sup>12</sup>**

Les monomères utilisés pour préparer des polyesters aliphatiques par polycondensation sont généralement issus de l'industrie du pétrole, mais peuvent également provenir de ressources renouvelables (ex : production du 1,3-propanediol par fermentation du glycérol, production de l'acide succinique par fermentation de carbohydrates comme le glucose, le maltose ou le fructose), ce qui rend cette méthode de polymérisation

très intéressante tout d'abord d'un point de vue économique, mais également et surtout du point de vue de la problématique de l'épuisement des ressources en pétrole.

### I.1.2. Les polyesters préparés par polymérisation par ouverture de cycle d'esters cycliques

La polymérisation par ouverture de cycle d'esters cycliques s'est avérée être une bonne alternative à la polycondensation pour la synthèse de polyesters (Schéma 1-2).<sup>15</sup> Elle permet la préparation de polymères de masses molaires élevées et de faible distribution des masses molaires (MWD) et ceci dans des conditions beaucoup plus douces que la polycondensation.

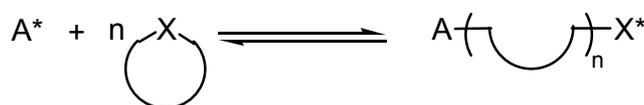


Schéma 1-2 : Schéma général de la polymérisation par ouverture de cycle

Initialement présentée par Carothers et coll. dans les années 30 avec les lactones et les carbonates,<sup>16-19</sup> la polymérisation par ouverture de cycle donne lieu à un équilibre polymérisation-dépolymérisation<sup>20</sup> et peut, dans le cas des esters cycliques, conduire à des réactions secondaires de type transestérifications intermoléculaires (réactions de redistribution induisant une modification aléatoire de la taille des chaînes) (Schéma 1-3) et/ou intramoléculaires (réactions de rétroscission conduisant à la formation d'oligomères cycliques) (Schéma 1-4). Ces réactions secondaires sont d'autant plus importantes lorsque la température et le temps de réaction sont élevés ; la nature de l'amorceur, sa concentration, la nature du monomère sont également des paramètres influant sur ces réactions parasites.

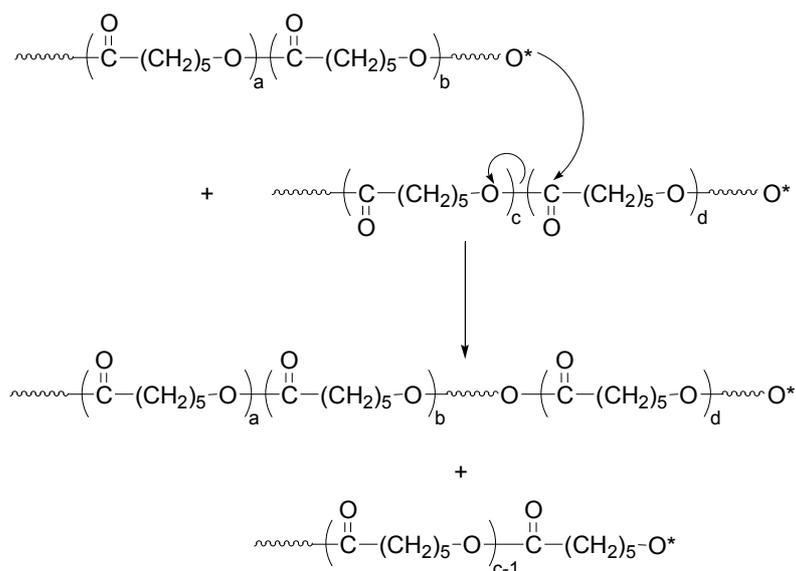


Schéma 1-3 : Réaction de redistribution dans le cas de la PCL

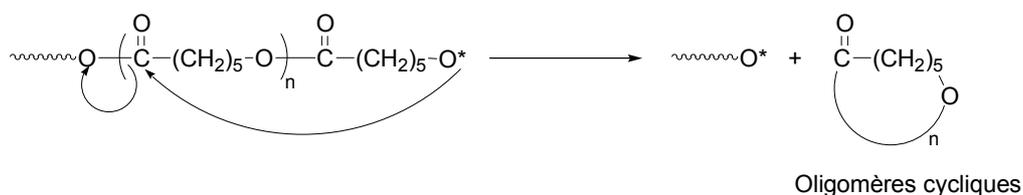


Schéma 1-4 : Réaction de rétroscission dans le cas de la PCL

Les monomères les plus couramment utilisés pour la préparation de polyesters aliphatiques par polymérisation par ouverture de cycle d'esters (ou carbonates) cycliques, sont présentés dans le Tableau 1-1.

R = H ; Glycolide (GL)		$\beta$ -Butyrolactone ( $\beta$ -BL)		1,5-Dioxepan-2-one (DXO)	
R = CH <sub>3</sub> ; Lactide (LA)		$\delta$ -Valerolactone ( $\delta$ -VL)			
$\epsilon$ -Caprolactone ( $\epsilon$ -CL)		1,4-Dioxan-2-one (ou <i>p</i> -dioxanone) (PDO)		1,3-Dioxan-2-one (ou triméthylène carbonate) (TMC)	

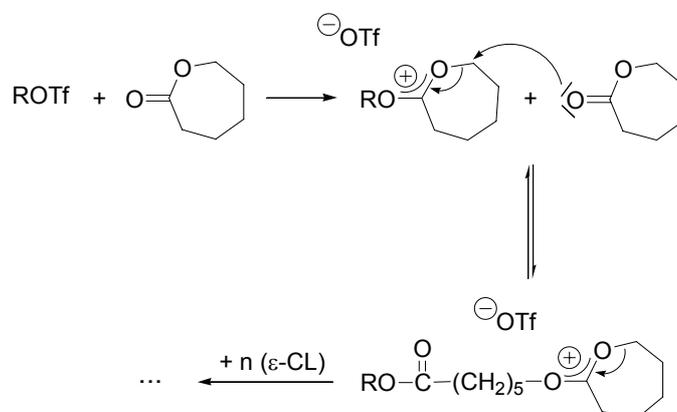
Tableau 1-1 : Structure et dénomination d'esters (carbonates) les plus couramment utilisés en polymérisation par ouverture de cycle

La polymérisation par ouverture de cycle d'esters cycliques peut principalement être amorcée par voies cationique, anionique ou par coordination-insertion, avec différents mécanismes de polymérisation propre à chaque voie.

### 1.1.2.1. La voie cationique

Les principaux amorceurs utilisés en polymérisation par ouverture de cycle par voie cationique sont des acides de Brønsted, des acides de Lewis, des agents d'alkylation ou des agents d'acylation.

Le mécanisme actuellement admis pour ce type de polymérisation est une alkylation de l'oxygène exocyclique de la lactone, suivie d'une rupture de la liaison oxygène-alkyle du cycle (Schéma 1-5).



**Schéma 1-5 : Mécanisme de la polymérisation par ouverture de cycle de l'ε-caprolactone amorcée par voie cationique**

Outre le fait que ce type de polymérisation ne permette pas l'obtention de polymères de masses molaires élevées avec un bon contrôle, la synthèse de copolymères à architectures contrôlées est difficile en raison de nombreuses réactions secondaires. Des revues détaillées concernant ce type de polymérisation ont été publiées par Penczek et coll.<sup>21,22</sup>

### 1.1.2.2. La voie anionique

La polymérisation par ouverture de cycle par voie anionique permet d'accéder à des vitesses de réaction plus élevées mais conduit à une large distribution des masses molaires. En effet, la réactivité des centres actifs étant plus importante, les réactions de transestérification sont plus nombreuses.

Les amorceurs utilisés sont des carboxylates ou des alcoolates de métaux alcalins. La nature du contre-ion, du solvant ou la température sont des paramètres importants qui conditionnent le contrôle de la polymérisation.

Le mécanisme de ce type de polymérisation dans le cas d'esters cycliques de plus de quatre chaînons est basé sur une attaque nucléophile de l'amorceur sur le carbone électropositif de la fonction carbonyle du monomère, suivie d'une rupture de la liaison acyle-oxygène. Le centre actif est alors un alcoolate (Schéma 1-6).

Les cycles à quatre chaînons (ex :  $\beta$ -propiolactone) peuvent être polymérisés par des nucléophiles faibles comme les carboxylates car ils présentent une tension de cycle élevée. Dans ce cas, l'ouverture de cycle se fait par rupture de la liaison alkyle-oxygène. Si l'amorceur est un nucléophile fort, les deux types de rupture de liaison sont possibles et il peut alors y avoir coexistence de centres actifs alcoolate et carboxylate (Schéma 1-6).<sup>23,24</sup>

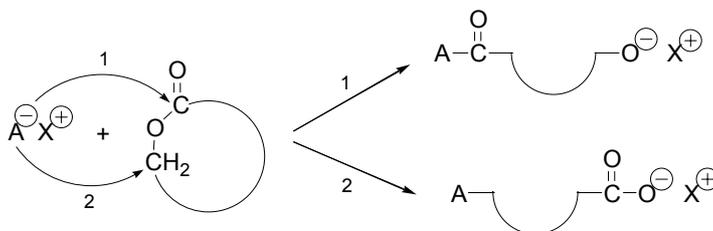


Schéma 1-6 : Mécanisme de polymérisation par voie anionique de lactones de plus de quatre chaînons (1) et de quatre chaînons (1,2)

En raison du nombre important de réactions secondaires se produisant lors de polymérisations par ouverture de cycle par voies cationique et anionique, peu de travaux concernant la synthèse de copolymères à architectures contrôlées ont pu être réalisés.

### 1.1.2.3. La voie coordination-insertion

La polymérisation par ouverture de cycle par coordination-insertion utilise généralement des alcoolates ou carboxylates de métaux comme l'aluminium, l'étain ou des métaux de transitions dont l'électropositivité est plus faible que celle des métaux alcalins. Il en résulte que les liaisons carbone-métal ont un caractère plus covalent, ce qui entraîne une baisse de réactivité des centres actifs et par conséquent une limitation des réactions secondaires. Ceci permet un meilleur contrôle de la polymérisation mais donne également lieu à une diminution de la vitesse de polymérisation.

Le mécanisme de polymérisation se déroule en plusieurs étapes (Schéma 1-7) : tout d'abord il y a coordination du monomère à l'amorceur par la fonction carbonyle puis insertion dans la

liaison métal-oxygène avec rupture de la liaison acyle-oxygène ; l'hydrolyse acide de la liaison métal-oxygène conduit ensuite à une extrémité hydroxyle.

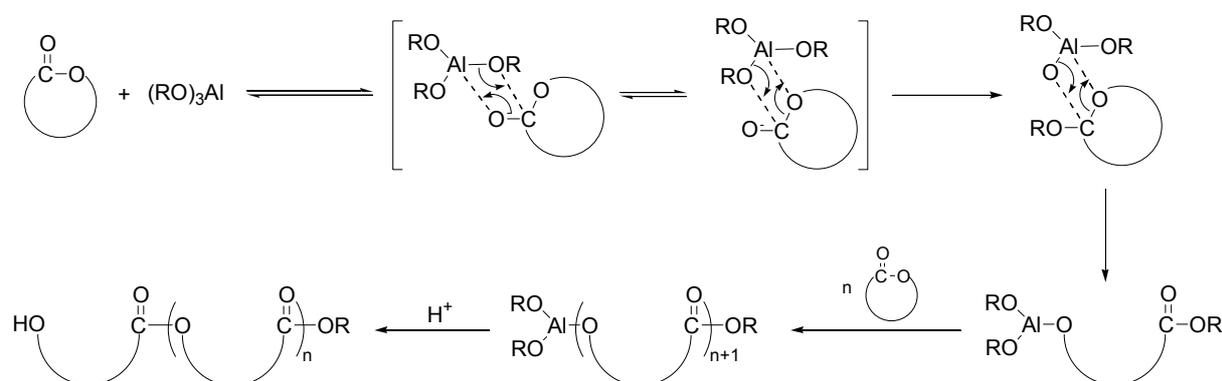


Schéma 1-7 : Mécanisme de polymérisation des lactones amorcée par  $\text{Al}(\text{OR})_3$

Un nombre important de revues ayant été publiées ces cinq dernières années sur la polymérisation par ouverture de cycle de lactones et lactides,<sup>6,8,25-27</sup> nous nous limiterons dans la suite à une présentation succincte des amorceurs les plus couramment utilisés par les principaux groupes de recherche travaillant dans le domaine et faisant intervenir un mécanisme de coordination-insertion (Schéma 1-8).

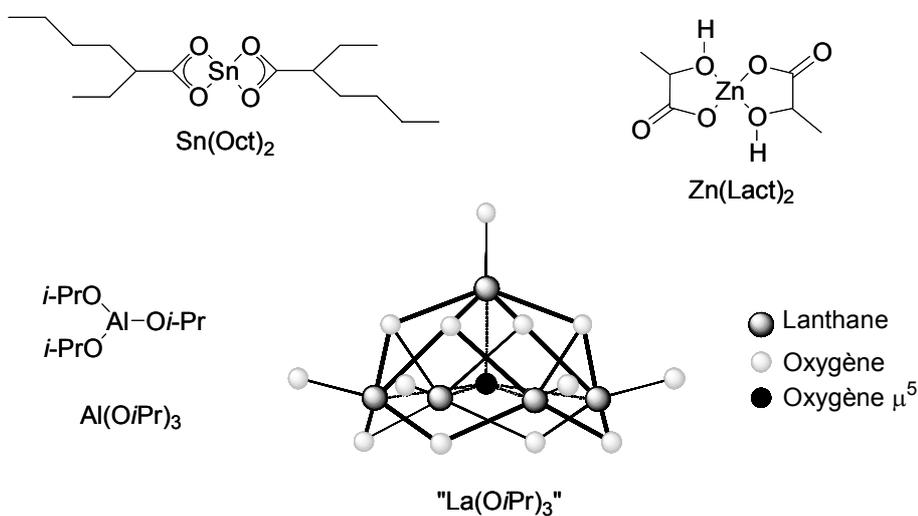


Schéma 1-8 : Structures chimiques de l'octanoate d'étain (II), du lactate de zinc (II), du triisopropanolate d'aluminium (III) et du triisopropanolate de lanthane (cluster  $\text{Ln}_5(\mu\text{-O})(\text{O}i\text{-Pr})_{13}$ )

✓ Octanoate d'étain –  $\text{Sn}(\text{Oct})_2$  :

Le bis(2-éthylhexanoate) d'étain (ou octanoate d'étain)  $\text{Sn}(\text{Oct})_2$  est l'amorceur le plus couramment utilisé pour la préparation de divers polyesters aliphatiques et de copolyesters.<sup>28-42</sup> C'est un catalyseur très efficace, facile à préparer et soluble dans la plupart

des solvants organiques. Les temps de polymérisation classiques avec ce type d'amorceur vont de quelques minutes à plusieurs heures, pour des réactions se faisant généralement en masse à 140-180°C. Il permet l'obtention de polymères de masses molaires élevées ( $10^5$  à  $10^6$  g.mol<sup>-1</sup>) en présence d'un alcool ou d'une amine. Kricheldorf et coll. ainsi que Penczek et coll. ont réalisé de nombreuses études du mécanisme – relativement complexe – de la polymérisation de lactides, lactones ou carbonates amorcée par Sn(Oct)<sub>2</sub>.<sup>43-46 & 47-51</sup> Cependant, bien que le Sn(Oct)<sub>2</sub> ait été approuvé par la FDA en tant qu'additif alimentaire, sous réserve d'un taux résiduel minimum, la toxicité associée à la plupart des composés à base d'étain limite l'utilisation de tels amorceurs pour des applications biomédicales<sup>25</sup> et a conduit au développement d'autres systèmes.

✓ Alcoolates d'aluminium :

Les alcoolates d'aluminium comme Al(OR)<sub>3</sub> et R'<sub>2</sub>Al(OR), utilisés pour la première fois par Teysié et coll., sont également des catalyseurs efficaces et très largement étudiés pour la polymérisation par ouverture de cycle d'esters cycliques.<sup>52</sup>

Avec le triisopropanolate d'aluminium Al(Oi-Pr)<sub>3</sub>, le plus couramment utilisé,<sup>53-62</sup> les temps de polymérisation sont de plusieurs jours pour des réactions réalisées en masse à 125-180°C et les valeurs des masses molaires ne dépassent pas les 10<sup>5</sup> g.mol<sup>-1</sup>. Ce type d'amorceur est donc significativement moins efficace que Sn(Oct)<sub>2</sub> pour des polymérisations en masse. Il est préférentiellement utilisé en solution et s'avère efficace dès les basses températures (0-25°C). Toutefois, ce type de polymérisation est caractérisé par une période d'induction de quelques minutes attribuée à la période de désagrégation de l'amorceur. Pour toutes ces raisons, Al(Oi-Pr)<sub>3</sub> est beaucoup moins utilisé que Sn(Oct)<sub>2</sub> pour la préparation de polyesters aliphatiques dégradables utilisables dans le domaine du vivant, d'autant plus que l'aluminium n'est pas un composé présent naturellement dans le corps humain et qu'il est suspecté d'avoir un effet dans l'apparition de la maladie d'Alzheimer.<sup>25</sup>

✓ Alcoolates de terres rares :

L'utilisation d'alcoolates de terres rares (scandium, yttrium, lanthane ...) comme amorceurs pour la polymérisation par ouverture de cycle d'esters cycliques est relativement récente et a été rapportée pour la première fois, il y a une quinzaine d'années, par McLain et Drysdale.<sup>63</sup> Généralement, l'activité de tels amorceurs est plus importante que celle

des alcoolates d'aluminium :<sup>64-66</sup> les alcoolates de lanthane et d'yttrium tout comme les complexes de samarium permettent la préparation de polyesters de masses molaires élevées dans des conditions relativement douces, à température ambiante et en des temps courts.<sup>67-69</sup> Selon la nature des ligands et le degré d'oxydation du métal, les réactions secondaires peuvent être très limitées ou inexistantes, ce qui permet la préparation de polyesters dont la distribution des masses (MWD) est étroite.<sup>70-73</sup>

Cette génération d'amorceurs offre donc un bon compromis entre les amorceurs anioniques (vitesses de réaction élevées mais MWD élevés et réactions de transestérification plus nombreuses limitant les possibilités de synthèse de copolymères à architectures contrôlées) et les amorceurs à base de métaux de transition de série d (limitation des réactions secondaires, meilleur contrôle, possibilité de synthétiser des copolymères mais diminution de la vitesse de réaction) (Tableau 1-2).

Amorceur	Voie de polymérisation	$k_p$ (L.mol <sup>-1</sup> .S <sup>-1</sup> )	$\beta_1 = k_p/k_{tr(1)}$	Température (°C)	Référence
NaOR	Anionique	1,70	$1,6.10^3$	20	74
Et <sub>2</sub> Al(OR)	Coordination-insertion	0,039	$4,6.10^4$	25	75
Al(Oi-Pr) <sub>3</sub>	Coordination-insertion	0,50	–	25	76
Sn(Oct) <sub>2</sub>	Coordination-insertion	$3,7.10^{-4}$	–	80	77
La(Oi-Pr) <sub>3</sub>	Coordination-insertion	5,00	–	25	78

**Tableau 1-2 : Valeurs des constantes de vitesse et des paramètres de sélectivité  $\beta_1$  pour différents amorceurs dans le cas de la polymérisation de l' $\epsilon$ -CL**

Les paramètres de sélectivité,  $\beta_1$  et  $\beta_2$ , d'un couple amorceur/monomère sont définis comme étant le rapport de la constante de vitesse de propagation ( $k_p$ ) sur la constante de vitesse de transestérification intra- ( $k_{tr(1)}$ ) ou intermoléculaire ( $k_{tr(2)}$ ) :

- rétroscission :  $\beta_1 = k_p/k_{tr(1)}$

- redistribution :  $\beta_2 = k_p/k_{tr(2)}$

Seules quelques valeurs de  $\beta_1$  sont publiées ; plus la valeur de ce paramètre est importante, moins nombreuses sont les réactions secondaires.

✓ Autres complexes de terres rares :

D'autres complexes à base de terres rares ont fait l'objet de nombreuses études depuis une dizaine d'années. Il s'agit par exemple des complexes trifonctionnels homoleptiques de terres rares tels que LnX<sub>3</sub> (Ln = La, Nd, Sm ; X = Cl, I), Ln(Cp)<sub>3</sub> (Ln = Ce, Pr, Sm, Gd, Er ; Cp =  $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>), Ln(NPPh<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, Ln(BH<sub>4</sub>)<sub>3</sub>(THF)<sub>3</sub>, dont les performances en polymérisation par ouverture de cycle d'esters cycliques ont été clairement établies. Des complexes

monofonctionnels de terres rares tels que des complexes halogénures, alkyles, amidures ou hydrures de terres rares avec des ligands spectateurs tels que des groupements cyclopentadiényles, phospholyles ont aussi été utilisés (ex :  $[\text{Sm}(\mu\text{-Cl})\{\text{N}(\text{TMS})_2\}_2(\text{THF})]_2$ ,  $(\text{Cp}^*)_2\text{Sm}(\text{Me})(\text{THF})$ ,  $[(\text{Cp}^*)_2\text{SmH}]_2$  etc.).

Les caractéristiques chimiques des terres rares – rayon ionique plus grand, nombre de coordination et électropositivité plus élevés que ceux des autres métaux utilisés en polymérisation par coordination-insertion – font de ces complexes des amorceurs très efficaces en polymérisation par ouverture de cycle d'esters cycliques.

Toutes les données bibliographiques sur le sujet ont été publiées dans le cadre d'un document de thèse.<sup>79</sup>

✓ Amorceurs à base de zinc :

Comme nous l'avons exposé précédemment, les amorceurs les plus couramment envisagés pour la polymérisation par ouverture de cycle d'esters cycliques sont des dérivés de l'étain ou de l'aluminium, l'octanoate d'étain étant notamment l'un des deux amorceurs principalement utilisés pour la polymérisation industrielle du D,L-lactide. Or, lorsque le domaine d'applications concerné est biomédical, ces composés présentent des contraintes importantes au niveau de la toxicité, d'autant que les résidus de ces métaux ne sont pas toujours complètement éliminés, même après purification des polymères.

C'est dans ce contexte que plusieurs groupes de recherche se sont intéressés aux potentialités des dérivés du zinc en tant qu'amorceurs non toxiques et résorbables, pour la polymérisation par ouverture de cycle d'esters cycliques. Parmi ceux-ci, la poudre de zinc (utilisée industriellement avec l'octanoate d'étain pour la polymérisation du D,L-lactide) et divers alcoolates ou sels de zinc, comme par exemple l'octanoate de zinc, le stéarate de zinc ou le lactate de zinc.<sup>80-86</sup>

Des études comparatives menées par Vert et coll. sur la polymérisation du DL-lactide amorcée par le zinc et  $\text{Sn}(\text{Oct})_2$  ont montré, d'une part, l'obtention de meilleurs résultats dans le cas d'un amorçage par  $\text{Sn}(\text{Oct})_2$  (polymérisation plus rapide, moins de réactions de transestérification etc.) et, d'autre part, la variation très importante des propriétés du polymère en fonction du système d'amorçage utilisé (propriétés de dégradation, hydrophobie, ...). Concernant ce second point, les résultats les plus intéressants ont été obtenus avec le zinc ; en outre, les traces de métal résiduel détectées dans le polymère sont dix fois moins élevées dans le cas du zinc (20-40 ppm pour le zinc contre 300-400 ppm pour l'étain).<sup>87-90</sup>

Depuis quelques années, des amorceurs de type complexes de zinc monofonctionnels ont été développés dans le but d'améliorer le contrôle de la polymérisation. La nature des ligands permet de contrôler la valeur des masses molaires et celle de leur distribution, ainsi que la stéréochimie.<sup>91-93</sup>

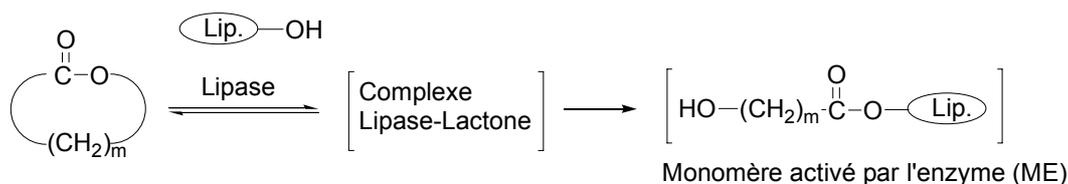
Toujours dans le but de trouver de nouveaux amorceurs non toxiques et résorbables pour la préparation de polyesters aliphatiques à applications potentiellement biomédicales, de nombreux sels et complexes à base d'autres métaux familiers du corps humain (cations  $\text{Na}^{\oplus}$ ,  $\text{K}^{\oplus}$ ,  $\text{Mg}^{2\oplus}$ ,  $\text{Ca}^{2\oplus}$ ,  $\text{Fe}^{2\oplus}$ ) ont été étudiés.<sup>86</sup>

### I.1.3. Les polyesters préparés par voie enzymatique

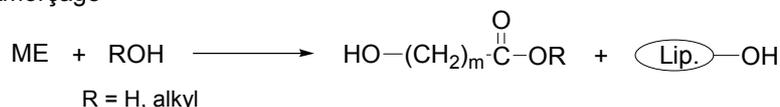
La polymérisation par voie enzymatique, utilisable aussi bien en polycondensation qu'en polymérisation par ouverture de cycle, est une technique très intéressante sur le plan de la « chimie verte ».<sup>94,95</sup> Uyama et Kobayashi<sup>96</sup> ainsi que Knani *et al.*<sup>97</sup> ont montré, dès 1993, la possibilité de polymériser de l' $\epsilon$ -caprolactone et de la  $\delta$ -valerolactone par voie enzymatique, en utilisant la *Pseudomonas fluorescens* (lipase PF), la *Candida cylindracea* (lipase CC) et la lipase *porcine pancreas* (PPL) comme systèmes d'amorçage.

Comme dans le cas des systèmes d'amorçage classiques, la polymérisation par ouverture de cycle de lactones par voie enzymatique donne de meilleurs résultats (masses molaires et conversion en monomère beaucoup plus élevées) que la polycondensation par voie enzymatique.

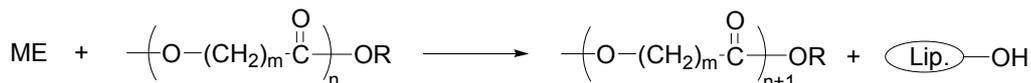
La polymérisation par ouverture de cycle de lactones par voie enzymatique procède via un mécanisme de type monomère activé, présenté pour la première fois par Uyama *et al.* en 1995 (Schéma 1-9). La réaction de la lipase avec une lactone donne lieu à une ouverture du cycle et à la formation du monomère activé par l'enzyme (ME). L'amorçage consiste ensuite en une attaque nucléophile de l'eau ou d'un alcool sur le carbone de la fonction carbonyle du monomère activé, ce qui donne lieu à la formation d'un acide  $\omega$ -hydroxycarboxylique ou d'un ester  $\omega$ -hydroxycarboxylique. Puis, l'attaque nucléophile par cette espèce d'un autre monomère activé déclenche la propagation de la polymérisation. L'étape déterminante pour la vitesse de la polymérisation est la formation du monomère activé ME.



Amorçage



Propagation



**Schéma 1-9 : Mécanisme de la polymérisation par ouverture de cycle de lactones amorcée par voie enzymatique**

Des lactones de petite et moyenne tailles (4, 6 et 7 chaînons), mais également de grande taille (12 à 16 chaînons) ont toutes été polymérisées avec succès par cette voie en utilisant diverses lipases ; la polymérisabilité des monomères dépend à chaque fois non seulement de la taille du cycle mais également de la nature de l'enzyme (Tableau 1-3).

La température et le temps de réaction ainsi que la quantité d'eau présente dans le milieu réactionnel sont des paramètres déterminants pour le contrôle de la conversion en monomère et de la masse molaire du polymère. Dans tous les exemples publiés, il semble difficile d'obtenir simultanément en des temps courts, des taux de conversion élevés, des masses molaires les plus grandes possibles et des MWD étroites (Tableau 1-3).

Lactone	Enzyme <sup>†</sup>	Temp. (°C)	Temps (h)	Conv. (%)	$\overline{M}_n$ (g.mol <sup>-1</sup> )	$\overline{M}_w/\overline{M}_n$
δ-VL	Lipase CC	60	5	77	1 400	1.7
	Lipase PF			92	2 000	2.7
	PPL			96	1 100	2.0
ε-CL	Lipase CC	60	240	92	1 900	2.0
	Lipase PF	60	240	71	7 000	2.2
	PPL	75	480	99	12 000	2.3
UDL	PPL	60	240	95	1 300	1.7
	Lipase CC	75	240	95	25 200	2.2
Lipase PF	48		98	19 500	2.5	
DDL	Lipase CC	75	120	99	13 000	2.8
	Lipase PF	60		99	4 000	2.5
PDL	Lipase PF	75	120	100	9 600	3.3
	Lipase CC	75		65	16 200	2.4
	Lipase PF			96	7 200	2.7

**Tableau 1-3 : Polymérisation par ouverture de cycle de la δ-Valerolactone (δ-VL), de l'ε-Caprolactone (ε-CL), de la 11-Undecanolide (UDL), de la 12-Dodecanolide (DDL) et de la 15-Pentadecanolide (PDL), par trois enzymes différentes (50 mg / mmol de lactone) en masse<sup>94</sup>**

<sup>†</sup> Lipase CC : *Candida cylindracea* ; Lipase PF : *Pseudomonas fluorescens* ; PPL : lipase porcine pancreas.

Les polymérisations se font en général en masse, parfois en solution, mais dans chaque cas, étant donné l'hétérogénéité du milieu réactionnel (enzyme en suspension), des quantités d'enzyme de 20 à 50 % en masse par rapport au monomère sont utilisées. L'utilisation de systèmes d'amorçage où la lipase est « immobilisée » sur un support (ex : Celite ou résine acrylique) a révélé une activité catalytique beaucoup plus importante puisque dans ce cas, seulement 1 % d'enzyme permet d'obtenir une activité catalytique comparable à celle de l'enzyme sous forme de poudre (Tableau 1-4).<sup>98-100</sup>

Lactone	Enzyme <sup>†</sup>	Quantité (mg)	Temps (h)	Conv. (%)	$\bar{M}_n$ (g.mol <sup>-1</sup> )	$\bar{M}_w/\bar{M}_n$
ε-CL	Lipase CA	2	4	35	2 600	2.7
		5	4	61	3 600	3.0
		10	4	72	5 200	3.2
		10	24	99	4 300	2.7
		20	4	98	5 000	2.5
	Lipase PF	10	24	0	-	-
DDL	Lipase CA	10	4	38	3 400	3.7
		10	24	59	2 800	3.4
	Lipase PF	10	24	12	2 300	2.0
		50	240	100	4 700	2.7

**Tableau 1-4 : Polymérisation par ouverture de cycle de l'ε-Caprolactone (ε-CL) et de la 12-Dodecanolide (DDL) (1 mmol) en masse à 60°C, par des systèmes d'amorçage où l'enzyme est immobilisée sur un support<sup>98</sup>**

Plusieurs revues ont été publiées ces dernières années faisant le point sur l'avancement des travaux de recherche concernant la polymérisation par voie enzymatique<sup>101,102</sup> et, plus précisément, la préparation de polyesters par cette voie.<sup>103,104</sup>

#### I.1.4. Propriétés et utilisations des polyesters aliphatiques

Les polyesters aliphatiques développés initialement étaient de faibles masses molaires et présentaient des propriétés mécaniques assez médiocres.

Plus tard, dans les années 1960-1970, le poly(glycolide) et le poly(lactide) ont été les premiers matériaux polymères biocompatibles, dégradables et biorésorbables entièrement synthétiques, utilisés dans le domaine biomédical. Ces polymères, ainsi que leurs copolymères, forment aujourd'hui la base des matériaux de sutures chirurgicales, des dispositifs de vectorisation de médicaments et des matériaux utilisés comme implants.

<sup>†</sup> Lipase CA : *Candida antarctica*.

La polymérisation par ouverture de cycle de lactones, lactides et carbonates a permis d'obtenir des polyesters de masse molaire très élevée avec de bonnes propriétés mécaniques. Divers types de copolyesters (à blocs, aléatoires, ...) ont été étudiés avec l'objectif d'améliorer leur propriétés mécaniques et de mieux contrôler les paramètres de dégradation.

#### 1.1.4.1. Propriétés physiques

Les polyesters aliphatiques trouvent une multitude d'applications dont chacune requiert des propriétés différentes du matériau. Les propriétés physiques et les propriétés de dégradation des polyesters aliphatiques dépendent de plusieurs paramètres comme la composition et la structure de l'unité monomère, la masse molaire, la cristallinité mais également la présence de groupements fonctionnels sur la chaîne polymère. Nous avons rassemblé dans le Tableau 1-5 quelques caractéristiques principales des polyesters les plus couramment utilisés.

Polymère	Cristallinité (%)	T <sub>m</sub> (°C)	T <sub>g</sub> (°C)	Module d'élasticité (Gpa)	Temps de dégradation (mois)
Poly(GL)	45-55	220-225	35-45	7.0	6 à 12
Poly(L ou D-LA)	40	170-180	55-65	2.7	> 24
Poly(D,L-LA)	-	-	55-60	1.9	12 à 16
Poly(ε-CL)	50-65	60	(-60)	0.4	> 24
Poly(DXO)	-	-	(-36)	NR	NR
Poly(PDO)	NR	NR	(-10)-0	1.5	6 à 12
Poly(TMC)	-	-	(-15)	0.003	NR

**Tableau 1-5 : Propriétés physiques de quelques polyesters, parmi les plus couramment utilisés.**

Les propriétés du polylactide dépendent de la stéréochimie du motif unitaire. Alors que le poly(L-LA) et le poly(D-LA) sont des matériaux durs et semi-cristallins, le poly(D,L-LA) est un matériau amorphe, ce qui explique les différences observées en ce qui concerne les propriétés de dégradation des matériaux correspondants.

La poly(ε-CL) est un matériau résistant et flexible dont la T<sub>g</sub> bien inférieure à la température ambiante lui confère des propriétés d'élastomère et une perméabilité aux espèces de faible masse molaire à la température du corps. Ce polymère est donc un candidat idéal pour des applications de vectorisation et de libération contrôlée de médicaments.

La poly(*p*-dioxanone) est un matériau solide et flexible. Des sutures préparées à partir de ce matériau seul présentent une bonne ténacité et une bonne flexibilité.

Ainsi, chaque matériau présente des propriétés physiques intéressantes mais souvent limitées pour des applications spécifiques. C'est pourquoi il est souvent utile d'associer ces polymères

entre eux (copolymères ou mélanges) ou bien avec des polymères d'autres familles, afin de moduler à convenance les propriétés du matériau. Par cette méthode, il est possible de contrôler les paramètres tels que la température de transition vitreuse ( $T_g$ ), la température de fusion ( $T_m$ ), la cristallinité ou la vitesse de dégradation/biodégradation.<sup>8,27</sup>

Par exemple, Albertsson et coll. ont récemment préparé des copolymères à blocs à base de TMC, L-LA et DXO dans le but d'obtenir des matériaux aux propriétés d'élasticité adéquates pour une utilisation dans le domaine de l'ingénierie tissulaire.<sup>105</sup>

Par ailleurs, chaque macromolécule formée contient généralement un bout de chaîne provenant de la réaction de terminaison et un autre provenant de l'amorceur. En changeant le système d'amorçage mais aussi la réaction de terminaison, la nature des groupements fonctionnels terminaux peut être ajustée et adaptée en fonction des applications visées. En effet, les extrémités de chaîne ont un rôle important lorsqu'il s'agit d'effectuer des réactions de couplage, de copolymérisation ou tout simplement des modifications chimiques.

Dans le cas, par exemple, de la polymérisation par voie enzymatique détaillée précédemment, un co-amorçage par des alcools fonctionnalisés permet d'accéder à une grande variété de fonctions terminales différentes.

Des groupements fonctionnels peuvent également être introduits le long de la chaîne polymère, ce qui permet à nouveau de contrôler les propriétés physiques du matériau et offre un large éventail de possibilités pour de nouvelles fonctionnalisations et la synthèse d'architectures plus élaborées de type peigne ou brosse. Une méthode simple pour accéder à ce type de polymères fonctionnalisés est l'utilisation de monomères eux-mêmes fonctionnalisés. On peut citer à titre d'exemple les travaux de Möller et coll. concernant la synthèse et la polymérisation par ouverture de cycle de nouveaux lactides substitués par divers groupements alkyles<sup>106</sup> et de caprolactones fonctionnalisées (Schéma 1-10),<sup>107</sup> ou bien les travaux de Jérôme et coll. concernant la synthèse de nouveaux polyesters aliphatiques fonctionnalisés, par modification chimique de divers copolymères statistiques à base d' $\epsilon$ -caprolactone et d' $\epsilon$ -caprolactone fonctionnalisée (Schéma 1-11).<sup>108,109</sup>

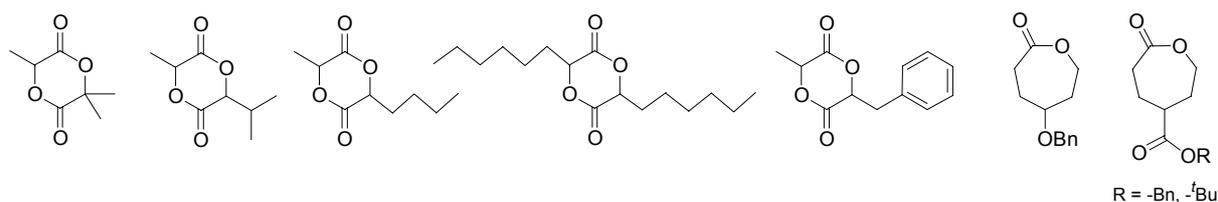


Schéma 1-10 : Structures de divers lactides et d' $\epsilon$ -caprolactones fonctionnalisés, synthétisés par Möller et coll.<sup>106,107</sup>

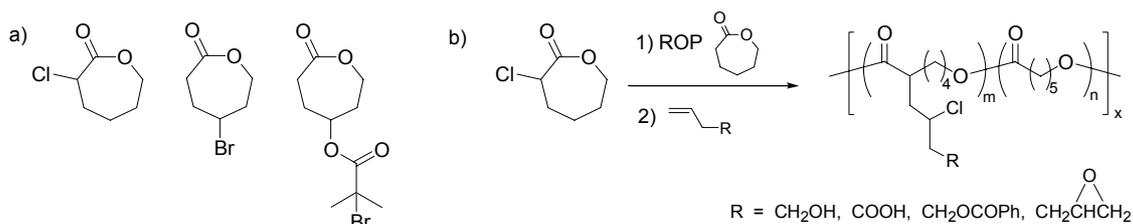


Schéma 1-11 : a) Structures d' $\epsilon$ -caprolactones fonctionnalisées utilisées par Jérôme et coll. pour la copolymérisation statistique avec l' $\epsilon$ -caprolactone. b) Réactions de fonctionnalisation pouvant être effectuées par la suite<sup>108,109</sup>

#### I.1.4.2. Applications les plus courantes

Parmi les applications les plus courantes des polyesters aliphatiques dégradables et biorésorbables, on trouve les sutures chirurgicales, les dispositifs de fixation orthopédiques et certains dispositifs pour les soins dentaires.

Les sutures biorésorbables à base de polyesters ont été utilisées dès les années 70 (Tableau 1-6) ; elles se présentent essentiellement sous forme de monofilaments ou de filaments tressés (Fig. 1-1 & Fig. 1-2).

Nom	Composition	Fabricant / Date	Dégradation complète
Dexon®	Poly(GL)	Davis & Geck / 1970	90-120 jours
Maxon®	Poly(TMC-co-GL)	Davis & Geck / 1985	180-210 jours
Vicryl®	Poly(L-LA(8%)-co-GL(92%))	Ethicon / 1974	56-70 jours
Monocryl®	Poly( $\epsilon$ -CL-co-GL)	Ethicon / 1993	90-120 jours
PDSII®	Poly( <i>p</i> -dioxanone)	Ethicon / 1982	180-210 jours
Polysorb®	Poly(GL(18%)-co-L-LA(82%))	U.S. Surgical	56-70 jours
Biosyn®	Poly(PDO(14%)-co-TMC(26%)-co-GL(60%))	U.S. Surgical	90-110 jours

Tableau 1-6 : Principales sutures chirurgicales disponibles commercialement<sup>110</sup>

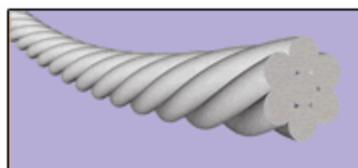


Fig. 1-1 : Sutures chirurgicales monofilament et tressée<sup>111</sup>

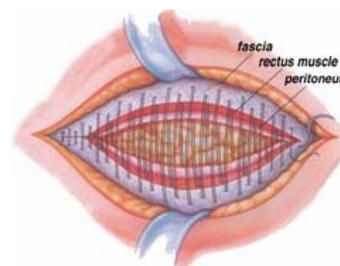


Fig. 1-2 : Suture rapide, efficace et sûre d'une plaie en utilisant la technique « looped suture technique »<sup>111</sup>

Les dispositifs de fixation orthopédiques sont essentiellement des vis, broches et plaques, utilisées en chirurgie réparatrice des os, articulations, muscles et tendons. (Tableau 1-7)

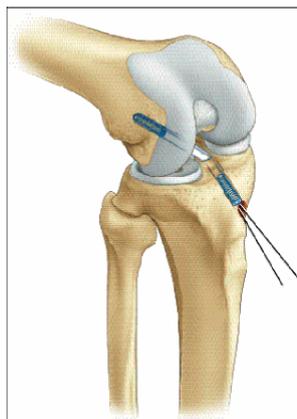
Nom	Composition	Fabricant / Date	Utilisation
Phusiline®	Poly(D,L-LA)	Phusis	Vis d'interférence pour la chirurgie des ligaments
Sysorb®	Poly(D,L-LA)	Synos / 1995	
Endofix®	Poly(TMC(32.5%)- co-GL(67.5%))	Smith & Nephew / 1996	
Arthrex®	Poly(L-LA)	Arthrex	Broches en forme de T pour la chirurgie réparatrice du ménisque
Bioscrew®	Poly(L-LA)	Linvatec Corp.	
Biofix®	Poly(L-LA)	Bioscience ltd.	Agrafes résorbables pour la fixation des membranes en RTG et ROG
Resor-Pin®	Poly(D,L-LA)	Geistlich	Vis, plaques et broches pour la petite traumatologie Vis d'interférence pour la chirurgie des ligaments
LactoSorb®	Poly(GL(18%)-co- L-LA(82%))	Biomet Inc.	

**Tableau 1-7 : Principaux dispositifs de fixation orthopédiques disponibles commercialement<sup>110</sup>**

Les vis comme Sysorb® ou Endofix® dont la dégradation complète intervient au bout de 12 mois sont par exemple utilisées dans le cadre d'une chirurgie reconstructrice des ligaments (ex : ligaments antérieurs croisés), pour la fixation du nouveau ligament aux os (Fig. 1-3 & Fig. 1-4). Les broches comme Biofix® sont utilisées dans le cadre d'une chirurgie réparatrice du ménisque et permettent de ponter d'une façon stable des lésions périphériques du ménisque interne et externe.



**Fig. 1-3 : Vis d'interférence Bioscrew® (Ø 7/11 mm, L 20/30 mm)<sup>111</sup>**



**Fig. 1-4 : Reconstruction d'un ligament antérieur par une greffe, avec dispositif de fixation<sup>111</sup>**



Aujourd'hui, les membranes résorbables sont utilisées avec succès en RTG (Régénération Tissulaire Guidée) pour le traitement des défauts parodontaux et en ROG (Régénération Osseuse Guidée) pour la régénération des défauts osseux en chirurgie implantaire (cf paragraphe suivant). La solidarisation intime des membranes peut se faire facilement avec

des petites agrafes résorbables du type Resor-pin® (Fig. 1-5) plutôt qu'avec des sutures. Les agrafes sont particulièrement indiquées lorsque la langue ou les joues du patient exercent une pression sur le site opératoire.

Enfin, le Lactosorb® désigne globalement un type de matériau (Tableau 1-7) qui peut se présenter sous plusieurs formes : des vis, des plaques et des broches de petite taille qui se résorbent en 12 mois et sont utilisées pour la petite traumatologie, ou des vis d'interférence qui se résorbent en 9 à 15 mois et sont utilisées comme précédemment en ligamentoplastie du genou (Fig. 1-6).



Fig. 1-5 : Agrafes Resor-pin® (Ø 1 mm, L 3mm)<sup>111</sup>



Fig. 1-6 : Lactosorb® vis, plaques et broches (Ø 1,5/5 mm), et vis d'interférence (Ø 7/10mm, L 20/30mm)<sup>111</sup>

Enfin, les polyesters aliphatiques dégradables ont trouvé plusieurs applications dans le domaine des soins dentaires, notamment pour le traitement des lésions parodontales (Tableau 1-8). Des films de polymères sont utilisés comme membranes résorbables dont le rôle est de stimuler la régénération des tissus et/ou de l'os selon des procédures de RTG et ROG (Fig. 1-7).

Nom	Composition	Fabricant	Dégradation complète
Resolut®	Poly(TMC(33%)- co-GL(67%))	W.L. Gore	8-10 semaines
Atrisorb®	Poly(D,L-LA)	Atrix Lab.	9-12 mois

Tableau 1-8 : Exemples de membranes résorbables disponibles commercialement pour le traitement des parodontites<sup>110</sup>



Fig. 1-7 : Application du gel Atrisorb® sur une lésion<sup>111</sup>

Le domaine de la libération contrôlée est également un domaine très important d'application des polyesters dégradables.<sup>112</sup> Les avantages des systèmes de libération contrôlée résident dans l'amélioration de l'efficacité biologique et pharmaceutique des principes actifs, le prolongement de leur activité biologique et la diminution de leur fréquence d'administration (Fig. 1-8).

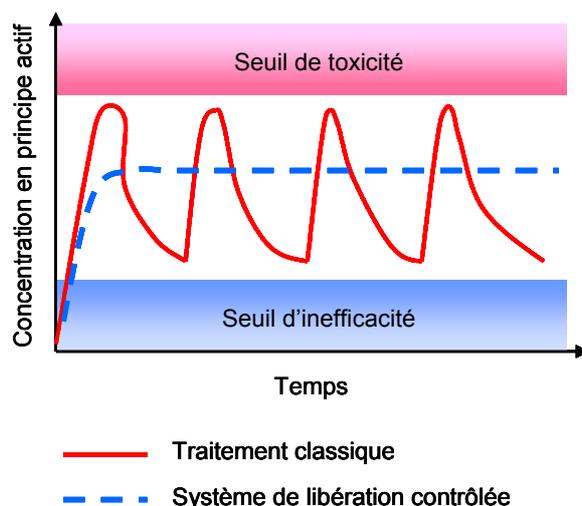


Fig. 1-8 : Concentration de principe actif présent dans le sang avec un traitement classique et un dosage contrôlé

Depuis une vingtaine d'années, le poly(L-LA) et ses copolymères avec le D-lactide, le glycolide et l' $\epsilon$ -caprolactone sont utilisés pour la vectorisation et la libération contrôlée de principes actifs. Les systèmes disponibles commercialement se présentent essentiellement sous forme de microparticules ou d'implants (ex : type bâtonnet) (Tableau 1-9).

Le premier système de libération contrôlée à base de microparticules de poly(D,L-LA-co-GL) injectables est apparu sur le marché vers 1986 sous le nom de Decapeptyl LP ; il permet l'administration de triptoréline utilisée entre autres pour le traitement du cancer de la prostate. Trois ans plus tard, c'est Lupron Depot® qui apparaissait sur le marché ; son principe actif, la leuprolide, est également utilisé pour le traitement du cancer avancé de la prostate. Risperdal Consta® est une des formulations les plus récemment approuvées par la FDA, c'est le premier antipsychotique de dernière génération disponible sous forme d'injection à action prolongée (2 semaines).

Nom	Fabricant	Principe actif	Libération	Indication
Lupron Depot® <sup>a</sup>	Abbott	Leuprolide	1 à 4 mois	
Trelstar™ Depot <sup>a</sup>	Pfizer	Triptoréline	1 à 3 mois	Traitement du cancer de la prostate, de l'utérus ou du sein.
Zoladex® <sup>b</sup>	AstraZeneca	Goséréline	1 à 3 mois	
Profact® Depot <sup>b</sup>	Aventis	Buséréline	2 à 3 mois	
Decapeptyl LP <sup>a</sup>	Beaufour Ipsen Pharma	Triptoréline	1 à 3 mois	Traitement du cancer de la prostate, de l'infécondité ...
Arestin® <sup>a</sup>	OraPharma	Minocycline	2 sem.	Traitement des parodontites (antibiotique)
Risperdal Consta™ <sup>a</sup>	Johnson & Johnson	Rispéridone	2 sem.	Traitement de la schizophrénie
Nutropin Depot® <sup>a</sup>	Genetech	Hormone de croissance	0,5 à 1 mois	Traitement des déficiences de croissance

<sup>a</sup> Microparticules. <sup>b</sup> Implants de type bâtonnets.

Dans le domaine de la contraception, où la demande pour des systèmes à libération contrôlée est très importante, deux sortes d'implants sont utilisés :

1) les implants non biorésorbables, dont le support doit être retiré après la période d'utilisation (implants creux en forme de tube dont la cavité centrale contient le progestatif et implants matriciels constitués d'une tige pleine au sein de laquelle le stéroïde est dispersé)

2) les implants dégradables qui utilisent un vecteur libérant le progestatif tout en se dissolvant eux-mêmes dans le tissu cutané.

De nombreux implants à base de progestatif ont été mis au point, mais les dispositifs disponibles commercialement sont pour l'instant essentiellement à base d'implants non dégradables.

Il faut également souligner que des systèmes de copolymères à blocs dégradables amphiphiles à base de polyesters et de poly(oxyde d'éthylène), capables de s'auto-organiser sous forme de micelles, font également l'objet de nombreuses études dans le domaine de la vectorisation de principes actifs ; c'est un point que nous développerons ultérieurement dans la partie 4 de ce manuscrit.

De nombreuses autres applications potentielles des polyesters aliphatiques dégradables sont toujours à l'étude. Il s'agit par exemple de greffons vasculaires, de stents, de diverses prothèses, d'organes ou de peau artificiels, de pansements bioactifs, ... qui vont pour la plupart être utilisés dans le cadre de l'ingénierie et de la régénération tissulaire.

Enfin, pour terminer cette partie concernant les applications des polyesters aliphatiques dégradables et les systèmes déjà commerciaux, il ne faut pas oublier de citer les applications dans le domaine de l'agriculture, pour lequel les applications les plus avancées concernent les films de paillage, et les applications dans la vie quotidienne comme substituts à certains « plastiques » de commodité (Tableau 1-10). Dans ce domaine, l'offre la plus aboutie concerne l'emballage. On peut citer l'exemple d'Ecoflex®, une résine polyester dégradable transparente qui possède des propriétés de barrière à l'oxygène et à l'eau, mise au point par BASF et dont l'application la plus courante est le laminage sur des supports dégradables, permettant ainsi un contact de l'emballage avec des denrées liquides ou grasses. D'autres matériaux à base de polyesters sont également utilisés comme emballages dégradables et compostables destinés notamment au conditionnement de produits agroalimentaires (Tableau 1-10).

Matière première	Fabricant /Pays	Composition	Produits dérivés
Mater-Bi®	Novamont / Italie	PCL, amidon de maïs, additif	Films de paillage
			Sachets
			Barquettes rigides / semi-rigides
			Film de thermoformage
Nature Works®	Cargill Dow / USA	PLA, amidon de maïs, additifs	Barquettes rigides / semi-rigides
			Barquettes laminées
			Opercules thermoscellables
			Films souples
Eastar Bio®	Eastman Chemicals / USA	Polyester	Barquettes laminées
			Bouteilles
			Flacons
Ecoflex®	BASF / Allemagne	Polyester	Barquettes rigides, laminées
			Films
Biomax®	Dupont De Nemour / USA	Polyester, additifs	Barquettes rigides, laminées
			Films

Tableau 1-10 : Matières premières, fabricant, composition et utilisation de plusieurs matériaux à base de polyesters dans le domaine de l'emballage<sup>110</sup>

## I.2. Les poly(acide $\alpha$ -aminé)s : synthèse, propriétés et applications

Si les polyesters aliphatiques sont aujourd'hui encore les polymères synthétiques dégradables les plus couramment utilisés, d'autres polymères font l'objet d'un très grand intérêt, notamment les poly(acide  $\alpha$ -aminé)s. En effet, les acides  $\alpha$ -aminés étant des composés naturellement présents dans les systèmes vivants et des molécules présentant une activité biologique, la synthèse de poly(acide  $\alpha$ -aminé)s biodégradables, biocompatibles et *a fortiori* non toxiques est apparue des plus intéressante et prometteuse. Comme dans le cas des polyesters, les problématiques actuelles liées au traitement des déchets, à la pollution environnementale et à l'épuisement des ressources en pétrole contribuent également au grand intérêt porté à ces polymères.

Les méthodes de synthèse des poly(acide  $\alpha$ -aminé)s basées sur la polycondensation de séquences d'acides aminés ne sont pas efficaces pour la préparation de polymères de masses molaires élevées, en raison de réactions secondaires importantes se produisant aux températures requises pour effectuer ce genre de réactions (150-200°C).<sup>113</sup> La première méthode qui s'est révélée vraiment efficace pour la préparation de poly(acide  $\alpha$ -aminé)s synthétiques de masses molaires suffisamment élevées pour obtenir des matériaux aux propriétés exploitables, est la polymérisation des N-CarboxyAnhydrides de ces acides

(NCA ou anhydrides de Leuchs) (Schéma 1-12).<sup>114-116</sup> Dans des conditions de réaction appropriées, il est possible d'obtenir des polymères de masses molaires élevées avec un bon rendement et un bon contrôle. La grande variété de monomères NCA déjà synthétisés (>200) permet la préparation d'une grande diversité de poly(acide  $\alpha$ -aminés).

### I.2.1. Les poly (acide $\alpha$ -aminés) préparés par polymérisation par ouverture de cycle de NCAs

Les NCAs peuvent être polymérisés en masse ou en solution, la première voie nécessitant des températures de réaction élevées pour des polymères de faible degré de polymérisation, la seconde pouvant, au contraire, être réalisée à plus basse température, avec un bon contrôle de la polymérisation et des polymères de masses molaires élevées. Il est essentiel, dans ce dernier cas, d'utiliser des solvants inertes et purs comme le dioxane, le DMF, le THF ou le dichlorométhane et ceci afin d'assurer la pérennité des centres actifs tout au long de la polymérisation.

Les NCAs possèdent quatre sites réactifs : deux électrophiles (carbones C2 et C5) et deux nucléophiles (carbone C4 et azote N3) (Schéma 1-12). Cette propriété inhérente à leur structure donne lieu à une chimie assez complexe, source de nombreuses discussions concernant leur mécanisme de polymérisation.

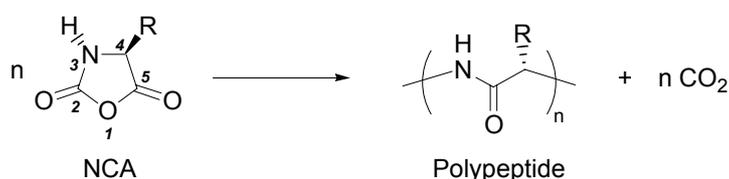


Schéma 1-12 : Principe de polymérisation des N-Carboxyanhydrides d'acides  $\alpha$ -aminés

Les trois principales familles de réactifs susceptibles d'amorcer ce type de polymérisation sont les espèces nucléophiles protiques ou aprotiques, les bases et les composés organométalliques. Les amines, qu'elles soient primaires, secondaires ou tertiaires, sont les composés les plus largement utilisés.

Généralement, ces amorceurs sont classifiés et comparés selon deux critères : leur site préférentiel d'attaque sur le NCA et leur réactivité par rapport à celle de la chaîne en croissance. S'agissant du premier critère, les attaques peuvent avoir lieu sur deux sites de l'hétérocycle, en C5 ou en N3 ; la sélectivité de cette attaque dépend de la balance entre la nucléophilie et la basicité de l'amorceur. S'agissant du deuxième critère, c'est la nucléophilie

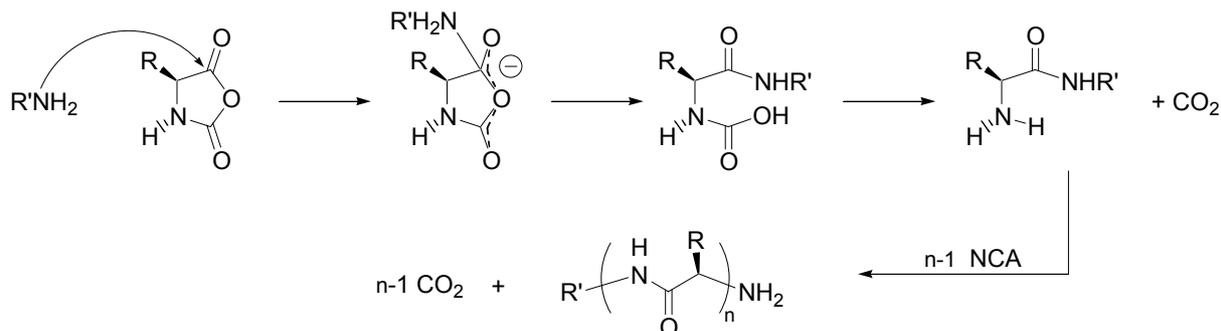
de l'amorceur par rapport à celle de la chaîne en croissance qui détermine la vitesse de l'amorçage et qui influe donc directement sur le contrôle de la polymérisation : lorsque l'amorceur est plus nucléophile que la chaîne en croissance, la durée de l'amorçage est courte par rapport à celle de la propagation, ce qui entraîne un bon contrôle de la taille des chaînes et de leur distribution en masse.

L'efficacité des différents amorceurs dépend à la fois de leur rapport nucléophilie/basicité, mais également du monomère utilisé. Si les amines primaires, plus nucléophiles que basiques, sont en général de bons amorceurs pour de nombreux monomères NCA, les amines tertiaires, plus basiques que nucléophiles, permettent dans certains cas où les amines primaires ne le permettent pas, la préparation de polymères de masses molaires élevées. Il n'existe donc pas de conditions de polymérisation ou d'amorceurs universels pour la préparation de poly(acide  $\alpha$ -aminé)s de masses molaires élevées par ouverture de cycle des NCAs ; les conditions optimales de polymérisation sont déterminées et décrites de façon empirique pour chaque monomère. Ceci est notamment dû aux propriétés différentes de chaque monomère mais est également en rapport avec les éventuelles réactions secondaires.

Les différents systèmes d'amorçage ainsi que les principales caractéristiques des réactions mises en jeu sont répertoriés et bien détaillés dans la littérature.<sup>115,116</sup> Nous nous limiterons, dans cette partie, à une présentation succincte des familles d'amorceurs les plus couramment utilisées et donnant les meilleurs résultats.

#### ***1.2.1.1. Amorçage par les amines primaires, secondaires ou tertiaires***

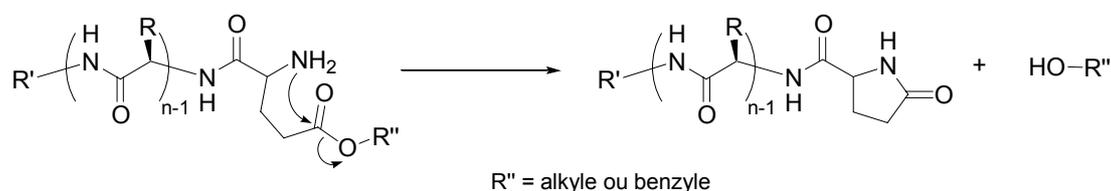
Dans le cas d'amines possédant un rapport nucléophilie/basicité élevé, la polymérisation a lieu via un processus nucléophile de croissance de chaîne par ouverture de cycle, au cours duquel la masse du polymère peut croître linéairement avec la conversion en monomère, dans la mesure où les réactions secondaires sont absentes (basse température de polymérisation, pureté du solvant et des réactifs) ; c'est le mécanisme « amine » (Schéma 1-13). Après l'attaque nucléophile directe de l'amine sur le carbone C5 de l'hétérocycle, l'ouverture de cycle est suivie par l'élimination d'une molécule de dioxyde de carbone et donne lieu à la formation d'un adduit possédant à son tour une fonction amine primaire susceptible de propager la polymérisation selon le même mécanisme d'attaque nucléophile.



**Schéma 1-13 : Processus de polymérisation des NCAs selon le mécanisme « amine », dans le cas d'un amorçage par une amine primaire**

Les amines primaires aliphatiques et les amines secondaires peu encombrées étant plus nucléophiles que la chaîne en croissance ; dans ce cas la durée d'amorçage est courte par rapport à la durée de propagation, ce qui confère à ce mécanisme de polymérisation un caractère « vivant » dans la mesure où aucune réaction secondaire ne se produit.

Cependant, une réaction de terminaison intramoléculaire entre l'amine terminale de la chaîne en croissance et le carbonyle de la dernière unité monomère peut effectivement intervenir, en particulier dans le cas de polymères à base d'unités glutamate d'alkyle ou de benzyle et donner lieu à la formation d'un hétérocycle stable en bout de chaîne (Schéma 1-14).<sup>117</sup> Ce mode de terminaison peut toutefois être considérablement limité en opérant à basse température (température ambiante).



**Schéma 1-14 : Terminaison par cyclisation du bout de la chaîne peptidique, dans le cas de la polymérisation d'un glutamate d'alkyle ou de benzyle**

En outre, en raison de la dualité nucléophilie/basicité des amines, le mécanisme « amine » peut ne pas intervenir de façon exclusive lors de la polymérisation des NCAs. En effet, un autre mécanisme, celui du « monomère activé », basé sur la déprotonation du monomère par une espèce plus basique que le groupement NH du NCA (ex : amines à fort caractère basique), peut également intervenir. Dans le cas d'amorceurs possédant un rapport nucléophilie/basicité faible, la polymérisation a lieu principalement via ce mécanisme du « monomère activé », mais comme précédemment, il peut ne pas intervenir de façon exclusive.

Ce mécanisme est caractérisé par la formation d'un monomère anionique « activé » (**1'**) qui peut alors réagir avec une autre molécule monomère de NCA pour former un adduit dimère (**2**) après élimination de CO<sub>2</sub> (étape d'amorçage) (Schéma 1-15).

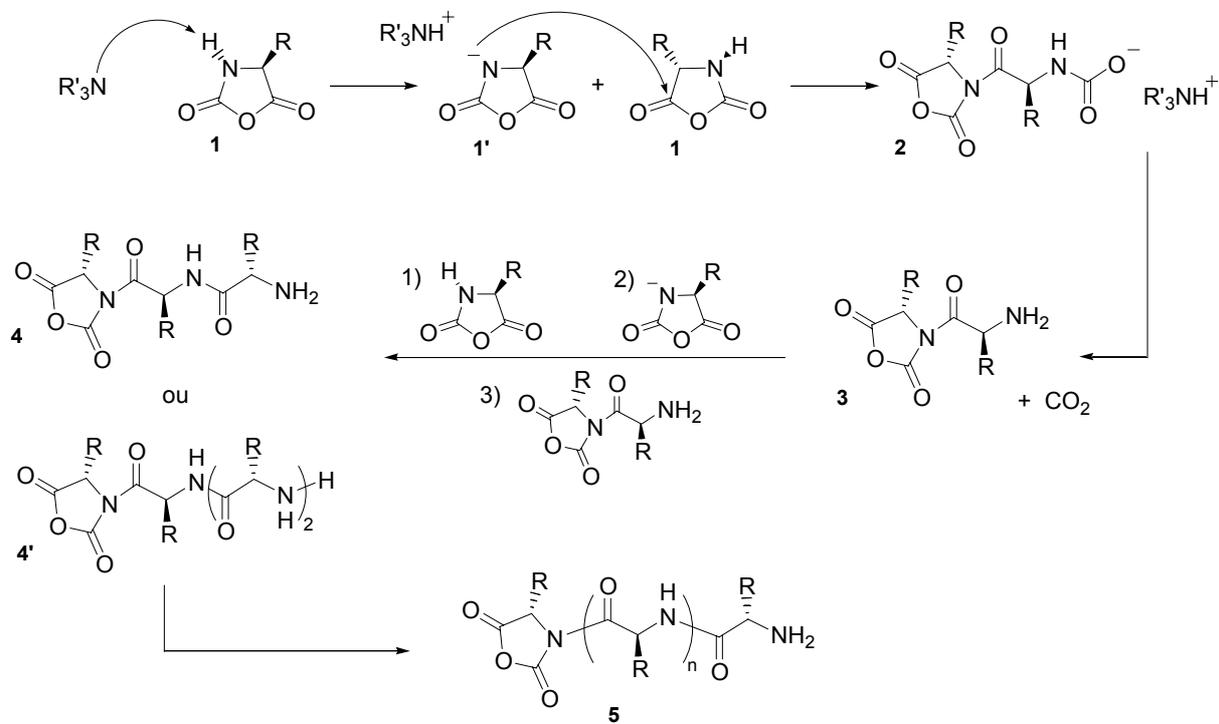
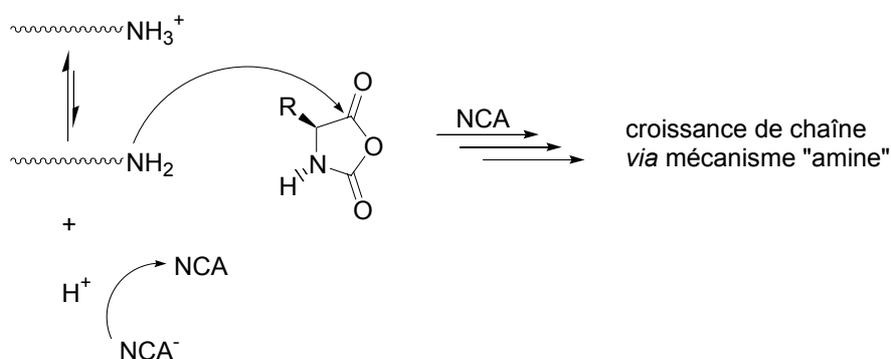


Schéma 1-15 : Mécanisme du « monomère activé » dans le cas d'un amorçage par une amine tertiaire

Ensuite, l'étape de propagation du mécanisme du « monomère activé » peut prendre trois formes différentes : 1) la fonction amine primaire du dimère peut venir attaquer un NCA en C5 selon le mécanisme « amine », 2) un autre monomère activé peut venir attaquer l'adduit (toujours en C5) et enfin 3) le dimère formé peut réagir avec un autre dimère pour former directement un tétramère (**4'**) et ainsi de suite. La deuxième voie de propagation est généralement la plus rapide, notamment lorsque des bases fortes ou des amines stériquement encombrées sont utilisées.<sup>116</sup> Néanmoins, étant données les différentes réactions de propagation mises en jeu, les polymères obtenus avec ce type de mécanisme présentent une large distribution des masses molaires.

Le mécanisme « amine » représente la voie privilégiée pour un contrôle optimal de la polymérisation par ouverture de cycle des NCAs. Il est donc nécessaire d'amorcer la polymérisation avec une espèce suffisamment nucléophile pour attaquer le carbonyle C5 du NCA, sans pour autant déprotoner l'azote N3. Les meilleurs candidats pour ce type d'amorçage sont les amines primaires du type R-NH<sub>2</sub> avec un groupement R aliphatique.

Des travaux récents ont été menés dans le but d'améliorer le contrôle de la polymérisation des NCAs par le mécanisme « amine », en réduisant la contribution du mécanisme du « monomère activé ». Schlaad et coll. ont montré que l'utilisation d'une amine primaire quaternisée par HCl permettait de préparer des polymères très bien définis ( $\overline{M}_w/\overline{M}_n < 1,03$ ) grâce au contrôle cinétique apporté par l'équilibre entre une espèce dormante (l'ion ammonium quaternaire) et une espèce active (l'amine primaire).<sup>118</sup> De plus, la dissociation dans le milieu réactionnel de l'ammonium quaternaire du bout de la chaîne polymère en une amine primaire et un proton, prévient tout mécanisme parasite du « monomère activé » (Schéma 1-16). Lutz *et al.* ont confirmé les précédents résultats et montré que dans le cas de la polymérisation du glutamate de benzyle NCA, l'utilisation d'un tel système d'amorçage prévenait les réactions de cyclisation de bout de chaîne.<sup>119</sup>



**Schéma 1-16 : Polymérisation par ouverture de cycle de NCAs amorcée par une amine primaire en équilibre avec un ammonium quaternaire<sup>118</sup>**

Selon une autre approche, Hadjichristidis et coll. ont combiné l'utilisation d'amorceurs très fortement nucléophiles avec des techniques de vide très poussé, ce qui permet une diminution considérable des réactions secondaires dues aux impuretés et une conservation du caractère « vivant » de la polymérisation permettant ainsi la synthèse d'architectures macromoléculaires.<sup>120</sup> Dans le même temps, Schué et coll. ont montré qu'un travail à 0°C permettait également de conserver le caractère « vivant » de la polymérisation.<sup>121</sup>

Dans une approche différente, visant à améliorer le contrôle de la polymérisation des NCAs, Deming et coll. ont développé l'utilisation de complexes de métaux de transition comme systèmes d'amorçage.

### 1.2.1.2. Amorçage par les complexes de métaux de transition

Puisque le problème majeur rencontré avec la polymérisation par ouverture de cycle des NCAs est l'absence de contrôle de la réactivité de la chaîne polymère en croissance, une stratégie envisagée pour remédier à ce problème est l'utilisation de complexes de métaux de transition comme systèmes d'amorçage qui vont permettre, puisqu'ils se retrouvent en extrémité de chaîne, de contrôler l'addition de nouvelles molécules de monomère.

Les études concernant la polymérisation des NCAs par ces systèmes d'amorçage ont longtemps été limitées. La majorité des recherches concerne des amorceurs organométalliques du type dialkylzinc et trialkylaluminium (avec ou sans additifs protiques) qui agissent comme des bases fortes,<sup>122-124</sup> et des systèmes d'amorçage à base de mélanges hétérogènes  $P(\text{Bu})_3/M(\text{OAc})_x$ , où  $M = \text{Ni}, \text{Co}, \text{Cr}, \text{Cd}$  ou  $\text{Mg}$ ,  $x = 1-3$  et  $P(\text{Bu})_3/M = 40/1$ .<sup>125,126</sup> Les limitations de ces derniers systèmes résident dans leur faible efficacité (seulement une partie des centres métalliques sont actifs) et l'hétérogénéité du milieu, ce qui exclu la possibilité d'obtenir des polymères selon un processus « vivant ».

Deming a débuté ses investigations avec l'utilisation de complexes métal-amine primaire où à la fois le métal et le(s) ligand(s) peuvent être modifiés pour atteindre l'activité catalytique appropriée.<sup>127</sup> L'utilisation de complexes relativement simples du type  $[\text{NCu}(\text{OAc})_2]_x$  et  $[\text{N}_2\text{Ni}(\text{OAc})_2]_x$  a permis de montrer que les complexes métal-amine pouvait amorcer la polymérisation des NCAs, sans pour autant fournir le contrôle nécessaire à une polymérisation « vivante ». Pour remédier à cela, Deming a utilisé des complexes beaucoup plus élaborés contenant des ligands inspirés des bases de Schiff (Schéma 1-17). Ceux-ci lui ont permis de préparer du poly(L-glutamate de  $\gamma$ -benzyle) (PBLG) avec un bon contrôle des masses molaires et une distribution relativement étroite (Tableau 1-11).

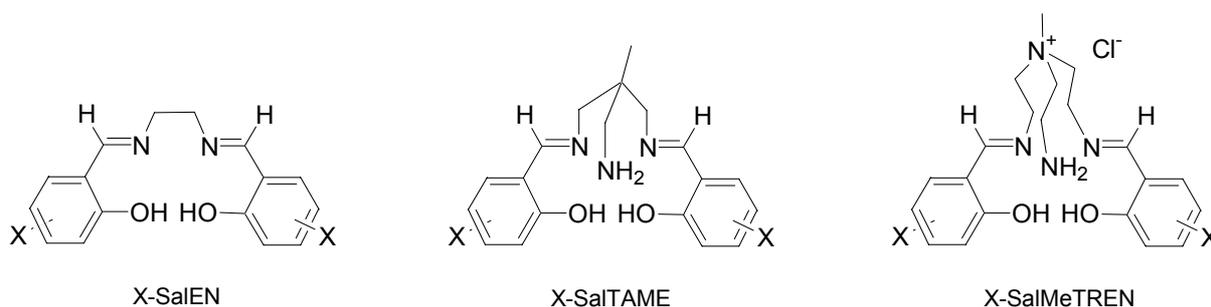


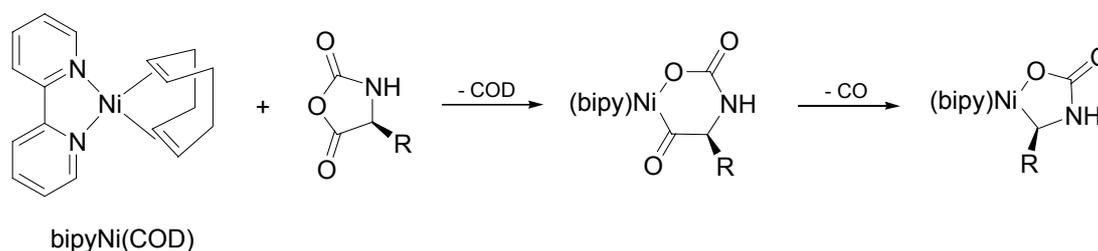
Schéma 1-17 : Ligands macrodentates pour la préparation de systèmes d'amorçage métal-amine<sup>127</sup>  
(X = substituant(s) du cycle aromatique)

Amorceur	Conversion (%)	$\overline{M}_n^a$ (g.mol <sup>-1</sup> )	$\overline{M}_w / \overline{M}_n$
3,5-di- <i>tert</i> -butyl-SalTAME + Cu(OAc) <sub>2</sub>	100	19 500	1.35
3,5-di- <i>tert</i> -butyl-SalTAME + Ni(OAc) <sub>2</sub>	94	24 600	1.68
3,5-di- <i>tert</i> -butyl-SalTAME + Co(OAc) <sub>2</sub>	100	25 200	1.61
3,5-di-Cl-SalMeTREN + Cu(OAc) <sub>2</sub>	100	26 400	1.42
3,5-di-Cl-SalMeTREN + Ni(OAc) <sub>2</sub>	92	14 000	1.51
3,5-di-NO <sub>2</sub> -SalMeTREN + Ni(OAc) <sub>2</sub>	98	12 800	1.08
3,5-di-NO <sub>2</sub> -SalMeTREN + Pd(OAc) <sub>2</sub>	100	17 800	1.31
3,5-di-NO <sub>2</sub> -SalMeTREN + Co(OAc) <sub>2</sub>	100	19 700	1.37
3,5-di-NO <sub>2</sub> -SalMeTREN + Zn(OAc) <sub>2</sub>	96	16 900	1.25

<sup>a</sup> Déterminé par GPC/LS dans le DMF/LiBr (0.1 M) à 60°C

**Tableau 1-11 : Polymérisation du L-glutamate de  $\gamma$ -benzyle NCA à 40°C, dans le DMSO, pendant 2 jours, amorcée par différents complexes, avec un rapport monomère/amorceur = 75<sup>127</sup>**

Ensuite, Deming a rapporté l'utilisation de nouveaux amorceurs capables de limiter de façon significative les réactions de transfert et de terminaison durant la polymérisation, permettant ainsi la préparation de copolypeptides à blocs.<sup>128</sup> Il s'agit d'amorceurs résultant de la réaction du complexe bipyNi(COD) (bipy = 2,2'-bipyridyl, COD = 1,5-cyclooctadiène) avec un monomère NCA (Schéma 1-18).



**Schéma 1-18 : Système d'amorçage dérivé du complexe bipyNi(COD)<sup>128</sup>**

L'utilisation du complexe bipyNi(COD) a permis à Deming d'améliorer considérablement le contrôle de la polymérisation par ouverture de cycle des NCAs et d'obtenir de très bons résultats en terme de contrôle des masses molaires, distribution des masses molaires, cinétique de polymérisation et rendements. Ce système d'amorçage donne lieu à un processus présentant toutes les caractéristiques d'une polymérisation vivante, ce qui lui a également permis de préparer des copolymères à blocs par addition successive de deux ou trois monomères différents (Tableau 1-12). D'autres investigations ont suivi concernant ces systèmes d'amorçage à base de nickel et leur mécanisme de formation.<sup>129</sup>

1 <sup>er</sup> monomère <sup>a</sup>	2 <sup>ème</sup> monomère <sup>a</sup>	1 <sup>er</sup> segment <sup>b</sup>		Copolymère dibloc <sup>c</sup>		Rendement <sup>d</sup> (%)
		$\overline{M}_n$ (g.mol <sup>-1</sup> )	$\overline{M}_w / \overline{M}_n$	$\overline{M}_n$ (g.mol <sup>-1</sup> )	$\overline{M}_w / \overline{M}_n$	
52 Lys-NCA	181 Glu-NCA	15 000	1.12	66 000	1.21	95
90 Glu-NCA	78 Lys-NCA	28 500	1.12	52 700	1.13	93
104 Lys-NCA	40 Leu-NCA	29 500	1.13	34 000	1.20	93
182 Glu-NCA	90 Pro-NCA	57 600	1.07	86 000	1.14	92
120 Glu-NCA	40 Leu-NCA	38 000	1.08	79 000	1.13	96

<sup>a</sup> 1<sup>er</sup> et 2<sup>ème</sup> monomères additionnés l'un après l'autre sur l'amorceur ; chaque monomère est précédé du nombre d'équivalents par bipyNi(COD). <sup>b</sup> Masses molaires et MWD après polymérisation du premier bloc, déterminés par GPC/LS dans le DMF/LiBr (0.1 M) à 60°C. <sup>c</sup> Masses molaires et MWD après polymérisation du second bloc, déterminés de la même façon. <sup>d</sup> Rendement total du copolymère isolé.

**Tableau 1-12 : Préparation de copolymères à blocs avec bipyNi(COD) dans le DMF<sup>128</sup>**

Par la suite, Deming et coll. ont étendu leurs études à d'autres métaux de transition voisins proches du nickel dans la 4<sup>ème</sup> période comme le cobalt et le fer. Les auteurs ont notamment obtenus des résultats similaires aux précédents avec l'utilisation du complexe (PMe<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Co.<sup>130,131</sup> Ces études, ainsi que des études mécanistiques complémentaires leur ont permis de montrer que le choix du ligand était crucial pour obtenir la sélectivité nécessaire et éviter les réactions secondaires conduisant à une polymérisation non contrôlée. Ils ont également montré que les caractéristiques propres de chaque métal utilisé étaient un facteur supplémentaire de contrôle de la polymérisation.<sup>130-132</sup> Même si la chimie des NCAs avec les différents métaux de transition précédents est comparable, chaque métal requiert un environnement spécifique pour permettre une polymérisation contrôlée.

## **I.2.2. Propriétés et utilisations des poly(acide $\alpha$ -aminés)**

### **I.2.2.1. Propriétés physiques**

L'utilisation comme modèles des protéines naturelles pour l'étude de différents processus biologiques constitue le principal intérêt des matériaux polymères polypeptidiques. Tout comme les protéines naturelles, les poly(acide  $\alpha$ -aminés) synthétiques peuvent s'organiser en structures secondaires (hélices, feuillets ou plus simplement pelote statistique) et ont la capacité de passer d'une structure à l'autre de façon réversible sous l'effet du pH, de la température, de la force ionique ou de la nature du solvant.

L'hélice  $\alpha$  est stabilisée dans sa forme hélicoïdale par des liaisons hydrogène intramoléculaires établies entre l'hydrogène d'un groupement amine -NH et l'oxygène d'un groupement carboxylique -C=O. Comme ces liaisons hydrogènes sont orientées dans la même direction que l'hélice, celle-ci est élastique ; les liaisons hydrogènes brisées lors de l'étirement

de l'hélice se reforment facilement quand la tension est relâchée. En outre, dans une hélice  $\alpha$ , les chaînes latérales des motifs unitaires pointent à l'extérieur de la structure (Fig. 1-9).

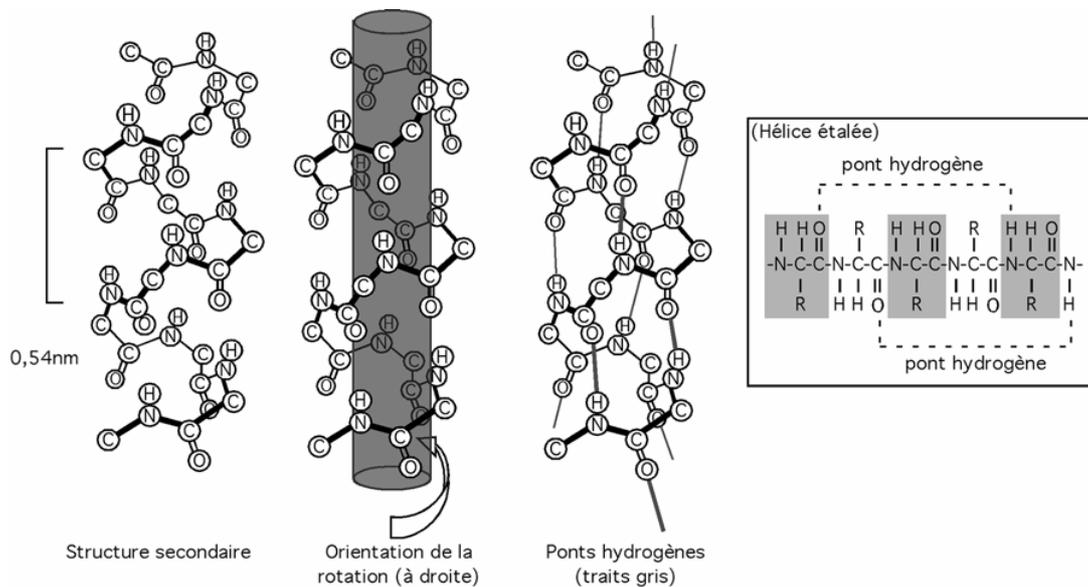


Fig. 1-9 : Structure en hélice  $\alpha$ <sup>133</sup>

Les feuillets  $\beta$  se forment lorsque des segments de la longue chaîne polypeptidique se replient et que les liaisons hydrogène sont intermoléculaires. On parle de feuillets  $\beta$  parallèles quand les chaînes vont dans le même sens et d'antiparallèles quand elles vont dans des directions opposées. Puisque les liaisons hydrogène des feuillets  $\beta$  se développent perpendiculairement à l'axe de la chaîne polypeptidique, ils ne donnent pas d'élasticité à la structure (Fig. 1-10)

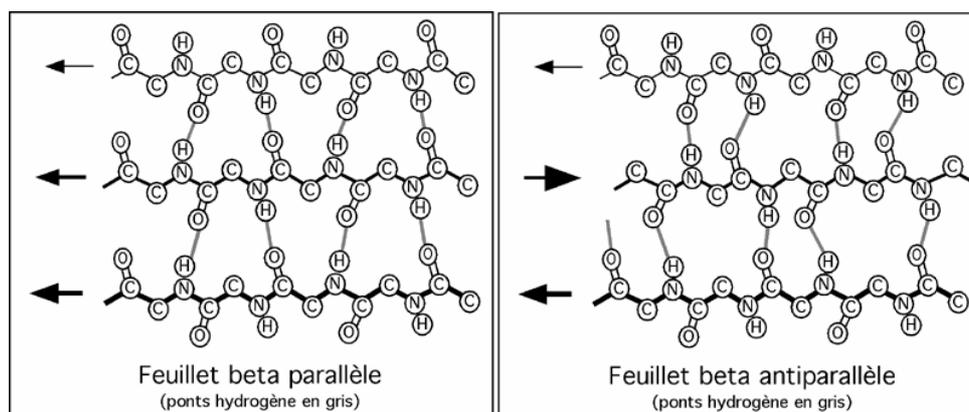


Fig. 1-10 : Structure en feuillet  $\beta$ <sup>133</sup>

Certains polymères ont une préférence marquée pour certaines structures. Par exemple, tandis que le poly(acide glutamique) s'organise préférentiellement en hélice  $\alpha$ ,

la poly(cystéine) s'organise en feuillet  $\beta$ . Par contre, la poly(leucine) se retrouve fréquemment dans les deux structures.

### I.2.2.2. Applications les plus courantes

La chimie des polypeptides synthétiques étant plus récente et moins bien établie, car plus complexe que la chimie des polyesters, les applications de ces polymères sont beaucoup moins nombreuses. Les polypeptides synthétiques sont surtout utilisés comme modèles de protéines naturelles pour l'étude de différents processus biologiques, mais plus récemment ces polymères ont trouvé des applications dans le domaine des polymères thérapeutiques.

Alors que l'utilisation dans le domaine biomédical de polymères synthétiques biocompatibles et dégradables est bien établie depuis longtemps, les polymères thérapeutiques ne font l'objet que depuis peu d'une utilisation clinique,<sup>134-136</sup> coïncidant avec l'explosion des « nanotechnologies ». Le terme « polymères thérapeutiques »<sup>135</sup> désigne plusieurs familles d'architectures plus ou moins complexes : les principes actifs macromoléculaires, les conjugués polymère-protéine ou polymère-principe actif, les micelles et les polyplexes (Fig. 1-11). Les poly(acides  $\alpha$ -aminés), dérivant de molécules présentant une activité biologique, font effectivement partie des candidats idéaux pour des applications dans ce domaine.

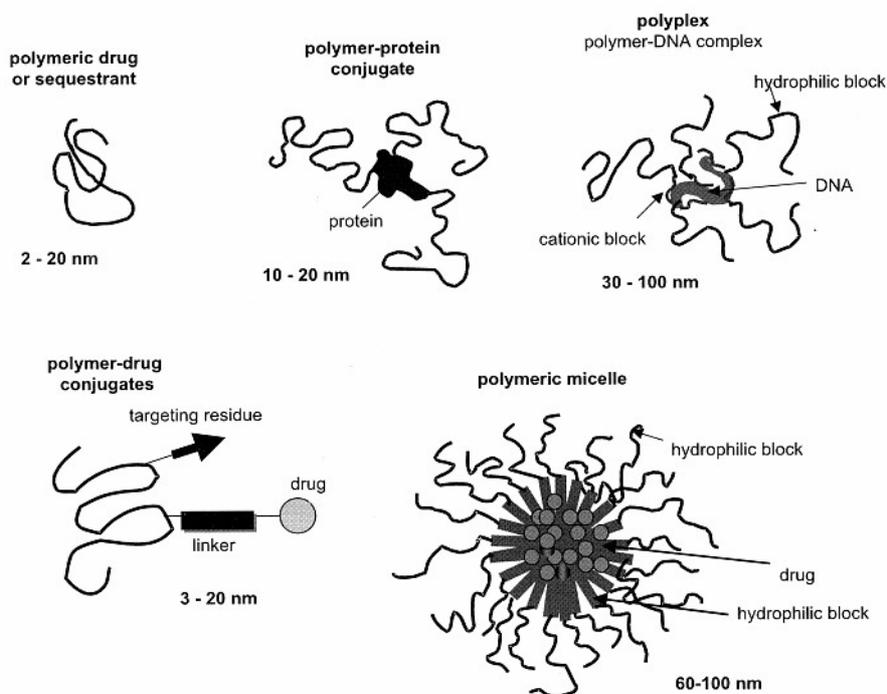


Fig. 1-11 : Représentation schématique des différentes familles de « polymères thérapeutiques »<sup>137</sup>

✓ Principes actifs macromoléculaires :<sup>138</sup>

Les polymères présentant une activité pharmaceutique permettent la reconnaissance sélective, l'isolement puis l'élimination du corps humain de molécules parasites de faible masse molaire ou macromoléculaire, grâce à leurs fonctions caractéristiques et à leur masse molaire élevée. Cette masse molaire leur permet par ailleurs d'être systématiquement non absorbés, conférant à ces systèmes de nombreux avantages comme par exemple une circulation prolongée dans le corps humain, en comparaison avec les petites molécules de médicaments.

Dans les années 90, un copolymère statistique à base de L-alanine, de L-lysine, d'acide L-glutamique et de L-tyrosine ( $\overline{M}_w = 5\ 000 - 11\ 000\ \text{g/mol}$ ) a été développé sous le nom de Copolymer 1 par Teva Pharmaceuticals. Ce principe actif macromoléculaire agit de façon spécifique sur le fonctionnement du système immunitaire des patients dans le traitement de la sclérose en plaque. Il est aujourd'hui commercialisé sous le nom de Copaxone® par Sanofi Aventis et est administré par injections sous-cutanées de façon quotidienne.

✓ Conjugués polymère-principe actif :<sup>139</sup>

Le ciblage des principes actifs anti-cancéreux est une discipline de recherche qui se développe rapidement et qui a donné lieu récemment au développement de nombreuses approches différentes. Une des stratégies utilisées est le couplage de petites molécules de principes actifs avec des polymères. L'utilisation de tels systèmes favorise la circulation dans le corps humain pendant une longue période et la concentration en principe actif dans la tumeur, ce qui n'est pas le cas lorsque les molécules de principes actifs sont utilisées seules. En outre, ces systèmes permettent d'accéder à un ciblage passif, grâce aux caractéristiques chimiques et physiques propres au polymère, ou bien actif, grâce à l'incorporation de fonctions spécifiques sur la chaîne polymère.<sup>140</sup>

Des traitements anti-cancéreux à base principes actifs conjugués à des polymères qui facilitent leur vectorisation, notamment le poly(acide L-glutamique), sont à l'essai clinique et les premiers produits de cette classe apparaîtront certainement assez vite.<sup>139</sup> En effet, deux exemples de systèmes étant à l'heure actuelle en phases cliniques avancées sont le poly(acide L-glutamique)-paclitaxel (CT-2103) et le poly(acide L-glutamique)-camptothecin (CT-2106). Le CT-2103 contient 37 % en masse de paclitaxel, lié de façon covalente aux fonctions acide carboxylique de la chaîne polymère ( $\overline{M}_w \sim 40\ 000\ \text{g/mol}$ ) par une liaison ester. Ce système

présente une solubilité 80 000 fois supérieure à celle du paclitaxel et une activité anti-tumorale remarquable accompagnée d'un ciblage des tumeurs. Le CT-2106 permet l'administration de quantités 4 fois supérieures de camptothecin (33-35 % en masse ; polymère de  $\overline{M}_w = 55\ 000$  g/mol) sans augmentation de la toxicité. En effet, les limitations principales à l'utilisation de ce principe actif très efficace pour le traitement des cancers avancés du colon, du poumon et des ovaires, sont sa faible solubilité et sa toxicité relativement importante.

✓ Polyplexes :

Les poly(acides aminé)s, notamment la poly(L-lysine), ont été utilisés dans le cadre du transport d'ADN. Celui-ci peut être incorporé dans des nanoparticules, mais également dans des polyplexes qui se forment spontanément lorsqu'on mélange des acides nucléiques chargés négativement avec des polymères chargés positivement (interactions électrostatiques).<sup>141</sup> Ces systèmes font partie des vecteurs non viraux et présentent de très nombreux avantages : ils sont facilement produits, ils sont stables et peuvent contenir des séquences d'ADN de grande taille, aucune réponse immunitaire n'est détectée et enfin un même vecteur peut être utilisé pour différents gènes d'intérêt. Les polymères dits cationiques sont porteurs d'une charge positive qui leur permet d'une part de neutraliser les charges d'ADN (chargé négativement) et d'autre part de favoriser la liaison du complexe (vecteur + ADN) à la membrane cellulaire. Parmi les polymères cationiques les plus couramment utilisés, la poly(L-lysine) a été le premier utilisé pour la formation de polyplexes. Plus tard des poly(L-lysine) dendritiques de 6<sup>ème</sup> génération ont été préparées et appliquées dans le même contexte.<sup>142</sup>

✓ Micelles polymères :

Dans ce contexte, les poly(acide  $\alpha$ -aminé)s sont principalement utilisés au sein d'architectures amphiphiles à blocs en association avec d'autre polymères, notamment le poly(oxyde d'éthylène). La capacité de telles architectures à s'auto-associer spontanément sous forme de micelles ou de vésicules en solution aqueuse permet leur utilisation en tant que vecteurs de principes actifs.

Cette partie sera détaillée et discutée dans la partie 4 de ce mémoire, lors de l'étude des propriétés d'auto-assemblage en solution des architectures que nous avons synthétisées.

## II. LES COPOLYMERES POLYESTER- POLY(ACIDE $\alpha$ -AMINE)

Parce que la présence de groupements fonctionnels pendants le long de la chaîne polymère (permettant de lier de façon covalente diverses molécules bioactives) fait défaut aux polyesters les plus communs (PGL, PLA, PCL etc.), l'idée d'incorporer des unités d'acides  $\alpha$ -aminés au sein d'architectures de type copolymères à blocs, statistiques ou autres, s'est révélée très prometteuse. En effet, la présence d'acides  $\alpha$ -aminés dans la chaîne polymère devait permettre d'une part, d'apporter au matériau une certaine affinité avec des protéines et des cellules avec la possibilité de lier de façon covalente ou ionique des molécules de médicaments ou d'ADN et, d'autre part, de modifier les propriétés de dégradation du matériau.

Les premiers travaux dans ce domaine ont portés sur la synthèse de **copolymères statistiques ou alternés** poly(ester-*co*-acide  $\alpha$ -aminés). Néanmoins, ce type d'architecture ne permet pas aux chaînes polymères de s'organiser facilement en objets supramoléculaires (micelles, vésicules, ...) qui sont d'un grand intérêt pour un certain nombre d'applications thérapeutiques. C'est pour cette raison qu'au cours des dernières années, les recherches se sont orientées vers la synthèse de **copolymères à blocs** susceptibles de s'auto-assembler de façon plus ou moins spontanée.

### II.1. Copolymères statistiques ou alternés poly(ester-*co*-acide $\alpha$ -aminés)

Les premières études visant à introduire des groupements fonctionnels le long d'une chaîne polyester ont été réalisés au début des années 80 et concernaient la polymérisation par ouverture de cycle de nouveaux esters cycliques, fonctionnalisés par des groupements ester de benzyle (COOBn) facilement hydrolysés en fonctions acide. Cette méthode a permis de préparer des polyesters présentant un caractère hydrophile et possédant des sites de fonctionnalisation tout le long de la chaîne (Schéma 1-19).

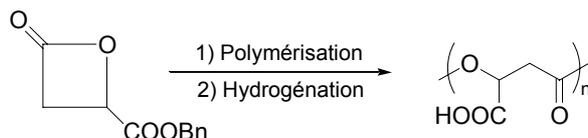


Schéma 1-19 : Préparation de poly(acide  $\beta$ -malique) par Vert et coll., par polymérisation par ouverture de cycle du malolactonate de benzyle, puis hydrogénation<sup>143</sup>

Selon la même stratégie et préférentiellement à la copolymérisation statistique entre deux monomères classiques NCA et ester cyclique, plusieurs groupes ont décrit la préparation de copolymères alternés du type poly(ester-*alt*-acide  $\alpha$ -aminé) à partir de la synthèse de nouveaux monomères fonctionnalisés : des dérivés de la morpholine-2,5-dione substitués en position 3 (Schéma 1-20).

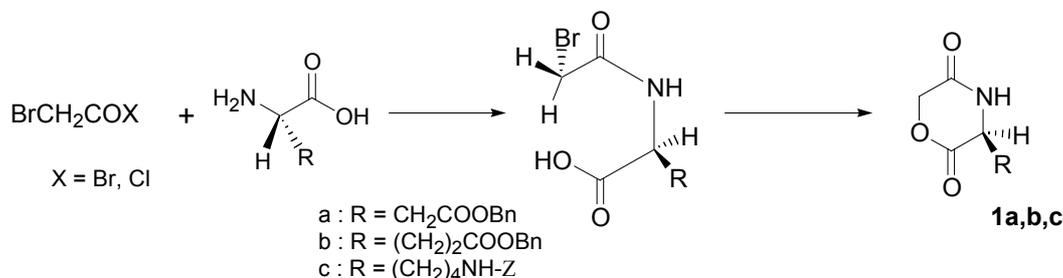


Schéma 1-20 : Synthèse de la (3*S*)-3-[(benzyloxycarbonyl)méthyl]morpholine-2,5-dione ou cyclo[Glc-Asp(OBn)] (1a), la (3*S*)-3-[(benzyloxycarbonyl)éthylène]morpholine-2,5-dione ou cyclo[Glc-Glu(OBn)] (1b) et la 3-[*N* $\epsilon$ -benzyloxycarbonyl]-L-lysyl]morpholine-2,5-dione ou cyclo[Glc-Lys(Z)] (1c)<sup>144-146</sup>

L'homopolymérisation de ce type de monomères a permis à Ouchi *et al.* d'obtenir du poly(glycolide-*alt*-acide L-aspartique), du poly(glycolide-*alt*-acide L-glutamique) et du poly(glycolide-*alt*-L-lysine) après élimination des groupements benzyle (Bn) et benzyloxycarbonyl (Z) des fonctions pendantes.<sup>144,147</sup> En utilisant la même méthode, du poly(glycolide-*alt*-acide L-aspartique),<sup>145,148</sup> du poly(glycolide-*alt*-acide L-glutamique),<sup>146</sup> du poly(D,L-lactide-*alt*-glycine)<sup>149</sup> et du poly(L-lactide-*alt*-acide L-aspartique)<sup>150</sup> ont été préparés (Schéma 1-21).

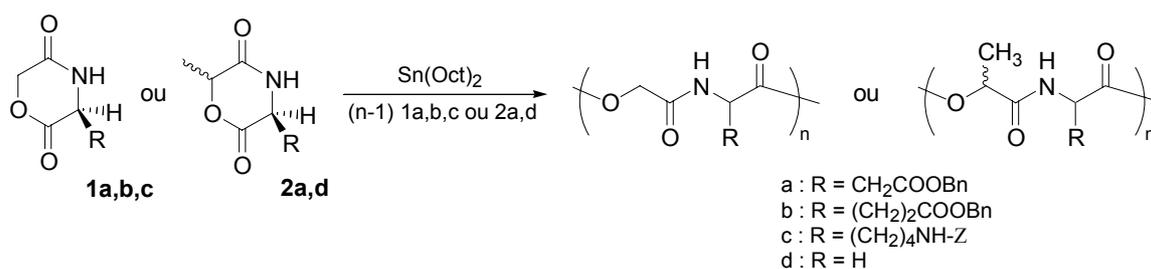


Schéma 1-21 : Synthèse de copolymères alternés poly(ester-*alt*-acide  $\alpha$ -aminé) par polymérisation des monomères cyclo[Glc-Asp(OBn)], cyclo[Glc-Glu(OBn)], cyclo[Glc-Lys(Z)], [Lac-Asp(OBn)] ou [lac-Gly]

Outre les caractérisations classiques des structures par spectroscopies RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  et IR, les auteurs ont, dans certains cas, étudié les propriétés de dégradation de leurs systèmes, en particulier l'effet de la nature de l'enzyme utilisée sur la vitesse de dégradation.

Le caractère souvent encombré de ce type de monomères leur confère une réactivité plus faible que leurs homologues non fonctionnalisés, ce qui rend leur polymérisation plus difficile. Ceci a amené plusieurs groupes à s'intéresser à la copolymérisation de ce type de monomère avec des monomères comme le L-lactide, le glycolide ou l' $\epsilon$ -caprolactone donnant lieu à la préparation de copolymères statistiques du type poly(ester-*co*-acide  $\alpha$ -aminé)s.

C'est le cas de Langer et coll. qui ont décrit, dans les années 90, la synthèse d'architectures de type poly(L-lactide-*co*-L-lysine).<sup>151,152</sup> Pour cela, ils ont eu recours à la synthèse d'un monomère particulier, la 3-[(N<sup>ε</sup>-benzyloxycarbonyl-L-lysyl)-6-L-méthyl]-morpholine-2,5-dione (Schéma 1-22).

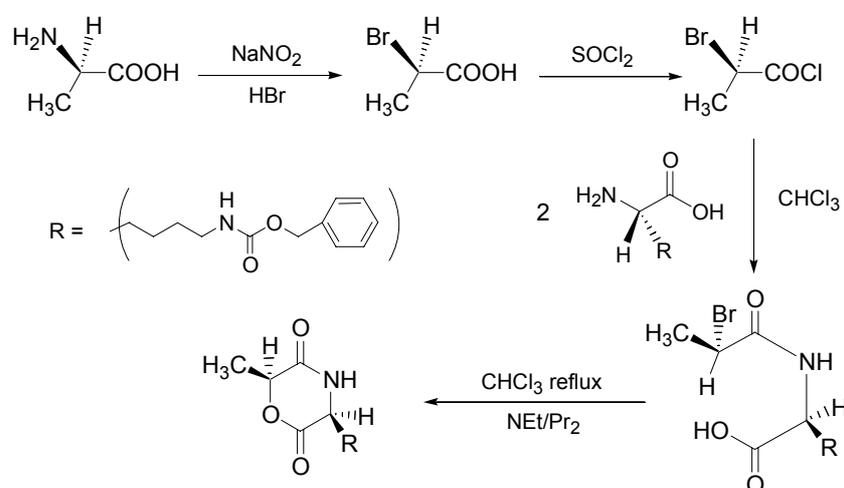


Schéma 1-22 : Synthèse du monomère cyclo[Lac-Lys(Z)]<sup>151</sup>

La copolymérisation entre les monomères L-lactide et cyclo[Lac-Lys(Z)] a été faite en présence de Sn(Oct)<sub>2</sub>, en masse, à 100°C (Schéma 1-23) et a permis d'obtenir des copolymères contenant approximativement 2-3% d'unités Z-L-lysine ; la différence de réactivité entre les deux monomères ne permet d'incorporer à chaque fois que 40-50% du monomère fonctionnalisé. Cependant, étant données les applications visées par les auteurs, à savoir le greffage, sur les résidus L-lysine du copolymère, de séquences tripeptidiques arginine-glycine-acide aspartique (Arg-Gly-Asp ou RGD) utilisées pour améliorer les propriétés d'adhésion cellulaire des matériaux préparés, cela ne pose pas de problème ; en effet, l'activité de ces séquences est telle, que même une faible concentration de résidus L-lysine suffit.<sup>151,153</sup>

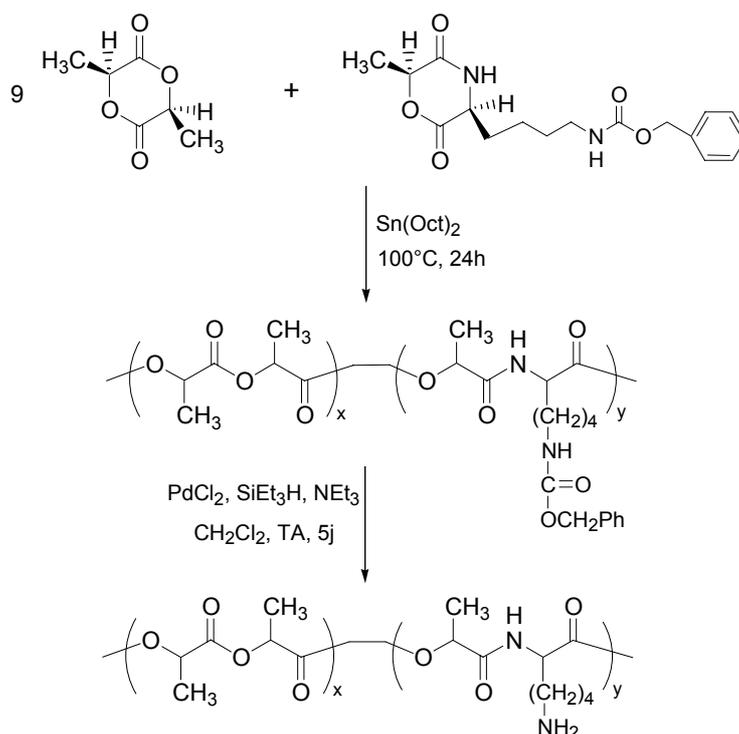


Schéma 1-23 : Synthèse du copolymère poly(L-lactide-*co*-L-lysine)<sup>151</sup>

Par la suite, les auteurs ont utilisé les fonctions NH<sub>2</sub> des résidus L-lysine des copolymères précédents pour amorcer la polymérisation par ouverture de cycle de la N<sup>ε</sup>-(Z)-L-lysine NCA, ce qui leur a permis de préparer des copolymères greffés (Schéma 1-24).<sup>154</sup>

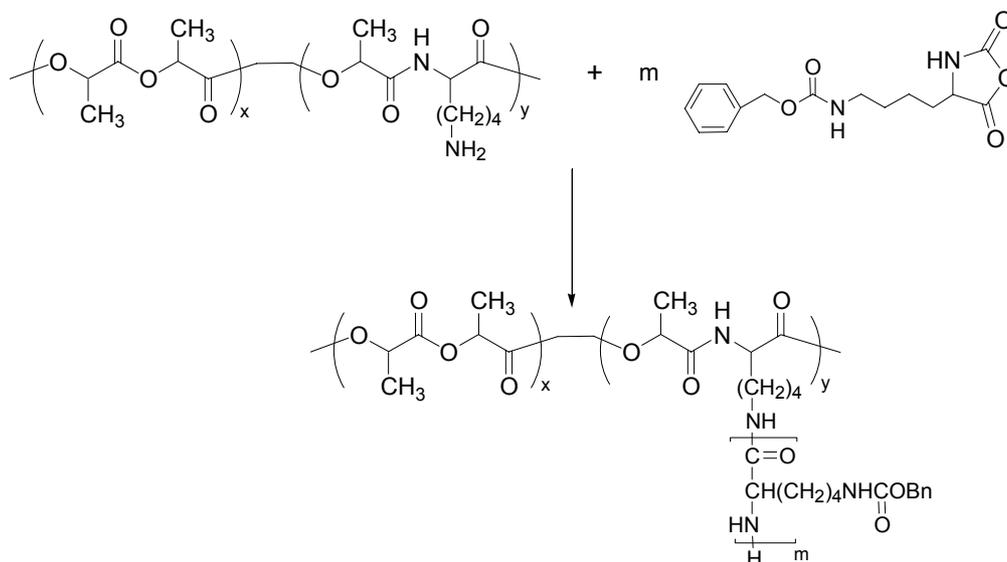


Schéma 1-24 : Préparation de copolymères greffée poly((L-lactide-*co*-L-lysine)-g-L-lysine)<sup>154</sup>

Un peu plus tard, Ouchi *et al.*,<sup>155</sup> John *et al.*,<sup>156</sup> Deng X. *et al.*<sup>146</sup> puis Yasuda *et coll.*<sup>157</sup> se sont intéressés à la copolymérisation du L-lactide avec les monomères

cyclo[Glc-Asp(OBn)] (1) et cyclo[Glc-Lys(Z)] (1'), la 3-[(O-benzyl)-L-sérinyl]morpholine-2,5-dione (2), la cyclo[Glc-Glu(OBn)] (3) et la 3,6-diméthyl-2,5-morphorinedione (4) respectivement (Schéma 1-25), leur permettant de préparer les copolymères statistiques poly{L-lactide-*co*-(ester-*alt*-acide  $\alpha$ -aminé)} correspondants.

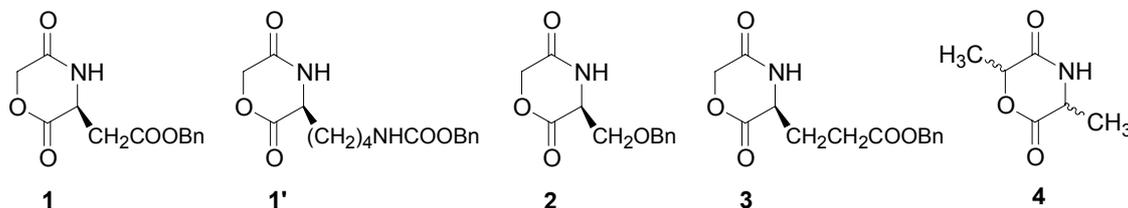


Schéma 1-25 : Monomère fonctionnalisés utilisés pour la préparation de copolymères statistiques avec le L-lactide

Dans tous ces cas, comme dans les précédents, aucune étude des propriétés d'organisation des systèmes obtenus n'a été réalisée.

Enfin, on peut citer les essais de copolymérisation de l' $\epsilon$ -caprolactone avec divers monomères dérivés de la morpholine-2,5-dione réalisés par Feijen et coll.<sup>158</sup> et Wang *et al.*<sup>159</sup>

Concernant la préparation d'architectures plus complexes, Höcker et coll. ont rapporté, en 2001, la préparation de copolymères triblocs PLLAsp-*b*-POE-*b*-PLLAsp avec PLLAsp = poly{D,L-lactide-*co*-(D,L-lactide-*alt*-acide L-aspartique)} par copolymérisation du D,L-lactide et du cyclo[Lac-Asp(OBn)] en présence de poly(oxyde d'éthylène) fonctionnalisé di-OH.<sup>160</sup>

De manière analogue, Guan *et al.* ont rapporté, en 2005, la copolymérisation du L-lactide et du cyclo[Glc-Glu(OBn)] en présence du même macroamorceur, ce qui leur a également permis d'accéder à des architectures amphiphiles complexes du type PLGG-*b*-POE-*b*-PLGG, avec PLGG = poly{L-lactide-*co*-(glycolide-*alt*-acide L-glutamique)} (Schéma 1-26).<sup>161</sup> La structure du copolymère a été confirmée par spectroscopies RMN <sup>1</sup>H et IR ainsi que par CES ; les analyses RMN <sup>1</sup>H ont également permis de confirmer l'élimination des groupements benzyle lors de l'hydrogénation catalytique.

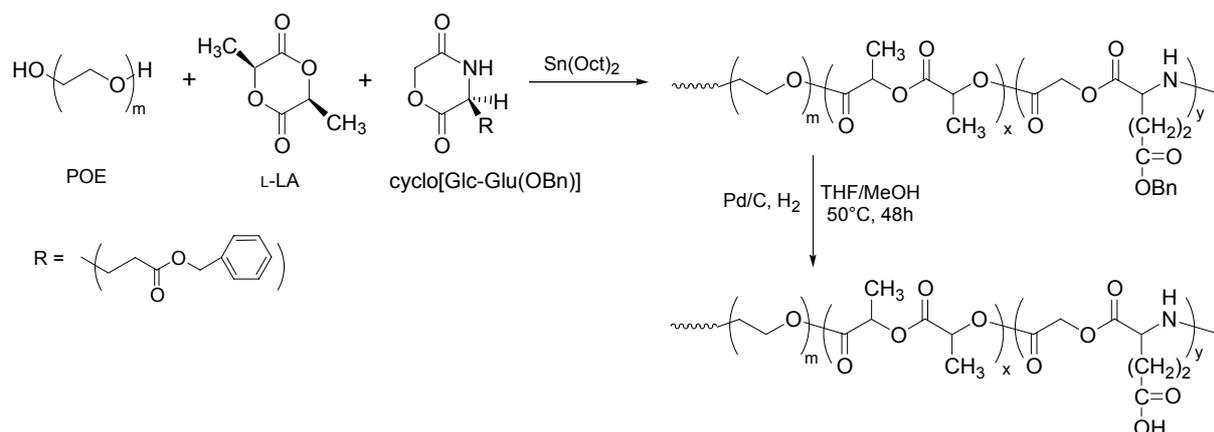


Schéma 1-26 : Préparation du copolymère amphiphile PLGG-*b*-POE-*b*-PLGG<sup>161</sup>

Ces auteurs ont étudié les propriétés d'auto-assemblage en solution aqueuse de leurs systèmes par fluorescence, microscopie et diffusion dynamique de la lumière. Ils ont observé la formation de micelles sphériques de diamètre moyen 70 et 95 nm, respectivement pour les deux échantillons PLGG-POE<sub>2000</sub>-PLGG<sub>3</sub> et PLGG-POE<sub>4600</sub>-PLGG<sub>7</sub> dont les compositions sont données ci-dessous.

Echantillon <sup>a</sup>	Proportion d'unités BEMD (% mol) <sup>b</sup>	$\bar{M}_n$ (CES)	$\bar{M}_w / \bar{M}_n$	Diamètre moyen (nm)
PLGG-POE <sub>2000</sub> -PLGG <sub>3</sub>	4.2	10 400	1.44	70
PLGG-POE <sub>4600</sub> -PLGG <sub>7</sub>	5.3	12 700	1.35	95

Des études sur la dégradation *in vitro* de ces systèmes en présence d'une enzyme (la protéinase K) ont mis en évidence une vitesse de dégradation beaucoup plus rapide que dans le cas du poly(L-lactide).

### Conclusions / commentaires :

La synthèse de copolymères statistiques ou alternés poly(ester-*co*-acide α-aminé)s à partir de nouveaux monomères fonctionnalisés a permis d'accéder à de nouveaux matériaux aux propriétés intermédiaires, notamment en terme de dégradation et d'hydrophilie. En outre, la présence de séquences d'acides α-aminés le long de la chaîne polymère a également permis d'apporter aux polyesters les sites de fonctionnalisation qui leur faisaient défaut, ouvrant ainsi la voie à la liaison de molécules bioactives. Néanmoins, la synthèse des monomères et les problèmes de réactivité inhérents à leur structure représentent des inconvénients à l'utilisation de cette voie de préparation de copolymères polyester-poly(acide α-aminé). Par ailleurs, ce type d'architectures ne possède pas la capacité à s'auto-organiser facilement en objets supramoléculaires.

## II.2. Copolymères à blocs polyester-*b*-poly(acide $\alpha$ -aminé)

Comme nous l'avons exposé précédemment, la polymérisation par ouverture de cycle des esters cycliques et des NCAs présente rarement les caractéristiques d'une polymérisation « vivante ». Dans ces conditions, la synthèse de copolymères à blocs est difficile par additions successives des différents monomères et la stratégie utilisée par la plupart des auteurs dans ce domaine a été celle du macroamorçage. En outre, compte tenu du fait que les amines primaires sont les meilleurs candidats pour un amorçage permettant d'accéder à un bon contrôle de la polymérisation par ouverture de cycle des NCAs,<sup>115</sup> tous les travaux publiés concernant, à notre connaissance, la synthèse de macroamorçeurs fonctionnalisés en extrémité de chaîne par des groupes NH<sub>2</sub>. Deux voies principales ont été utilisées et décrites pour obtenir cette fonctionnalisation. La première consiste à modifier chimiquement l'extrémité de la chaîne polyester en utilisant les fonctions hydroxyle ou acide carboxylique terminales. La seconde consiste en l'utilisation de systèmes d'amorçage comportant une fonction amine primaire protégée ou un précurseur de cette fonction amine. Nous soulignerons dans les chapitres suivants que ces deux voies ont chacune des avantages et des inconvénients et qu'il n'existe donc pas de méthode unique pour ce type de fonctionnalisation.

### II.2.1. Préparation de macroamorçeurs polyester-NH<sub>2</sub>

#### II.2.1.1. Fonctionnalisation par modification chimique

Kim et coll. ont réalisé les premiers la synthèse d'un polyester aliphatique fonctionnalisé NH<sub>2</sub> en vue d'une utilisation comme macroamorçeur pour la polymérisation du L-glutamate de  $\gamma$ -benzyle NCA (Schéma 1-27).<sup>162</sup> Leur stratégie a consisté en la modification de la fonction acide carboxylique du bout de chaîne d'un poly(L-lactide) en une fonction chlorure d'acide, afin de favoriser la réaction d'estérification entre le bout de la chaîne poly(L-lactide) et un alcool porteur d'une fonction amine primaire, protégée sous la forme d'un sel d'ammonium.

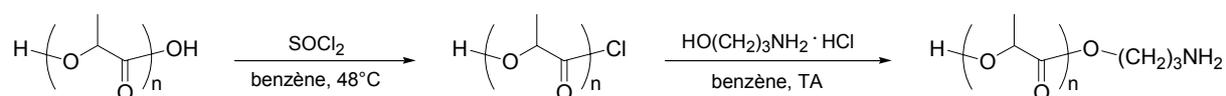


Schéma 1-27 : Préparation d'un poly(L-lactide) fonctionnalisé par une amine primaire<sup>162</sup>

Un peu plus tard, avec une méthode analogue impliquant cette fois la fonction hydroxyle du bout de la chaîne polyester et un chlorure d'acide précurseur d'une fonction amine primaire (le chlorure de 11-bromoundecanoyl), Yuan *et al.* ont pu préparer un copolymère poly(oxyde d'éthylène)-*b*-poly( $\epsilon$ -caprolactone) fonctionnalisé NH<sub>2</sub> sur l'extrémité PCL (Schéma 1-28).<sup>163</sup>

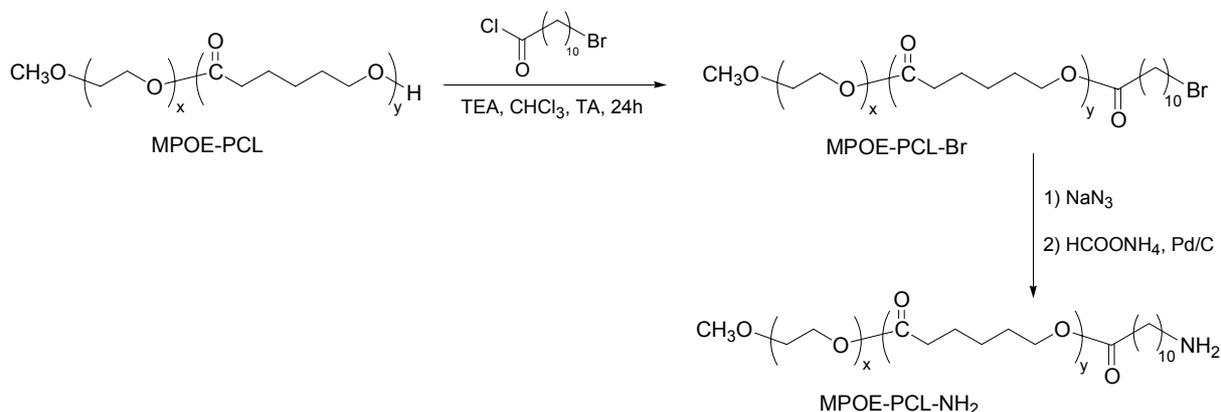


Schéma 1-28 : Voie de synthèse d'un copolymère poly(oxyde d'éthylène)-*b*-poly( $\epsilon$ -caprolactone) fonctionnalisé par un groupement Br puis NH<sub>2</sub><sup>163</sup>

Höcker *et coll.*<sup>164</sup> puis, plus récemment, Fan *et al.*<sup>165</sup> et Deng *et al.*<sup>166</sup> ont également eut recours à une estérification afin de modifier le bout de chaîne d'un poly(L-lactide) (Schéma 1-29). Dans leur cas, la réaction d'estérification a impliqué la fonction hydroxyle terminale du polymère et un acide  $\alpha$ -aminé (la phénylalanine) dont la fonction amine est protégée par un groupement *tert*-butoxycarbonyle (*t*Boc). L'élimination du groupe protecteur par réaction avec de l'acide trifluoroacétique (TFA) permet ensuite de récupérer une fonction amine primaire en extrémité de chaîne.

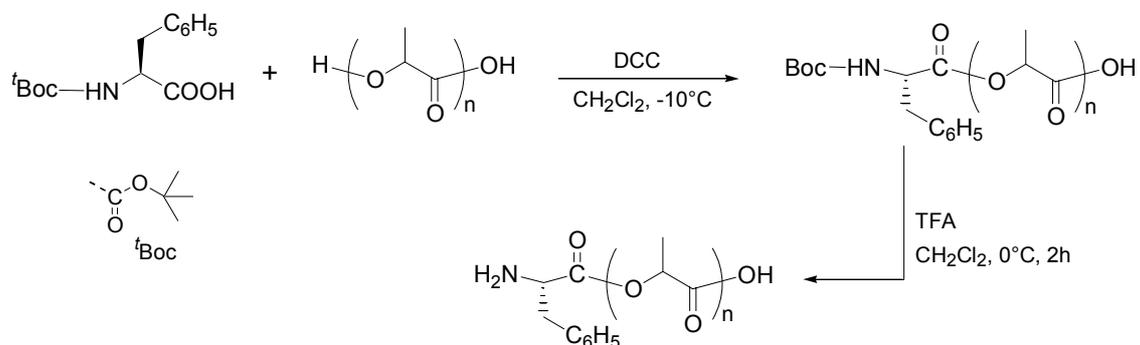


Schéma 1-29 : Préparation d'un poly(L-lactide) fonctionnalisé par une amine primaire<sup>164</sup>

Un autre acide  $\alpha$ -aminé (la glycine) dont la fonction amine est cette fois protégée par un groupement fluorenylméthoxycarbonyle (Fmoc), a aussi été utilisé pour transformer un bout de chaîne hydroxyle d'un polyester en amine primaire (Schéma 1-30).<sup>167</sup> Comme précédemment, c'est une simple élimination du groupe protecteur après l'estérification qui a permis d'obtenir des échantillons de poly( $\epsilon$ -caprolactone) mono- et di-NH<sub>2</sub>.

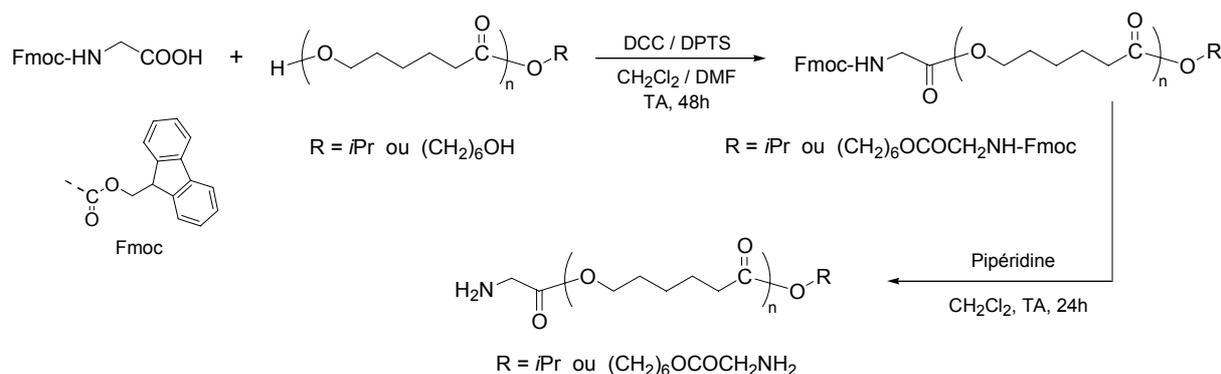


Schéma 1-30 : Préparation d'une poly( $\epsilon$ -caprolactone) mono-NH<sub>2</sub> ou di-NH<sub>2</sub><sup>167</sup>

Selon une autre stratégie, l'utilisation d'amorceurs cycliques à base d'étain pour la polymérisation « macrocyclique » de l' $\epsilon$ -caprolactone a permis l'introduction de divers groupes fonctionnels par acylation des liaisons Sn-O du macrocycle (Schéma 1-31). Ainsi, les auteurs ont pu obtenir des oligoesters et polyesters téléchéliques, notamment fonctionnalisés par deux groupements 4-nitrobenzyle en bout de chaîne qui, après une simple hydrogénation, sont transformés en groupements 4-aminobenzyle.<sup>168</sup>

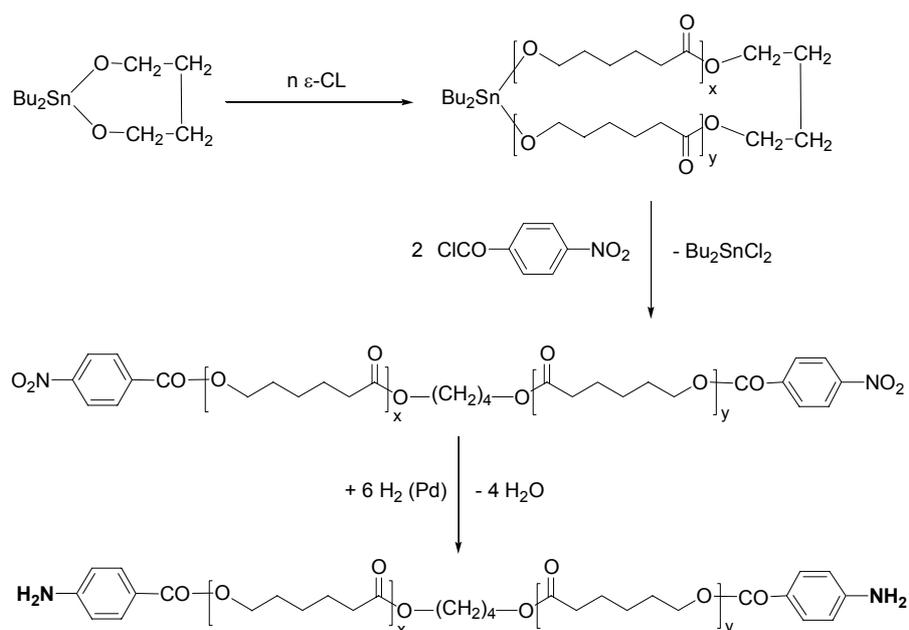


Schéma 1-31 : Préparation de poly( $\epsilon$ -caprolactone) téléchélique<sup>168</sup>

**Conclusions / commentaires :**

Toutes les méthodes présentées dans cette première voie reposent sur l'utilisation de réactions classiques de la chimie organique qui consistent à utiliser des réactions d'acylation ou d'estérification et à transformer un groupe fonctionnel (halogène, nitro, ...) en groupe amine. Ces réactions sont pour la plupart équilibrées et souvent non quantitatives, en dépit des moyens utilisés pour déplacer les équilibres, ce qui peut limiter le rendement de fonctionnalisation. Avec ces méthodes, les copolymères obtenus après polymérisation du NCA pourront être « souillés » par de l'homopolymère non fonctionnalisé et nécessiteront donc une purification soignée.

**II.2.1.2. Utilisation de systèmes d'amorçage comportant un précurseur de fonction amine primaire, pour la polymérisation des esters**

Dans cette seconde voie qui consiste à amorcer la polymérisation des esters cycliques par un amorceur fonctionnel, la méthode utilisée permet d'éviter l'inconvénient de la première voie puisque, à priori, en l'absence de transfert, toutes les chaînes polymères sont fonctionnalisées. Néanmoins, un nouveau problème apparaît puisque dans le cas où la fonction amine est initialement protégée, sa déprotection doit être quantitative et les conditions expérimentales de déprotection ne doivent pas modifier la chaîne polyester qui est particulièrement sensible à l'hydrolyse.

Le premier exemple d'utilisation d'un amorceur fonctionnel est celui publié par Jérôme et coll.<sup>169</sup> Dans cet exemple, les auteurs ont amorcé la polymérisation de l' $\epsilon$ -caprolactone par un bromure d'alkyle du type  $\text{Br}(\text{CH}_2)_{12}\text{OAlEt}_2$ , ce qui permet, après traitement du polymère par  $\text{NaN}_3$  suivi d'une réduction, d'obtenir la PCL  $\omega$ - $\text{NH}_2$  voulue (Schéma 1-32). Il est à noter que, dans la perspective d'utiliser ce polymère comme macroamorceur pour la polymérisation du L-glutamate de  $\gamma$ -benzyle NCA, les auteurs ont pris soin de protéger la fonction hydroxyle terminale du polymère en prévention d'éventuelles réactions secondaires. Cette protection a été effectuée juste après la polymérisation de l' $\epsilon$ -caprolactone par réaction quantitative d'anhydride acétique sur la PCL  $\alpha$ -Br,  $\omega$ -OH, en conditions basiques. Le groupe protecteur acétate ne perturbe pas les étapes suivantes qui permettent d'accéder à la PCL  $\alpha$ -Ac,  $\omega$ - $\text{NH}_2$ .

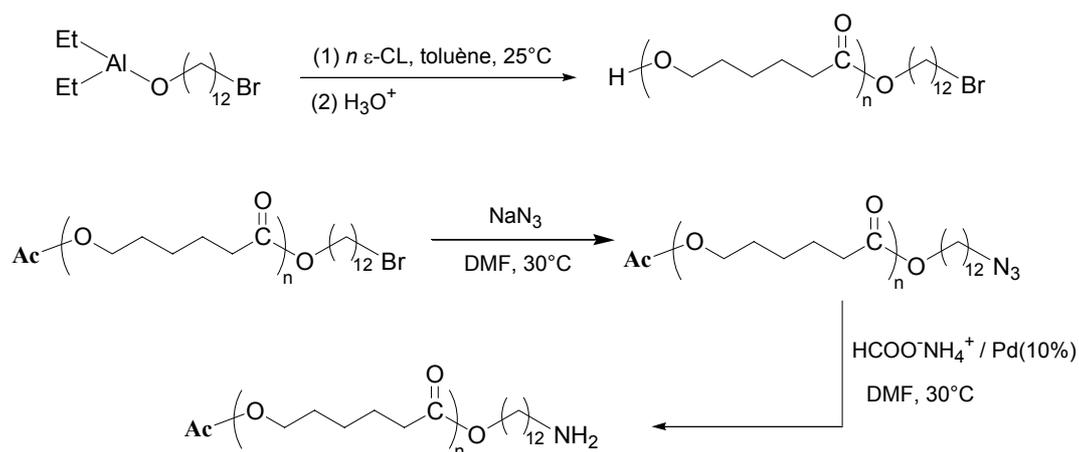


Schéma 1-32 : Préparation d'une poly( $\epsilon$ -caprolactone) fonctionnalisée par une amine primaire<sup>169</sup>

Plus récemment, Rong *et al.*<sup>170</sup> puis Ouchi *et al.*<sup>171</sup> ont utilisé la même stratégie et ont polymérisé l' $\epsilon$ -caprolactone et le L-lactide avec des amorceurs fonctionnalisés respectivement par des groupes nitrobenzyle et Boc-aminoéthanol, ce qui leur a permis d'obtenir des polyesters fonctionnalisés  $\text{NH}_2$  après hydrogénation dans un cas et élimination du groupe protecteur dans l'autre cas (Schéma 1-33 & Schéma 1-34).

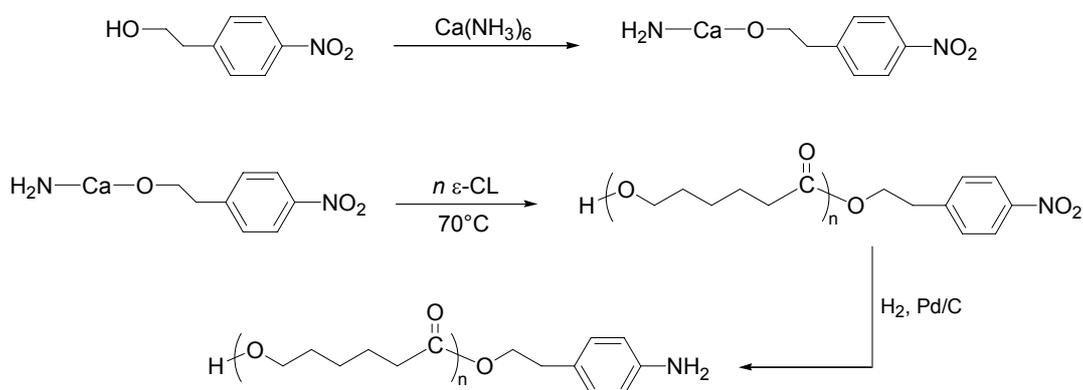


Schéma 1-33 : Préparation d'une poly( $\epsilon$ -caprolactone)  $\alpha\text{-NH}_2$ <sup>170</sup>

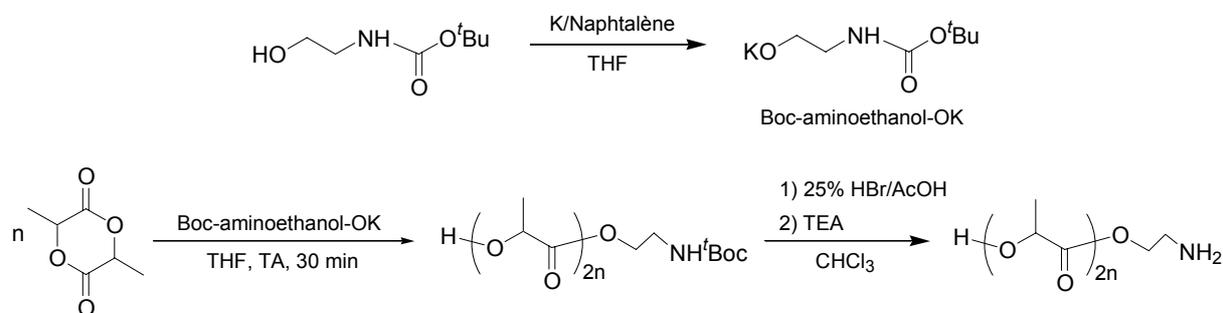


Schéma 1-34 : Préparation d'un poly(L-lactide)  $\alpha\text{-NH}_2$ <sup>171</sup>

Enfin, Höcker et coll.<sup>164</sup> puis Caillol *et al.*<sup>172</sup> ont amorcé la polymérisation du L-lactide par un alcoolate de zinc porteur d'une fonction amine primaire protégée par un groupement <sup>t</sup>Boc et préparé par réaction entre du diéthylzinc et du N-(terbutylcarbamate)-propanolate. L'élimination du groupement protecteur <sup>t</sup>Boc par un traitement avec de l'acide trifluoroacétique (TFA) a permis d'obtenir du poly(L-lactide)  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> (Schéma 1-35).

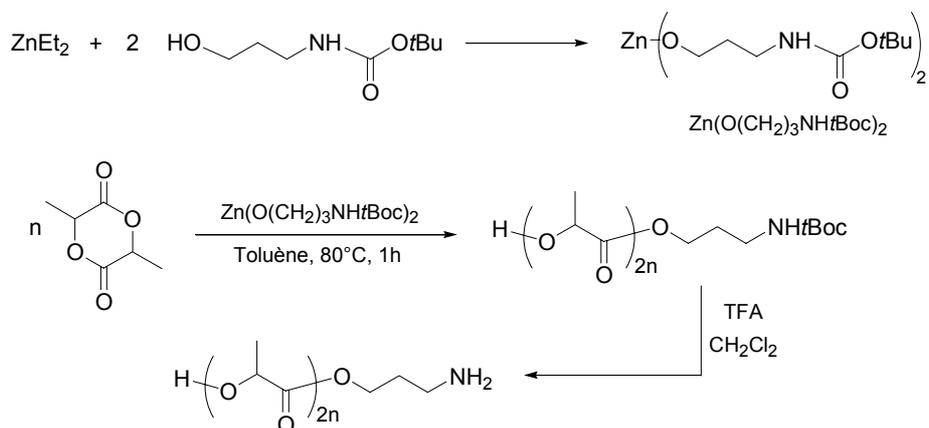


Schéma 1-35 : Préparation d'un poly(L-lactide)  $\alpha$ -NH<sub>2</sub><sup>164,172</sup>

### Conclusions / commentaires :

Cette seconde voie d'obtention de macroamorceurs polyester-NH<sub>2</sub> qui consiste en l'utilisation de systèmes d'amorçage fonctionnels précurseurs d'une fonction amine primaire présente l'avantage d'une fonctionnalisation complète des chaînes polymère, dans la mesure où les réactions de transfert sont absentes. Toutefois, dans le cas où le précurseur d'amine primaire nécessite une modification chimique, la question de la limitation du rendement de fonctionnalisation se pose à nouveau, ce qui est également le cas lorsque le précurseur nécessite l'élimination d'un groupe protecteur. Cependant, dans ce dernier cas, des conditions expérimentales d'hydrolyse appropriées permettent de ne pas altérer la structure de la chaîne polyester.

## II.2.2. Synthèse du bloc poly(acide $\alpha$ -aminé)

Tous les polymères et copolymères fonctionnalisés NH<sub>2</sub> précédemment cités ont été utilisés par les auteurs comme macroamorceurs pour la polymérisation par ouverture de cycle de NCA d'acides  $\alpha$ -aminés (Schéma 1-36), le plus souvent du L-glutamate de  $\gamma$ -benzyle NCA dont l'homopolymère correspondant peut aisément être hydrolysé en poly(acide L-glutamique) qui est hydrophile.

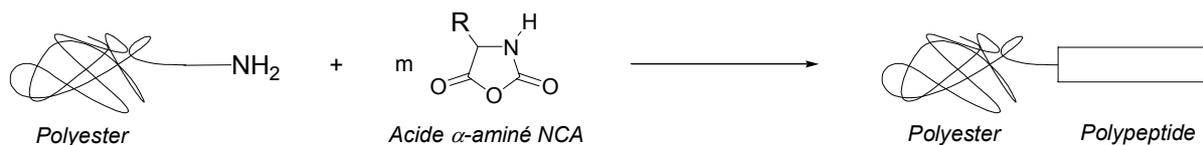


Schéma 1-36 : Voie de synthèse générale d'un copolymère à bloc poly(ester-*b*-acide α-aminé)

Kim et coll.<sup>162</sup> puis Jérôme et coll.<sup>173</sup> sont les premiers groupes de recherche à avoir préparé des copolymères à blocs poly(ester-*b*-L-glutamate de γ-benzyle) de compositions variées à partir de polyesters fonctionnalisés (Schéma 1-37 & Schéma 1-38). Les caractérisations par spectroscopies IR et RMN ainsi que les études par DSC et thermogravimétrie leur ont permis de confirmer la structure des copolymères à blocs et d'estimer les masses molaires. Néanmoins, les analyses en chromatographie d'exclusion stérique (CES) de même qu'une purification par précipitation sélective (afin d'éliminer l'éventuel homopolymère résiduel) n'ont pu être réalisées. En outre, dans le cas des travaux du groupe de Kim, les essais d'hydrolyse des fonctions ester de benzyle du bloc peptidique par hydrogénation (H<sub>2</sub>, Pd/C) ont conduit à des rendements médiocres de l'ordre de 10% et aucune étude de l'effet de cette hydrolyse sur la structure du bloc polyester n'est rapportée.

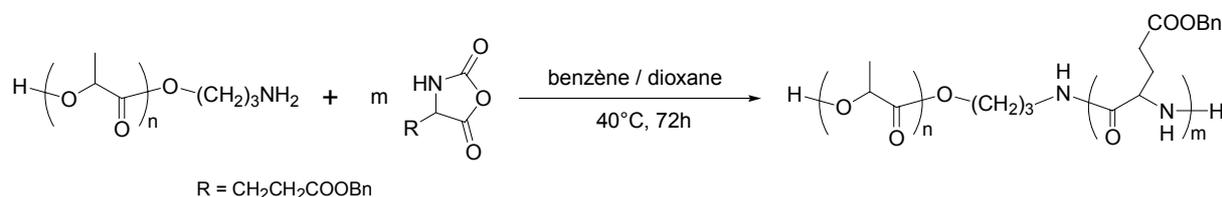


Schéma 1-37 : Synthèse du poly(L-lactide-*b*-L-glutamate de γ-benzyle) par Kim et coll.<sup>162</sup>

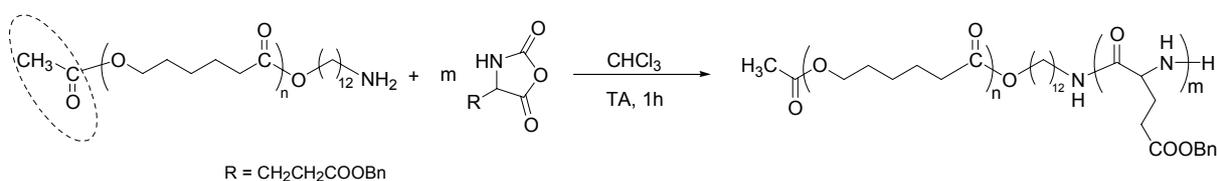
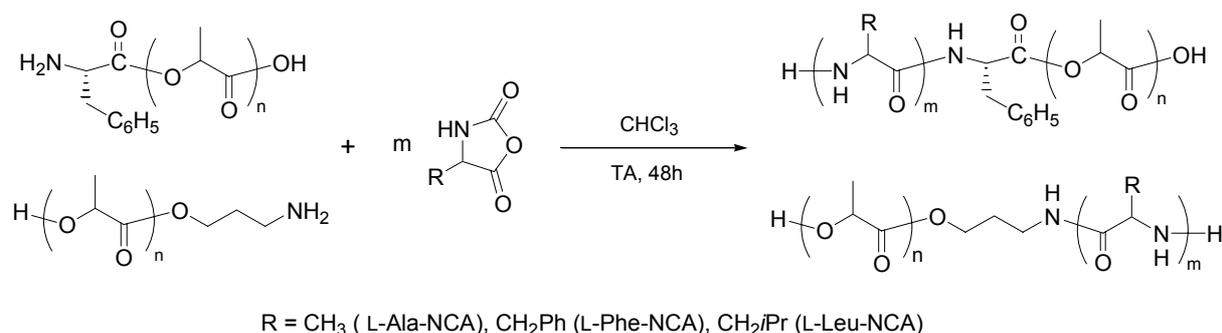


Schéma 1-38 : Synthèse du poly(ε-caprolactone-*b*-L-glutamate de γ-benzyle) par Jérôme et coll.<sup>173</sup>

Un peu plus tard, Höcker et coll. ont utilisé du poly(L-lactide) fonctionnalisé NH<sub>2</sub> pour amorcer la polymérisation de différents monomères NCA : la L-alanine, la L-phénylalanine et la L-leucine (Schéma 1-39).<sup>164</sup>



**Schéma 1-39 : Synthèse de divers copolymères à blocs poly(L-lactide-*b*-acide α-aminé) par Höcker et coll.<sup>164</sup>**

Les auteurs n'ont observé aucune différence notable selon le monomère utilisé et, dans chaque cas, les masses molaires expérimentales sont toujours bien supérieures aux masses molaires théoriques. Ces écarts ont été attribués à une fonctionnalisation incomplète du poly(L-lactide) lors de l'étape de déprotection de la fonction amine primaire. En effet, l'analyse des résidus des polymérisations a montré la présence d'homopolymère poly(L-lactide) dans des proportions avoisinant toujours les 40% (Tableau 1-13). Outre les caractérisations par spectroscopie RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C qui ont permis de confirmer la structure attendue, l'étude des propriétés thermiques par DSC et thermogravimétrie a également été faite sans apporter de conclusions majeures.

Numéro	NCA	Composition théorique LLA/NCA	Composition expérimentale LLA/NCA <sup>a</sup>	PLLA résiduel <sup>b</sup> (% massique)
1	L-Ala	33/67	22/78	35
2	L-Ala	50/50	32/68	36
3	L-Phe	33/67	18/82	47
4	L-Phe	50/50	33/67	34
5	L-Leu	33/67	19/81	45
6	L-Leu	50/50	32/68	37

<sup>a</sup> Déterminée par spectroscopie RMN <sup>1</sup>H. <sup>b</sup> Récupéré dans le solvant de précipitation du copolymère.

**Tableau 1-13 : Composition des copolymères à blocs obtenus par Höcker et coll.<sup>164</sup>**

Concernant les synthèses de copolymères à blocs polyester-*b*-poly(acide α-aminé) réalisées avec des monomères NCA moins conventionnels que le L-glutamate de γ-benzyle, il convient de souligner que le groupe de Yuan *et al.* est le premier à avoir publié une analyse CES des copolymères préparés, dans leur cas à partir du L-aspartate de β-benzyle.<sup>163</sup> Dans le cas des travaux de Fan *et al.* sur la (*Z*)-L-lysine (Schéma 1-40), il semble que la polymérisation du bloc acide α-aminé soit relativement bien contrôlée.<sup>165</sup> En outre, ces auteurs rapportent avoir dispersé, en solution aqueuse, les copolymères obtenus après

élimination des groupements COOBn de la chaîne peptidique, sans donner plus d'informations sur le comportement auto-associatif du système.

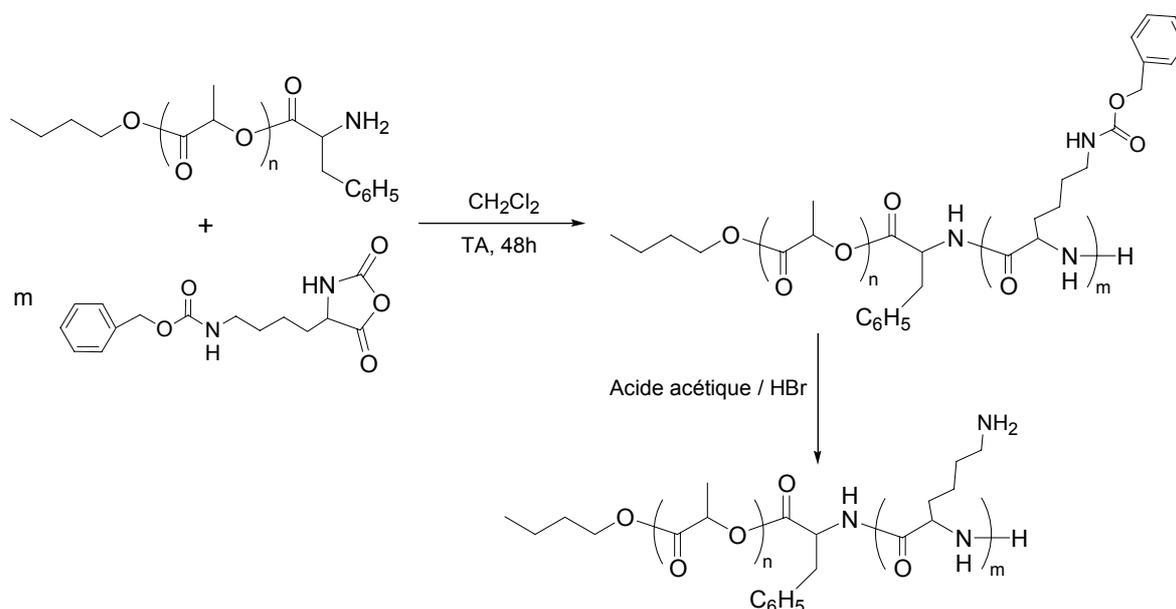


Schéma 1-40 : Synthèse du copolymère à blocs poly(L-lactide-*b*-L-lysine) préparé par Fan *et al.*<sup>165</sup>

Plusieurs auteurs ont réalisé la synthèse de copolymères triblocs poly(acide  $\alpha$ -aminé)-*b*-polyester-*b*-poly(acide  $\alpha$ -aminé).<sup>167,174</sup> En particulier, Kricheldorf et coll. ont étudié la réactivité d'une poly( $\epsilon$ -caprolactone) diamino téléchélique vis-à-vis de l'amorçage de la polymérisation de divers NCA d'acides  $\alpha$ -aminés.<sup>174</sup> En effet, la présence d'un groupement phényle en  $\alpha$  de la fonction amine primaire terminale dans leur précurseur (voir page 52) confère aux extrémités fonctionnelles un caractère nucléophile plus faible que celui des bouts de la chaîne peptidique en croissance (Schéma 1-41).

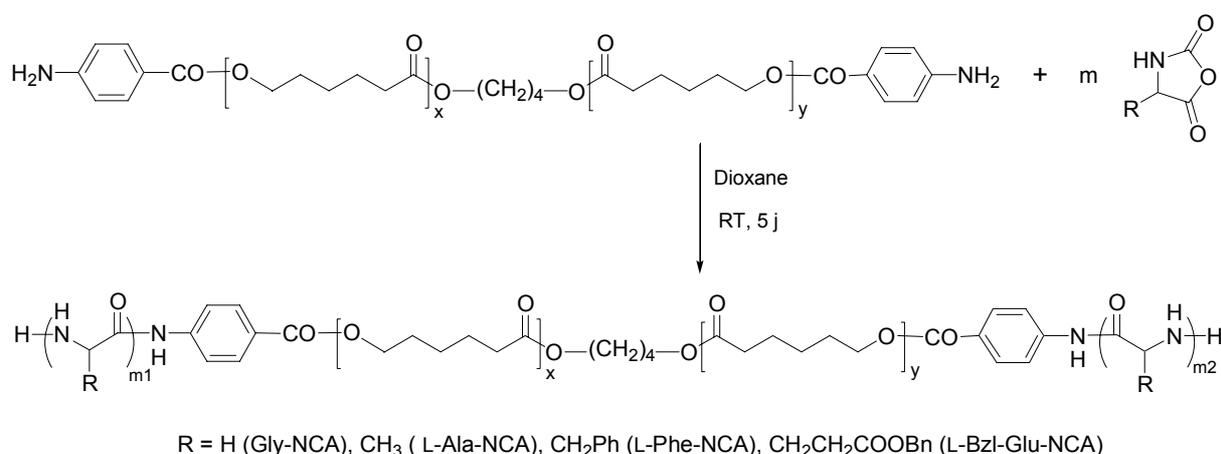


Schéma 1-41 : Synthèse de divers copolymère triblocs poly(acide  $\alpha$ -aminé)-*b*- $\epsilon$ -caprolactone-*b*-acide  $\alpha$ -aminé) par Kricheldorf et coll.<sup>174</sup>

La poly( $\epsilon$ -caprolactone) di-NH<sub>2</sub> s'est avérée être un bon amorceur pour la polymérisation des monomères NCA de la glycine, de la L-alanine et de la L-phénylalanine (Tableau 1-14). Dans le cas de la polymérisation du L-glutamate de  $\gamma$ -benzyle, les différences observées entre les valeurs des masses molaires théoriques et expérimentales ont été attribuées à une consommation partielle du macroamorceur dont les groupes 4-aminobenzoyl se retrouvent en compétition avec les groupes amine de la chaîne glutamate en croissance, plus réactifs dans ce cas que dans le cas des trois autres poly(acides  $\alpha$ -aminés) étudiés, et ce en raison d'une différence de conformation des chaînes polymères (feuille  $\beta$  pour les trois premiers et hélice  $\alpha$  pour le dernier).

La structure secondaire à l'état solide des copolymères à blocs ainsi synthétisés a été déterminée par spectroscopies IR et RMN <sup>13</sup>C CP/MAS (Tableau 1-14).

Polymère n°	Acide aminé	NCA:NH <sub>2</sub> <sup>a</sup>	DP <sub>exp</sub> <sup>b</sup>	Rdt <sup>c</sup> (%)	Fraction d'hélice $\alpha$ (%)	Fraction de feuille $\beta$ (%)
1	Gly	10 : 1	13	68	0 – 5	95 – 100
2	Gly	20 : 1	24	71	0 – 5	95 – 100
3	Gly	50 : 1	46	69	0 – 5	95 – 100
4	L-Phe	10 : 1	13	75	20 $\pm$ 10	80 $\pm$ 10
5	L-Phe	20 : 1	25	72	-	-
6	L-Phe	50 : 1	48	67	35 $\pm$ 10	65 $\pm$ 10
7	L-Phe	100 : 1	102	80	60 $\pm$ 10	40 $\pm$ 10
8	L-Ala	10 : 1	15	72	40 $\pm$ 10	60 $\pm$ 10
9	L-Ala	20 : 1	27	76	55 $\pm$ 10	45 $\pm$ 10
10	L-Ala	50 : 1	55	69	75 $\pm$ 10	25 $\pm$ 10
11	$\gamma$ -Bzl-L-Glu	<b>10 : 1</b>	<b>17</b>	66	90 $\pm$ 5	10 $\pm$ 5
12	$\gamma$ -Bzl-L-Glu	<b>20 : 1</b>	<b>38</b>	60	95 $\pm$ 5	5 $\pm$ 5
13	$\gamma$ -Bzl-L-Glu	<b>50 : 1</b>	<b>82</b>	70	95 $\pm$ 5	5 $\pm$ 5

<sup>a</sup> Unités : mol de NCA / mol de bouts de chaîne NH<sub>2</sub> (= 1/2 monomère / macroamorceur). <sup>b</sup> Déterminé par spectroscopie RMN <sup>1</sup>H. <sup>c</sup> Rendement après précipitation dans l'éther diéthylique.

**Tableau 1-14 : Caractéristiques des copolymères à blocs obtenus par Kricheldorf et coll.<sup>174</sup>**

Les problèmes précédemment rapportés par Höcker et coll. dans le cas du macroamorçage de la polymérisation de NCAs par un poly(L-lactide) fonctionnalisé n'ont pas été rencontrés dans les travaux de Caillol *et al.*<sup>172</sup> Les auteurs ne font état, en effet, d'aucun problème de fonctionnalisation initiale du polyester ou d'efficacité de l'amorçage puisque aucune trace de PLLA résiduel n'a été détecté contrairement aux observations du groupe de Höcker (Tableau 1-13). Des analyses en RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C ainsi que des analyses CES dans le DMF ont permis de confirmer la structure à blocs des copolymères et de donner une estimation des masses molaires expérimentales, en bon accord avec les masses molaires théoriques (Tableau 1-15).

Echantillon	Bloc PLLA			Bloc PBLG	
	$\overline{M}_n$ (théo) (g.mol <sup>-1</sup> )	$\overline{M}_n$ (RMN) (g.mol <sup>-1</sup> )	$\overline{M}_n$ (CES) (g.mol <sup>-1</sup> )	$\overline{M}_n$ (théo) (g.mol <sup>-1</sup> )	$\overline{M}_n$ (RMN) (g.mol <sup>-1</sup> )
PLLA <sub>20</sub> - <i>b</i> -PBLG <sub>40</sub>	2 880	2 900	2 800	8 760	8 800
PLLA <sub>40</sub> - <i>b</i> -PBLG <sub>20</sub>	5 760	5 700	5 800	4 380	4 400
PLLA <sub>25</sub> - <i>b</i> -PBLG <sub>50</sub>	3 600	3 500	3 700	10 950	11 000
PLLA <sub>15</sub> - <i>b</i> -PBLG <sub>100</sub>	2 160	2 000	2 100	21 900	21 700
PLLA <sub>10</sub> - <i>b</i> -PBLG <sub>80</sub>	1 440	1 500	1 600	17 520	17 700

Tableau 1-15 : Composition des copolymères poly(L-lactide-*b*-L-glutamate de  $\gamma$ -benzyle) préparés par Caillol *et al.*<sup>172</sup>

Par ailleurs, ces auteurs sont les premiers à avoir étudié les propriétés d'organisation à l'état solide de copolymères à blocs du type polyester-*b*-poly(acide  $\alpha$ -aminé). Dans un premier temps, les analyses en DSC de leurs échantillons de copolymères à blocs poly(L-lactide-*b*-L-glutamate de  $\gamma$ -benzyle) leur ont permis d'observer la présence des transitions thermiques caractéristiques des deux blocs (températures de transition vitreuse ( $T_g$ ) et de fusion ( $T_m$ ) du PLLA et température du changement de conformation du PBLG ( $T_{LC}$ )) ce qui confirme la séparation de phase à l'état solide. Ils ont également vérifié l'irréversibilité du changement de conformation du bloc PBLG (passage d'une hélice 7/2 à une hélice  $\alpha$  18/5) dont la transition thermique se situe vers 100-110°C ( $T_{LC}$ ) (Fig. 1-12).

Ce type de comportement à l'état solide a également été décrit à la même période par Rong *et al.* avec des systèmes poly( $\epsilon$ -caprolactone-*b*-L-glutamate de  $\gamma$ -benzyle).<sup>170</sup>

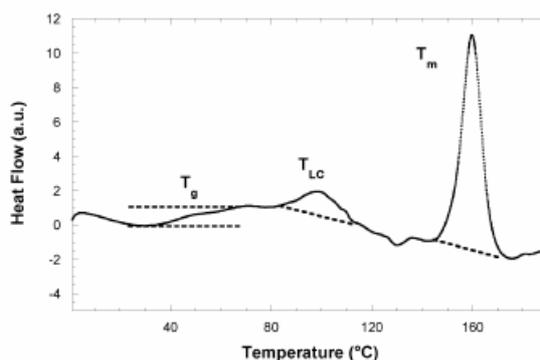
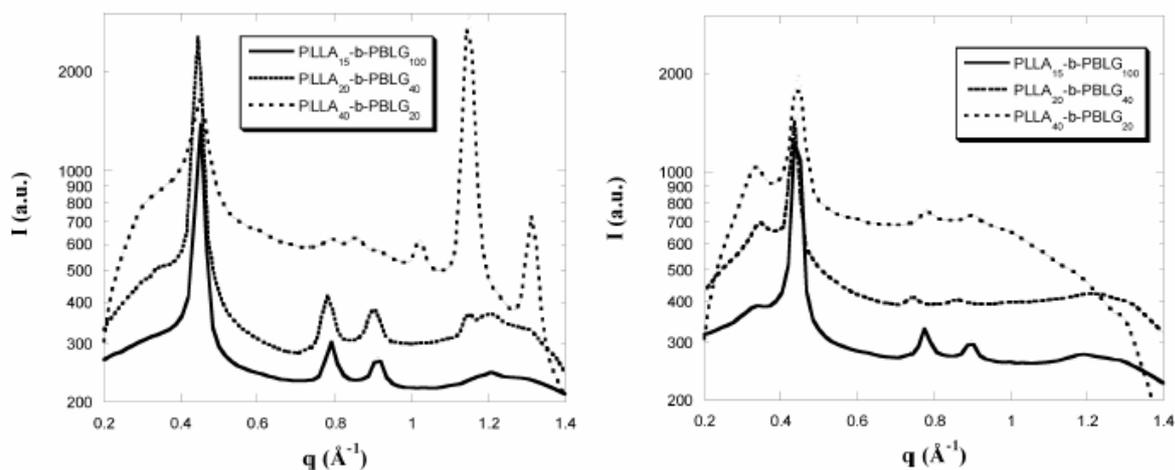


Fig. 1-12 : Analyses DSC du copolymère PLLA<sub>25</sub>-*b*-PBLG<sub>50</sub><sup>172</sup>

Dans un second temps, les analyses en SAXS sur trois échantillons représentatifs de copolymères (PLLA<sub>15</sub>-*b*-PBLG<sub>100</sub>, PLLA<sub>20</sub>-*b*-PBLG<sub>40</sub> et PLLA<sub>40</sub>-*b*-PBLG<sub>20</sub> correspondant respectivement à des fractions volumiques en PBLG de 91%, 76%, et 44%) ont permis de confirmer et d'approfondir ce phénomène de séparation de phase et d'auto-organisation.

A une température de 100°C, une série de pics de Bragg caractéristique d'une organisation hexagonale des hélices  $\alpha$  du bloc peptidique est observée pour chaque copolymère (Fig. 1-13). La diminution de l'intensité des pics précédents, avec la proportion en PBLG décroissante, s'accompagne également de l'apparition d'un autre pic caractéristique d'un changement de conformation du bloc peptidique en feuillet  $\beta$  et de leur organisation lamellaire. Vers les plus grandes valeurs de  $q$ , une autre série de pics de Bragg est observée, en particulier pour les copolymères contenant une grande proportion de PLLA ; celle-ci correspond à l'organisation cristalline de ce bloc. Ces résultats contribuent à la mise en évidence d'une séparation de phase du système (l'organisation caractéristique de chacun des blocs est observée) et sont en accord avec les résultats de l'analyse DSC.

A 200°C, il y a coexistence entre une organisation lamellaire de feuillets  $\beta$  et une organisation hexagonale de segments d'hélice  $\alpha$  de la chaîne peptidique, dans des domaines désordonnés de PLLA (au-dessus de sa température de fusion) (Fig. 1-13). Un refroidissement à 150°C permet d'observer la recristallisation du PLLA. Ces résultats mettent en évidence la possibilité de modifier et d'adapter l'organisation du système et les propriétés physiques qui en découlent. A plus grande échelle de taille, aucune organisation n'a été mise en évidence, ceci en raison certainement de la présence à la fois d'un bloc rigide et d'un bloc semi-cristallin qui donne lieu à un processus de séparation de phase complexe.



**Fig. 1-13 : Profils de diffusion à 100°C (gauche) et 200°C (droite), des copolymères PLLA<sub>15</sub>-b-PBLG<sub>100</sub>, PLLA<sub>20</sub>-b-PBLG<sub>40</sub> et PLLA<sub>40</sub>-b-PBLG<sub>20</sub> analysés en SAXS<sup>172</sup>**

Ces mêmes auteurs sont également les premiers à avoir rapporté le comportement auto-associatif en milieu aqueux des copolymères amphiphiles PLLA-*b*-PGA préparés par hydrolyse des fonctions ester de benzyle de la chaîne peptidique. Pour cela, les échantillons de copolymères ont subi une nanopréciipitation plutôt qu'une micellisation dans l'eau par la

méthode directe, selon un protocole précis.<sup>175</sup> Cette méthode a permis aux auteurs de préparer des particules de diamètre hydrodynamique moyen, déterminé par diffusion dynamique de la lumière, de 240, 220 et 450 nm respectivement pour des échantillons de compositions PLLA/PGA : 80/20, 30/100 et 50/50. Les auteurs ont également étudié les potentialités d'encapsulation et de libération contrôlée de l'insuline par leurs systèmes. Ainsi, ils ont montré que leurs particules de copolymères à blocs PLLA-*b*-PGA ne dénaturaient pas l'insuline et pouvaient être utilisées efficacement pour sa libération contrôlée.<sup>175</sup>

Une étude analogue a été réalisée et publiée plus récemment par Arimura *et al.*<sup>176,177</sup> Ces auteurs ont étudié le comportement auto-associatif en milieu aqueux de copolymères à blocs amphiphiles poly(L-lactide)-*b*-poly(acide aspartique) et analysé, en particulier, l'effet de la composition des copolymères sur la morphologie des structures obtenues.

Dans un premier temps, les auteurs ont montré que les copolymères étudiés sont susceptibles de former, dans l'eau pure, des micelles sphériques avec un cœur hydrophobe de PLLA et une couronne hydrophile de PAsp dont le diamètre moyen varie de 30 à 45 nm selon la composition (Fig. 1-14). La morphologie des micelles ainsi que leur taille ont été confirmées par des analyses en microscopie à force atomique (AFM) (Fig. 1-15). En outre, leur redispersion après lyophilisation n'a montré aucune altération de leur taille.

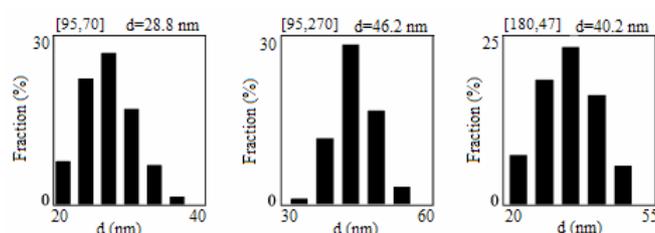


Fig. 1-14 : Diamètre moyen de micelles de PLLA-*b*-PAsp de compositions [95,70], [95,270] et [180,47], dans l'eau pure<sup>177</sup>

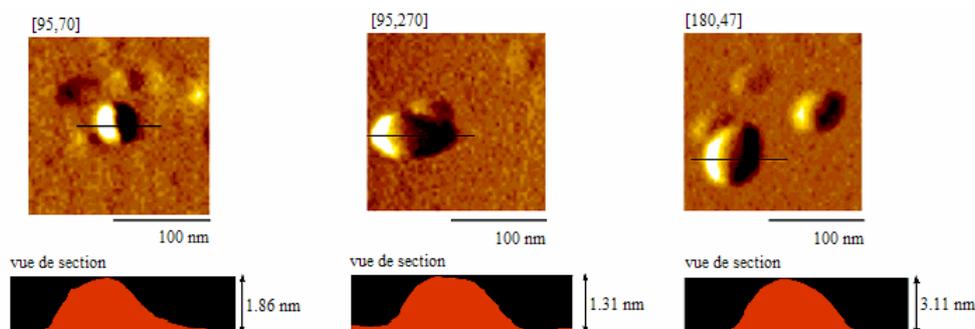


Fig. 1-15 : Images AFM des micelles de PLLA-*b*-PAsp de compositions [95,70], [95,270] et [180,47]<sup>177</sup>

Dans un second temps, les auteurs ont étudié l'évolution du diamètre moyen des micelles de copolymères de différentes compositions, en fonction du pH de la solution aqueuse (Fig. 1-16).

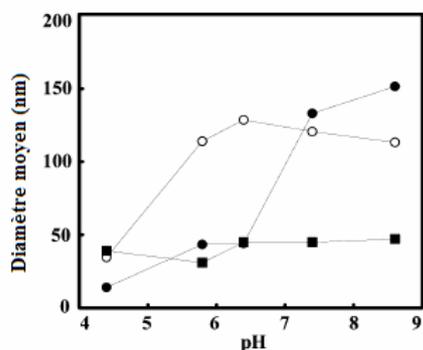


Fig. 1-16 : Diamètre moyen des micelles de PLLA-*b*-PAsp de compositions [95,70] (●), [95,270] (○) et [180,47] (■), en fonction du pH<sup>177</sup>

Dans le cas des micelles préparées à partir des copolymères de compositions PLLA<sub>95</sub>-*b*-PAsp<sub>70</sub> et PLLA<sub>95</sub>-*b*-PAsp<sub>270</sub>, un changement radical de la taille des micelles est observé pour un pH compris entre 6 et 7 dans un cas et 5 et 6 dans l'autre cas. Pour un pH inférieur à ces valeurs, les groupements acides carboxyliques des segments de poly(acide aspartique) ne sont pas déprotonés ; au-delà, les répulsions électrostatiques entre les différents segments de PAsp affectent directement la taille moyenne des micelles. Dans le cas des micelles de PLLA<sub>95</sub>-*b*-PAsp<sub>270</sub> où la taille du bloc polypeptidique est 4 fois plus longue, les répulsions électrostatiques sont plus importantes et ont des répercussions sur la taille des micelles dès pH 5. Dans le cas des micelles de copolymère PLLA<sub>180</sub>-*b*-PAsp<sub>47</sub>, aucun changement significatif du diamètre moyen n'est observé sur toute la gamme de pH étudiée. En effet, la longueur du bloc PLLA est telle que la taille des micelles de type « crew-cut »<sup>†</sup> alors formées est essentiellement gouvernée par les dimensions de son cœur.

Enfin, ces auteurs ont démontré la biocompatibilité de leurs systèmes en effectuant des études de toxicité *in vitro*.

### Conclusions / commentaires :

L'utilisation de macroamorceurs polyester fonctionnalisés NH<sub>2</sub> s'est avérée être une méthode très efficace pour la préparation de copolymères à blocs poly(ester)-*b*-poly(acide α-aminé). Outre les difficultés liées à la voie de préparation des macroamorceurs et à leur

<sup>†</sup> Les micelles de type « crew-cut » sont caractérisées par un cœur de taille importante et une couronne relativement fine, contrairement aux micelles « star-like » constituées d'une couronne plus grande que le cœur.

fonctionnalisation parfois non quantitative rencontrées par quelques auteurs, cette méthode permet un bon contrôle des masses molaires et de leur distribution.

Comme dans le cas de copolymères statistiques ou alternés, l'association de polyesters à des poly(acide  $\alpha$ -aminé)s a permis d'accéder à de nouveaux matériaux aux propriétés amphiphiles, pouvant s'organiser de façon spontanée en milieu aqueux en objets de type micelles à structure cœur-couronne et possédant des sites de fonctionnalisation pouvant être utilisés pour greffer des molécules d'intérêt biologique.<sup>178</sup> Même si le but final visé par les auteurs est souvent le même, à savoir l'utilisation de tels systèmes dans le domaine de la libération contrôlée de principes actifs, peu d'études sur ces systèmes ont permis de confirmer cette possible utilisation.

## CONCLUSION

Explorée initialement dans le but d'améliorer les propriétés des polyesters aliphatiques déjà largement utilisés dans le domaine biomédical tout en remédiant à leurs principales limitations (leur hydrophobie ou leur absence de sites de fonctionnalisation), l'incorporation d'unités d'acides  $\alpha$ -aminés au sein d'architectures de type copolymères à blocs, statistiques ou autres s'est révélée très efficace. En effet, la présence d'acides  $\alpha$ -aminés dans la chaîne polyester a permis de conférer un caractère hydrophile aux matériaux dérivés tout en modifiant, entre autres, leurs propriétés de dégradation. Outre le caractère amphiphile des matériaux obtenus et la possibilité de former des structures auto-organisées en solution aqueuse, les propriétés physico-chimiques des poly(acide  $\alpha$ -aminé)s permettent d'envisager la préparation de systèmes stimulables pouvant répondre au pH ou à la température par des changements de conformation et de taille très utiles dans le domaine de la libération contrôlée de principes actifs, mais également pour l'ingénierie tissulaire.

---

<sup>1</sup> Vert, M. In *Polymers for Biomedical Applications*: Saint-Dié-des-Vosges, France, **2005**.

<sup>2</sup> Lunt, J. *Polym. Degrad. Stab.* **1998**, *59*, 145-152.

<sup>3</sup> Drumright, R. E.; Gruber, P. R.; Henton, D. E. *Advanced Materials* **2000**, *12*, 1841-1846.

<sup>4</sup> Ritter, S. K. *Chem. Eng. News* **2002**, *80*, 26-30.

<sup>5</sup> Vink, E. T. H.; Rábago, K. R.; Glassner, D. A.; Gruber, P. R. *Polym. Degrad. Stab.* **2003**, *80*, 403-419.

<sup>6</sup> Okada, M. *Prog. Polym. Sci.* **2002**, *27*, 87-133.

<sup>7</sup> Odian, G. In *Principles of polymerization*; Graw-Hill, M., Ed.: New York, **1970**; pp 40-161, 450-499.

- <sup>8</sup> Albertsson, A.-C.; Varma, I. K. *Advances in Polymer Science* **2002**, *157*, 1-40.
- <sup>9</sup> Kawashima, N.; Ogawa, S.; Obuchi, S.; Matsuo, M.; Yagi, T. In *Biopolymers*; Doi, Y.; Steinbuchel, A., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, **2002**; Vol. 4, Polyesters III: Applications and Commercial Products pp 251-274.
- <sup>10</sup> Albertsson, A.-C.; Ljungquist, O. *J. Macromol. Sci., Pure and Applied Chemistry* **1986**, *A23*, 411-422.
- <sup>11</sup> Albertsson, A.-C.; Ljungquist, O. *J. Macromol. Sci., Pure and Applied Chemistry* **1987**, *A24*, 977-990.
- <sup>12</sup> Ranucci, E.; Liu, Y.; Söderqvist Lindblad, M.; Albertsson, A.-C. *Macromol. Rapid Comm.* **2000**, *21*, 680-684.
- <sup>13</sup> Fujimaki, T. *Polym. Degrad. Stab.* **1998**, *59*, 209-214.
- <sup>14</sup> Ishioka, R.; Kitakuni, E.; Ichikawa, Y. In *Biopolymers*; Doi, Y.; Steinbuchel, A., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, **2002**; Vol. 4, Polyesters III: Applications and Commercial Products pp 275-297.
- <sup>15</sup> Brode, G. L.; Koleske, J. V. *J. Macromol. Sci. - Chem.* **1972**, *6*, 1109-1144.
- <sup>16</sup> Carothers, W. H.; van Natta, F. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1930**, *52*, 314-326.
- <sup>17</sup> Hill, J. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1930**, *52*, 4110-4114.
- <sup>18</sup> Carothers, W. H.; Dorough, G. L.; van Natta, F. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1932**, *54*, 761-772.
- <sup>19</sup> van Natta, F. J.; Hill, J. W.; Carothers, W. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1934**, *56*, 455-457.
- <sup>20</sup> Fontanille, M.; Gnanou, Y. In *Chimie et physico-chimie des polymères*; Dunod, Ed.: Paris, **2002**; pp 228-238.
- <sup>21</sup> Kubisa, P.; Penczek, S. *Prog. Polym. Sci.* **1999**, *24*, 1409-1437.
- <sup>22</sup> Penczek, S. *J. Polym. Sci. A* **2000**, *38*, 1919-1933.
- <sup>23</sup> Penczek, S.; Duda, A. *Makromol. Chem., Macromol. Symp.* **1993**, *67*, 15-42.
- <sup>24</sup> Penczek, S.; Duda, A.; Kubisa, P. In *Living and Controlled Polymerization*; Jagur-Grodzinski, J., Ed.; Nova Science: N. Y., **2006**; pp 173-212.
- <sup>25</sup> Dechy-Cabaret, O.; Martin-Vaca, B.; Bourissou, D. *Chemical Reviews* **2004**, *104*, 6147-6176.
- <sup>26</sup> Albertsson, A.-C.; Varma, I. K. *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 1466-1486.
- <sup>27</sup> Stridsberg, K. M.; Ryner, M.; Albertsson, A.-C. *Advances in Polymer Science* **2002**, *157*, 41-65.
- <sup>28</sup> Schmitt, E. E.; American Cyanamid Company: Norwalk, Conn., *US Patent*, 3,297,033, **1967**
- <sup>29</sup> Grijpma, D. W.; Pennings, A. J. *Polymer Bulletin* **1991**, *25*, 335-341.
- <sup>30</sup> Kricheldorf, H. R.; Jenssen, J.; Kreiser-Saunders, I. *Makromol. Chem.* **1991**, *192*, 2391-2399.
- <sup>31</sup> Zhang, X.; MacDonald, M.; Goosen, F. A.; McAuley, K. B. *J. Polym. Sci. A* **1994**, *32*, 2965-2970.
- <sup>32</sup> Albertsson, A.-C.; Gruvegard, M. *Polymer* **1995**, *36*, 1009-1016.
- <sup>33</sup> Du, Y. J.; Lemstra, P. J.; Nijenhuis, A. J.; van Aert, H. A. M.; Bastiaansen, C. *Macromolecules* **1995**, *28*, 2124-2132.
- <sup>34</sup> In't Veld, P. J. A.; Velner, E. M.; van de Witte, P.; Harnhuis, J.; Dijkstra, P. J.; Feijen, J. *J. Polym. Sci. A* **1997**, *35*, 219-226.
- <sup>35</sup> Jie, C.; Zhu, K. J. *Polymer International* **1997**, *42*, 373-379.
- <sup>36</sup> Schwach, G.; Coudane, J.; Engel, R.; Vert, M. *Macromolecules* **1997**, *35*, 3431-3440.
- <sup>37</sup> Witzke, D. R.; Narayan, R.; Kolstad, J. *Macromolecules* **1997**, *30*, 7075-7085.
- <sup>38</sup> Storey, R. F.; Taylor, A. E. *J. Polym. Sci. A* **1998**, *A35*, 723-750.
- <sup>39</sup> Wang, H.; Dong, J. H.; Qiu, K. Y.; Gu, Z. W. *J. Polym. Sci. A* **1998**, *36*, 1301-1307.
- <sup>40</sup> Bero, M.; Czaplá, B.; Dobrzyn'ski, P.; Janeczek, H.; Kasperczyk, J. *Macromol. Chem. Phys.* **1999**, *200*, 911-916.
- <sup>41</sup> Degée, P.; Dubois, P.; Jacobsen, S.; Fritz, H.-G.; Jérôme, R. *J. Polym. Sci. A* **1999**, *37*, 2413-2420.
- <sup>42</sup> Ryner, M.; Stridsberg, K.; Albertsson, A.-C.; von Schenck, H.; Svensson, M. *Macromolecules* **2001**, *34*, 3877-3881.
- <sup>43</sup> Kricheldorf, H. R.; Kreiser-Saunders, I.; Boettcher, C. *Polymer* **1995**, *36*, 1253-1259.
- <sup>44</sup> Kricheldorf, H. R.; Kreiser-Saunders, I.; Stricker, A. *Macromolecules* **2000**, *33*, 702-709.
- <sup>45</sup> Kricheldorf, H. R.; Stricker, A. *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, *201*, 2557-2565.
- <sup>46</sup> Kricheldorf, H. R. *Macromol. Symp.* **2000**, *153*, 55-65.
- <sup>47</sup> Kowalski, A.; Duda, A.; Penczek, S. *Macromol. Rapid Comm.* **1998**, *19*, 567-572.
- <sup>48</sup> Penczek, S.; Duda, A.; Kowalski, A.; Libiszowski, J.; Majerska, K.; Biela, T. *Macromol. Symp.* **2000**, *157*.
- <sup>49</sup> Kowalski, A.; Duda, A.; Penczek, S. *Macromolecules* **2000**, *33*, 689-695.
- <sup>50</sup> Kowalski, A.; Duda, A.; Penczek, S. *Macromolecules* **2000**, *33*, 7359-7370.
- <sup>51</sup> Kowalski, A.; Libiszowski, J.; Biela, T.; Cypryk, M.; Duda, A.; Penczek, S. *Macromolecules* **2005**, *38*, 8170-8176.
- <sup>52</sup> Ouhadi, T.; Stevens, C.; Teyssié, P. *Makromol. Chem.* **1975**, *1*, 191-201.
- <sup>53</sup> Dubois, P.; Jacobs, C.; Jérôme, R.; Teyssié, P. *Macromolecules* **1991**, *24*, 2266-2270.
- <sup>54</sup> Jacobs, C.; Dubois, P.; Jérôme, R.; Teyssié, P. *Macromolecules* **1991**, *24*, 3027-3034.
- <sup>55</sup> Ropson, N.; Dubois, P.; Jérôme, R.; Teyssié, P. *Macromolecules* **1995**, *28*, 7589-7598.
- <sup>56</sup> Dubois, P.; Ropson, N.; Jérôme, R.; Teyssié, P. *Macromolecules* **1996**, *29*, 1965-1975.
- <sup>57</sup> Duda, A.; Penczek, S. *Macromolecules* **1995**, *28*, 5981-5992.
- <sup>58</sup> Duda, A. *Macromolecules* **1996**, *29*, 1399-1406.
- <sup>59</sup> Kowalski, A.; Duda, A.; Penczek, S. *Macromolecules* **1998**, *31*, 2114-2122.

- <sup>60</sup> Löfgren, A.; Albertsson, A.-C.; Dubois, P.; Jérôme, R.; Teyssié, P. *Macromolecules* **1994**, *27*, 5556-5562.
- <sup>61</sup> Löfgren, A.; Albertsson, A.-C. *Polymer* **1995**, *36*, 3753-3759.
- <sup>62</sup> Löfgren, A.; Renstad, R.; Albertsson, A.-C. *J. Polym. Sci. A* **1995**, *55*, 1589-1600.
- <sup>63</sup> McLain, S. J.; Drysdale, N. E.; E.I. Du Pont de Nemours and Company: Wilmington, Del, *US Patent*, 5,028,667, **1991**
- <sup>64</sup> McLain, S. J.; Ford, T. M.; Drysdale, N. E. *Polym. Prepr.* **1992**, *33*, 463-464.
- <sup>65</sup> Stevels, W. M.; Ankone, M. J. K.; Dijkstra, P. J.; Feijen, J. *Macromolecules* **1996**, *29*, 6132-6138.
- <sup>66</sup> Stevels, W. M.; Dijkstra, P. J.; Feijen, J. *Trends in Polymer Science* **1997**, *5*, 300-305.
- <sup>67</sup> Shen, Z.-Q.; Shen, Y.-Q.; Sun, J.-Q.; Zhang, F.-Y.; Zhang, Y.-F. *Chin. Sci. Bull.* **1994**, *39*, 1096.
- <sup>68</sup> Stevels, W. M.; Ankone, M. J. K.; Dijkstra, P. J.; Feijen, J. *Macromolecules* **1996**, *29*, 8296-8303.
- <sup>69</sup> Save, M.; Schappacher, M.; Soum, A. *Macromol. Chem. Phys.* **2002**, *203*, 889-899.
- <sup>70</sup> Shen, Y.; Shen, Z.; Shen, J.; Zhang, Y.; Yao, K. *Macromolecules* **1996**, *29*, 3441-3446.
- <sup>71</sup> Shen, Y.; Shen, Z.; Zhang, Y.; Yao, K. *Macromolecules* **1996**, *29*, 8289-8295.
- <sup>72</sup> Agarwal, S.; Mast, C.; Dehnicke, K.; Greiner, A. *Macromol. Rapid Comm.* **2000**, *21*, 195-212.
- <sup>73</sup> Save, M.; Soum, A. *Macromol. Chem. Phys.* **2002**, *203*, 2591-2603.
- <sup>74</sup> Hofman, A.; Penczek, S.; Slomkowski, S. *Makromol. Chem. Rapid Comm.* **1987**, *8*, 387-391.
- <sup>75</sup> Duda, A.; Penczek, S. *Macromol. Symp.* **1996**, *107*, 1-15.
- <sup>76</sup> Duda, A.; Penczek, S. *Polym. Prepr.* **1991**, *32*, 309.
- <sup>77</sup> Duda, A.; Kowalski, A.; Penczek, S. *Makromol. Chem. Rapid Comm.* **1998**, *19*, 567-572.
- <sup>78</sup> Simic, V.; Spassky, N.; Hubert-Pfalzgraf, L. G. *Macromolecules* **1997**, *30*, 7338-7340.
- <sup>79</sup> Palard, I. *Thèse de doctorat*, Université Bordeaux I: France, **2005**.
- <sup>80</sup> Chabot, F.; Vert, M.; Chapelle, S.; Granger, P. *Polymer* **1983**, *24*, 53-59.
- <sup>81</sup> Barakat, I.; Dubois, P.; Jérôme, R.; Teyssié, P. *Macromolecules* **1991**, *24*, 6542-6545.
- <sup>82</sup> Nijenhuis, A. J.; Grijpma, D. W.; Pennings, A. J. *Macromolecules* **1992**, *25*, 6419-6424.
- <sup>83</sup> Kricheldorf, H. R.; Damrau, D. O. *Macromol. Chem. Phys.* **1997**, *198*, 1753-1766.
- <sup>84</sup> Kricheldorf, H. R.; Damrau, D. O. *Macromol. Chem. Phys.* **1998**, *199*, 1089-1097.
- <sup>85</sup> Schwach, G.; Coudane, J.; Engel, R.; Vert, M. *Polymer International* **1998**, *46*, 177-182.
- <sup>86</sup> Kricheldorf, H. R.; Kreiser-Saunders, I.; Damrau, D. O. *Macromol. Symp.* **2000**, *159*, 247-257.
- <sup>87</sup> Schwach, G.; Coudane, J.; Engel, R.; Vert, M. *Polymer Bulletin* **1994**, *32*, 617-623.
- <sup>88</sup> Schwach, G.; Coudane, J.; Engel, R.; Vert, M. *Polymer Bulletin* **1996**, *37*, 771-776.
- <sup>89</sup> Vert, M.; Schwach, G.; Engel, R.; Coudane, J. *Journal of Controlled Release* **1998**, *53*, 85-92.
- <sup>90</sup> Schwach, G.; Coudane, J.; Engel, R.; Vert, M. *Biomaterials* **2002**, *23*, 993-1002.
- <sup>91</sup> Williams, C. K.; Breyfogle, L. E.; Choi, S. K.; Nam, W.; Young, V. G.; Hillmyer, M. A.; Tolman, W. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11350-11359.
- <sup>92</sup> Schreck, K. M.; Hillmyer, M. A. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7177-7185.
- <sup>93</sup> Jensen, T. R.; Schaller, C. P.; Hillmyer, M. A.; Tolman, W. B. *Journal of Organometallic Chemistry* **2005**, *690*, 5881-5891.
- <sup>94</sup> Kobayashi, S. *J. Polym. Sci. A* **1999**, *37*, 3041-3056.
- <sup>95</sup> Kobayashi, S.; Uyama, H. In *Biopolyesters*; Babel, W.; Steinbuchel, A., Eds.; Springer-Verlag: Heidelberg, **2001**; pp 241-262.
- <sup>96</sup> Uyama, H.; Kobayashi, S. *Chemistry Letters* **1993**, *22*, 1149-1150.
- <sup>97</sup> Knani, D.; Gutman, A. L.; Kohn, D. H. *J. Polym. Sci. A* **1993**, *31*, 1221-1232.
- <sup>98</sup> Uyama, H.; Suda, S.; Kikuchi, H.; Kobayashi, S. *Chemistry Letters* **1997**, 1109-1110.
- <sup>99</sup> Bisht, K. S.; Henderson, L. A.; Gross, R. A.; Kaplan, D.; Swift, G. *Macromolecules* **1997**, *30*, 2705-2711.
- <sup>100</sup> Bisht, K. S.; Svirkin, Y. Y.; Henderson, L. A.; Gross, R. A.; Kaplan, D.; Swift, G. *Macromolecules* **1997**, *30*, 7735-7742.
- <sup>101</sup> Gross, R. A.; Kumar, A.; Kalra, B. *Chemical Reviews* **2001**, *101*, 2097-2124.
- <sup>102</sup> Kobayashi, S.; Uyama, H.; Kimura, S. *Chemical Reviews* **2001**, *101*, 3793-3818.
- <sup>103</sup> Matsumura, S. *Advances in Polymer Science* **2006**, *194*, 95-132.
- <sup>104</sup> Uyama, H.; Kobayashi, S. *Advances in Polymer Science* **2006**, *194*, 133-158.
- <sup>105</sup> Andronova, N.; Albertsson, A.-C. *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 1489-1495.
- <sup>106</sup> Trimaille, T.; Möller, M.; Gurny, R. *J. Polym. Sci. A* **2004**, *42*, 4379-4391.
- <sup>107</sup> Trollsås, M.; Lee, V. Y.; Mercereyes, D.; Löwenhielm, P.; Möller, M.; Miller, R. D.; Hedrick, J. L. *Macromolecules* **2000**, *33*, 4619-4627.
- <sup>108</sup> Detrembleur, C.; Mazza, M.; Lou, X.; Halleux, O.; Lecomte, P.; Mecerreyes, D.; Hedrick, J. L.; Jérôme, R. *Macromolecules* **2000**, *33*, 7751-7760.
- <sup>109</sup> Riva, R.; Lenoir, S.; Jérôme, R.; Lecomte, P. *Polymer* **2005**, *46*, 8511-8518.
- <sup>110</sup> Données extraites des sites internet des différents fabricants et fournisseurs
- <sup>111</sup> Figures extraites des sites internet des différents fabricants et fournisseurs
- <sup>112</sup> Uhrich, K. E.; Cannizzaro, S. M.; Langer, R. S.; Shakesheff, K. M. *Chemical Reviews* **1999**, *99*, 3181-3198.

- <sup>113</sup> Carothers, W. H. *Chemical Reviews* **1931**, *8*, 353.
- <sup>114</sup> Bamford, C. H.; Elliot, A.; Hanby, W. E. *Synthetic Polypeptides*; Academic: New York, **1956**.
- <sup>115</sup> Kricheldorf, H. R.  *$\alpha$ -Aminoacid-N-Carboxy-Anhydrides and Related Heterocycles*; Springer-Verlag: Berlin, **1987**.
- <sup>116</sup> Kricheldorf, H. R. In *Models of Biopolymers by Ring-Opening Polymerization*; Penczek, S., Ed.; CRC Press: Boca Raton, **1990**; pp 1-132.
- <sup>117</sup> Mitchell, J. C.; Woodward, A. E.; Doty, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 3955-3960.
- <sup>118</sup> Dimitrov, I.; Schlaad, H. *Chem. Comm.* **2003**, *23*, 2944-2945.
- <sup>119</sup> Lutz, J.-F.; Schütt, D.; Kubowicz, S. *Macromol. Rapid Comm.* **2005**, *26*, 23-28.
- <sup>120</sup> Aliferis, T.; Iatrou, H.; Hadjichristidis, N. *Biomacromolecules* **2004**, *5*, 1653-1656.
- <sup>121</sup> Vayaboury, W.; Giani, O.; Cottet, H.; Deratani, A.; Schué, F. *Macromol. Rapid Comm.* **2004**, *25*, 1221-1224.
- <sup>122</sup> Tsuruta, T.; Matsuura, K.; Inoue, S. *Makromol. Chem.* **1965**, *86*, 289-291.
- <sup>123</sup> Makino, T.; Inoue, S.; Tsuruta, T. *Makromol. Chem.* **1971**, *151*, 137-162.
- <sup>124</sup> Freireich, S.; Gertner, D.; Zilkha, A. *European Polymer Journal* **1974**, *10*, 439-443.
- <sup>125</sup> Yamashita, S.; Tani, H. *Macromolecules* **1974**, *7*, 406-409.
- <sup>126</sup> Yamashita, S.; Waki, K.; Yamawaki, N.; Tani, H. *Macromolecules* **1974**, *7*, 410-415.
- <sup>127</sup> Deming, T. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2759-2760.
- <sup>128</sup> Deming, T. J. *Nature* **1997**, *390*, 386-389.
- <sup>129</sup> Deming, T. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4240-4241.
- <sup>130</sup> Deming, T. J. *Macromolecules* **1999**, *32*, 4500-4502.
- <sup>131</sup> Deming, T. J.; Curtin, S. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5710-5717.
- <sup>132</sup> Deming, T. J. *J. Polym. Sci. A* **2000**, *38*, 3011-3018.
- <sup>133</sup> Figures extraites d'un site internet dédié à l'enseignement  
<http://www.callisto.si.usherb.ca/~bcm514/BCM514.html>
- <sup>134</sup> Dhal, P. K.; Holmes-Farley, S. R.; Mandeville, W. H.; Neenan, T. X. In *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*; Wiley: New York, **2002**; pp 550-580.
- <sup>135</sup> Duncan, R. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2003**, *2*, 347-360.
- <sup>136</sup> Duncan, R. In *Handbook of Anticancer Drug Development*; Budman, D.; Calvert, H.; Rowinsky, E., Eds.; Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, **2003**; pp 239-260.
- <sup>137</sup> Duncan, R.; Ringsdorf, H.; Satchi-Fainaro, R. In *Advances in Polymer Science*; Satchi-Fainaro, R.; Duncan, R., Eds.; Springer-Verlag: Berlin, **2006**; Vol. 192, pp 1-8.
- <sup>138</sup> Dhal, P. K.; Holmes-Farley, S. R.; Huval, C. C.; Jozefiak, T. H. *Advances in Polymer Science* **2006**, *192*, 9-58.
- <sup>139</sup> Satchi-Fainaro, R.; Duncan, R.; Barnes, C. M. *Advances in Polymer Science* **2006**, *193*, 1-65.
- <sup>140</sup> Duncan, R. *Anticancer Drugs* **1992**, *3*, 175-.
- <sup>141</sup> Wagner, E.; Kloeckner, J. *Advances in Polymer Science* **2006**, *192*, 135-173.
- <sup>142</sup> Ohsaki, M.; Okuda, T.; Wada, A.; Hirayama, T.; Niidome, T.; Aoyagi, H. *Bioconjugate Chemistry* **2002**, *13*, 510-517.
- <sup>143</sup> Braud, C.; Bunel, C.; Vert, M. *Polymer Bulletin* **1985**, *13*, 293-299.
- <sup>144</sup> Ouchi, T.; Nozaki, T.; Okamoto, Y.; Shiratani, M.; Ohya, Y. *Macromol. Chem. Phys.* **1996**, *197*, 1823-1833.
- <sup>145</sup> Wang, D.; Feng, X.-D. *Macromolecules* **1997**, *30*, 5688-5692.
- <sup>146</sup> Deng, X.; Yao, J.; Yuan, M.; Li, X.; Xiong, C. *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, *201*, 2371-2376.
- <sup>147</sup> Ouchi, T.; Shiratani, M.; Jinno, M.; Hirao, M.; Ohya, Y. *Makromol. Chem. Rapid Comm.* **1993**, *14*, 825-831.
- <sup>148</sup> Zhang, G.-D.; Wang, D.; Feng, X.-D. *Macromolecules* **1998**, *31*, 6390-6392.
- <sup>149</sup> Helder, J.; Kohn, F. E.; Sato, S.; van den Berg, J. W.; Feijen, J. *Makromol. Chem. Rapid Comm.* **1985**, *6*, 9-14.
- <sup>150</sup> Feng, Y.; Klee, D.; Höcker, H. *Macromol. Chem. Phys.* **2002**, *203*, 819-824.
- <sup>151</sup> Barrera, D. A.; Zylstra, E.; Lansbury, P. T.; Langer, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 11010-11011.
- <sup>152</sup> Barrera, D. A.; Zylstra, E.; Lansbury, P. T.; Langer, R. *Macromolecules* **1995**, *28*, 425-432.
- <sup>153</sup> Cook, A. D.; Hrkach, J. S.; Gao, N. N.; Johnson, I. M.; Pajvani, U. B.; Cannizzaro, S. M.; Langer, R. J. *Biomed. Mater. Res.* **1997**, *35*, 513-523.
- <sup>154</sup> Hrkach, J. S.; Ou, J.; Lotan, N.; Langer, R. *Macromolecules* **1995**, *28*, 4736-4739.
- <sup>155</sup> Ouchi, T.; Nozaki, T.; Ishikawa, A.; Fujimoto, I.; Ohya, Y. *J. Polym. Sci. A* **1997**, *35*, 377-383.
- <sup>156</sup> John, G.; Tsuda, S.; Morita, M. *J. Polym. Sci. A* **1997**, *35*, 1901-1907.
- <sup>157</sup> Shirahama, H.; Tanaka, A.; Yasuda, H. *J. Polym. Sci. A* **2001**, *40*, 302-316.
- <sup>158</sup> In't Veld, P. J. A.; Wei-ping, Y.; Klap, R.; Dijkstra, P. J.; Feijen, J. *Makromol. Chem.* **1992**, *193*, 1927-1942.
- <sup>159</sup> Wang, D.; Feng, X.-D. *Macromolecules* **1998**, *31*, 3824-3831.
- <sup>160</sup> Feng, Y.; Klee, D.; Höcker, H. *e-Polymers* **2001**, *003*.
- <sup>161</sup> Guan, H.; Xie, Z.; Zhang, P.; Deng, C.; Chen, X.; Jing, X. *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 1954-1960.

- <sup>162</sup> Kim, H.; Sung, Y. K.; Jung, J.; Baik, H.; Min, T. J.; Kim, Y. S. *Journal of the Korean Chemical Society* **1990**, *34*, 203-210.
- <sup>163</sup> Yuan, M.; Wang, Y.; Li, X.; Xiong, C.; Deng, X. *Macromolecules* **2000**, *33*, 1613-1617.
- <sup>164</sup> Gotsche, M.; Keul, H.; Höcker, H. *Macromol. Chem. Phys.* **1995**, *196*, 3891-3903.
- <sup>165</sup> Fan, Y.; Chen, G.; Tanaka, J.; Tateishi, T. *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 3051-3056.
- <sup>166</sup> Deng, C.; Rong, G.; Tian, H.; Tang, Z.; Chen, X.; Jing, X. *Polymer* **2005**, *46*, 653-659.
- <sup>167</sup> Schappacher, M.; Soum, A.; Guillaume, S. M. *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 1373-1379.
- <sup>168</sup> Kricheldorf, H. R.; Hauser, K. *Macromolecules* **1998**, *31*, 614-620.
- <sup>169</sup> Degée, P.; Dubois, P.; Jérôme, R.; Teyssié, P. *Macromolecules* **1992**, *25*, 4242-4248.
- <sup>170</sup> Rong, G.; Deng, M.; Deng, C.; Tang, Z.; Piao, L.; Chen, X.; Jing, X. *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 1800-1804.
- <sup>171</sup> Ouchi, T.; Uchida, T.; Arimura, H.; Ohya, Y. *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 477-480.
- <sup>172</sup> Caillol, S.; Lecommandoux, S.; Mingotaud, A.-F.; Schappacher, M.; Soum, A.; Bryson, N.; Meyrueix, R. *Macromolecules* **2003**, *36*, 1118-1124.
- <sup>173</sup> Degée, P.; Dubois, P.; Jérôme, R.; Teyssié, P. *J. Polym. Sci. A* **1993**, *31*, 275-278.
- <sup>174</sup> Kricheldorf, H. R.; Hauser, K. *Biomacromolecules* **2001**, *2*, 1110-1115.
- <sup>175</sup> Bryson, N.; Caillol, S.; Mingotaud, A.-F.; Meyrueix, R.; Soula, G.; Soum, A.; Flamel Technologies S.A., FR, 2,838,964, **2002**
- <sup>176</sup> Arimura, H.; Ohya, Y.; Ouchi, T. *Macromol. Rapid Comm.* **2004**, *25*, 743-747.
- <sup>177</sup> Arimura, H.; Ohya, Y.; Ouchi, T. *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 720-725.
- <sup>178</sup> Deng, C.; Tian, H.; Zhang, P.; Sun, J.; Chen, X.; Jing, X. *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 590-596.



---

Partie 2 :

SYNTHESE D'ARCHITECTURES  
A BLOCS POLYESTER-*b*-  
POLY(ACIDE  $\alpha$ -AMINE)

---

I. Polymérisation de l' $\epsilon$ -CL et du TMC	71
I.1. Polymérisation de l' $\epsilon$ -CL	73
I.1.1. Conditions optimales de polymérisation	73
I.1.2. Caractérisation des polymères fonctionnels	76
I.2. Polymérisation du TMC	78
I.2.1. Conditions optimales de polymérisation	79
I.2.2. Caractérisation des polymères fonctionnels	80
II. Déprotection de la fonction amine primaire terminale de la PCL et du PTMC	81
II.1. Effet des conditions de réaction	84
II.2. Effet de la nature de l'espaceur et du groupe protecteur	86
II.3. Effet de la nature du polymère	88
III. Synthèse des copolymères diblocs polyester- <i>b</i> -poly(L-glutamate de $\gamma$ -benzyle)	91
III.1. Conditions de synthèse	91
III.2. Caractérisation des copolymères diblocs	96
IV. Synthèse des copolymères à blocs amphiphiles	97
Conclusion	100
Références bibliographiques	101

---

La volonté de préparer des systèmes amphiphiles de copolymères à blocs polyester-*b*-poly(acide  $\alpha$ -aminé), utilisables dans le domaine du vivant, nous a conduit à envisager la synthèse de macroamorceurs polyesters fonctionnalisés par une amine primaire, à partir de systèmes d'amorçage dérivés du zinc. Pour cela, nous avons choisi d'utiliser la stratégie de l'amorceur fonctionnel qui semblait présenter moins d'inconvénients que les méthodes de couplage ou de modification chimique. Dans une première étape, la polymérisation par ouverture de cycle des deux monomères hétérocycliques  $\epsilon$ -CL et TMC est amorcée par un alcoolate de zinc porteur d'une fonction amine primaire protégée qui, dans une seconde étape, est déprotégée pour obtenir un polyester  $\alpha$ -NH<sub>2</sub>. Celui-ci est ensuite utilisé comme macroamorceur pour la polymérisation du L-glutamate de  $\gamma$ -benzyle NCA (L-glu bzI NCA) et conduit au copolymère. L'hydrogénation du bloc polypeptidique permet dans une ultime étape d'accéder aux architectures à blocs amphiphiles.

L'étude des propriétés physico-chimiques générales et des propriétés d'auto-assemblage en masse et en solution de ces architectures à blocs polyester-*b*-poly(acide  $\alpha$ -aminé) était l'objectif principal de ce travail. C'est pourquoi, dans cette partie des travaux consacrée à la chimie, nous nous sommes principalement attachés à synthétiser

des précurseurs polyesters ainsi que des copolymères à blocs « propres » et bien définis du point de vue de leur structure, sans étudier de manière approfondie les aspects cinétiques et mécanistiques des polymérisations.

## I. POLYMERISATION DE L' $\epsilon$ -CL ET DU TMC

Etant données les applications médicales envisagées et les systèmes déjà présents sur le marché que nous avons présentés lors de la mise au point bibliographique, nous avons choisi d'utiliser la PCL pour cette étude. C'est un polymère semi-cristallin, biocompatible, dégradé par voies hydrolytique et enzymatique (conduisant à l'acide 6-hydroxy caproïque) et biorésorbable (produits de dégradation complètement métabolisés). Il est perméable aux espèces de faible masse molaire à la température du corps humain et sa la vitesse de dégradation est théoriquement plus lente que celle du PLG et de ses copolymères avec le PLA, ce qui en fait un polymère plus approprié pour la libération de principes actifs à long terme.

Par ailleurs, afin de mettre en évidence l'influence de la nature du bloc polyester sur l'organisation et le comportement des architectures obtenues avec les copolymères diblocs, il nous est également apparu important de remplacer, par la suite, la PCL par du PTMC qui est complètement amorphe.

L'amorceur choisi pour les raisons que nous avons indiquées précédemment est donc un alcoolate de zinc, préparé par réaction entre du diéthyl zinc ( $\text{ZnEt}_2$ ) et un alcool porteur d'une fonction amine primaire protégée ( $\text{HO-R}'\text{-NH-P}$ ) (Schéma 2-1).

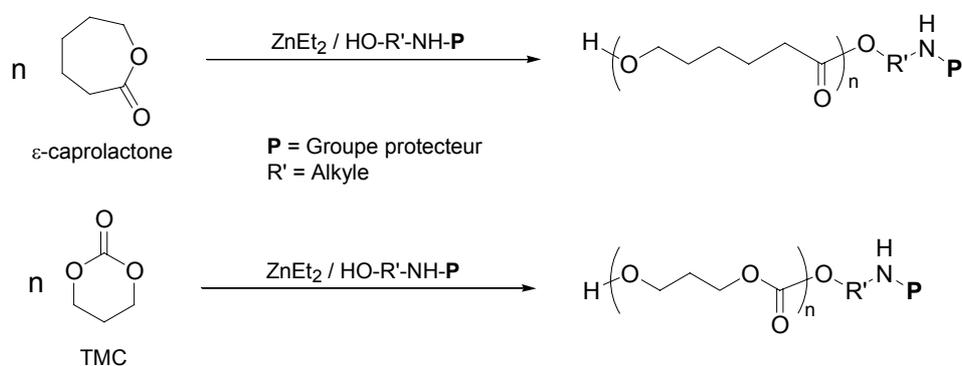


Schéma 2-1 : Schémas de synthèse de la polymérisation de l' $\epsilon$ -CL et du TMC amorcées par l'alcoolate de zinc  $\text{Zn}(\text{O-R}'\text{-NH-P})_2$

Dans un premier temps, une étude préliminaire sur les conditions de préparation de ce type d'amorceur nous a permis de montrer que l'utilisation d'un amorceur préparé dans les conditions précédemment publiées (i.e. mélange réactionnel laissé sous agitation à température ambiante pendant une heure, avant addition de la solution de monomère) donnaient exactement les mêmes résultats que l'utilisation d'un amorceur préparé *in situ* juste quelques minutes avant ajout du monomère. Par conséquent, dans la suite, nous avons toujours utilisé le même mode opératoire, à savoir la préparation *in situ* de l'amorceur alcoolate de zinc.

Dans un deuxième temps, aux vues des conclusions précédentes, nous nous sommes attachés à vérifier que l'un et l'autre des deux réactifs utilisés n'amorçait pas, seuls, la polymérisation des deux monomères dans les conditions de solvant, de température et de concentration de réaction envisagées.

Les caractéristiques et la solubilité de l' $\epsilon$ -CL et du TMC n'étant pas les mêmes que celles du L-lactide utilisé lors des études précédentes (et dont la polymérisation avait été effectuée dans le toluène, à 80°C, pendant 1h), nous avons entrepris de déterminer les meilleures conditions de polymérisation et notamment le meilleur solvant à utiliser.

Enfin, afin de déterminer l'effet de la nature du groupement R' du précurseur d'amine primaire ainsi que l'effet du groupe protecteur lui-même sur l'étape de déprotection, une fois la polymérisation effectuée, nous avons testé plusieurs alcools de départ (Schéma 2-2).

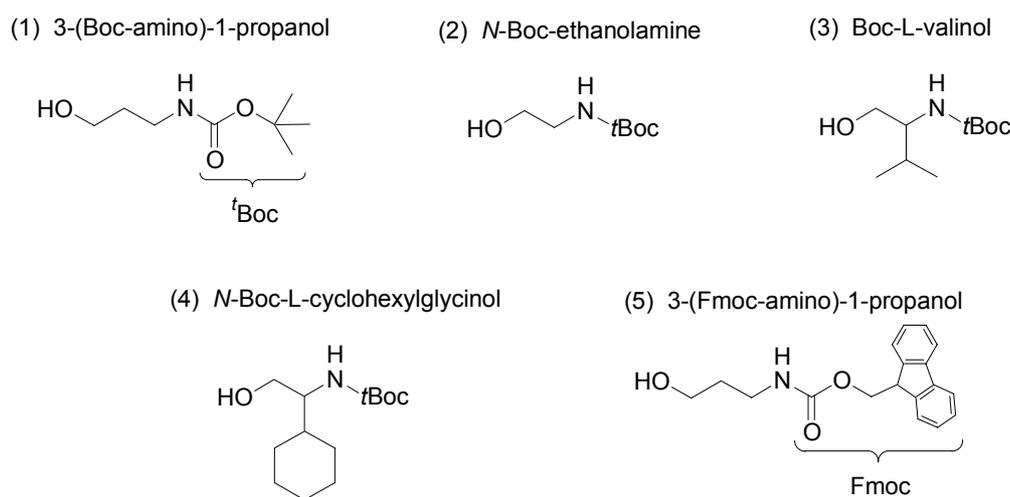


Schéma 2-2 : Structure des différents alcools fonctionnalisés par une amine primaire protégée, utilisés pour préparer le système d'amorçage  $Zn(OR)_2$

### Remarques préliminaires :

Toutes les polymérisations ont été effectuées sous atmosphère inerte (sensibilité du  $\text{ZnEt}_2$  à l'air) à la température moyenne de  $23^\circ\text{C}$ .

Pour chaque polymère, la conversion en monomère est déterminée par spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  du polymère brut avant précipitation en effectuant le rapport des intégrations des pics relatifs au monomère d'une part et au polymère d'autre part (voir partie expérimentale).

Les informations concernant les masses molaires et la distribution des masses molaires sont obtenues par chromatographie d'exclusion stérique (CES) des polymères précipités. La détermination des masses molaires expérimentales des échantillons de PCL et de PTMC nécessite l'introduction d'un facteur correctif étant donné que la CES utilisée est étalonnée avec des échantillons de polystyrène. Des travaux précédents effectués au laboratoire ont permis d'établir une valeur moyenne de 0,56 pour ce facteur correctif à appliquer dans le cas d'échantillons de PCL<sup>2-4</sup> et de 0,5 dans le cas d'échantillons de PTMC.<sup>5</sup>

Les masses molaires ont pu également être déterminées par RMN  $^1\text{H}$  à partir des signaux de bout de chaîne  $\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $\text{CH}_2\text{NHP}$  ou bien  $^1\text{Boc}$  ou  $\text{Fmoc}$ .

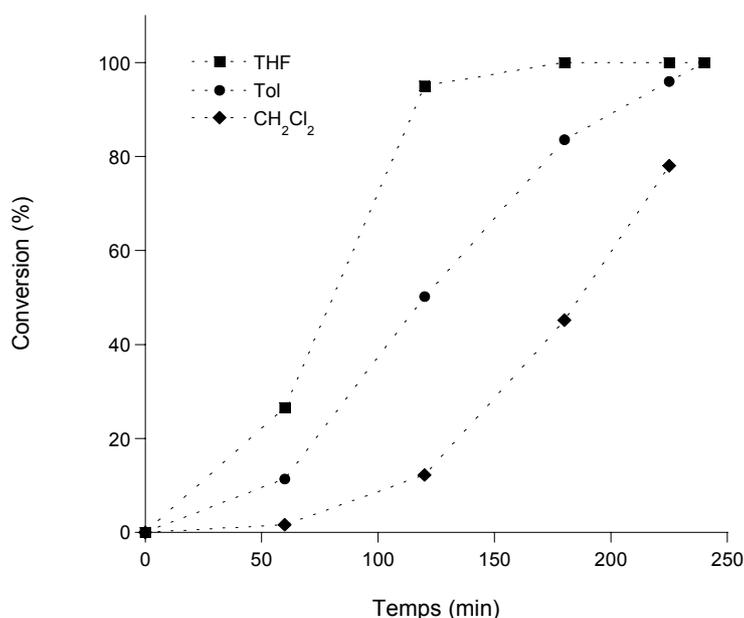
## **I.1. Polymérisation de l' $\epsilon$ -CL**

Nous avons débuté nos investigations par l'étude de la polymérisation de l' $\epsilon$ -CL amorcée par l'alcoolate de zinc préparé à partir du diéthylzinc et du 3-(Boc-amino)-1-propanol (1). Les conditions optimales de polymérisation de l' $\epsilon$ -CL qui ont ensuite été utilisées pour le reste de l'étude ont donc été déterminées avec ce système.

### **I.1.1. Conditions optimales de polymérisation**

L' $\epsilon$ -CL se présente sous la forme d'un liquide légèrement visqueux, soluble à température ambiante dans le toluène (Tol), le dichlorométhane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) et le tétrahydrofurane (THF).

Nous avons mené en parallèle plusieurs expériences ne différant que par la nature du solvant de polymérisation et comparé le taux de conversion en monomère (calculé à partir des spectres RMN  $^1\text{H}$  des polymères bruts) en fonction du temps de polymérisation. Les résultats obtenus sont représentés sur la Fig. 2-1.



**Fig. 2-1 : Polymérisation de l'ε-CL amorcée par le système ZnEt<sub>2</sub>/3-(Boc-amino)-1-propanol dans différents solvants : température 23°C, concentration en amorceur = 90 mmol.L<sup>-1</sup>, [M]<sub>0</sub>/[A]<sub>0</sub> = 20**

Comme on peut le constater, la polymérisation est plus rapide dans le cas du THF que dans le cas des deux autres solvants puisqu'on atteint une conversion de 95% au bout de 120 min contre 50% et 12% respectivement dans le cas du Tol et du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

Par ailleurs, dans le cas du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, on observe une divergence non négligeable entre les valeurs des masses molaires expérimentales et théoriques tandis que dans le cas du Tol et du THF l'accord est meilleur, en particulier dans le domaine des faibles masses (Tableau 2-1). En ce qui concerne la distribution des masses molaires, celle-ci est relativement étroite (< 1,15) quel que soit le solvant utilisé.

$[\epsilon\text{-CL}]_0 / [\text{Zn-O}]_0$	$[\text{Zn-O}]_0^a$ (mmol.L <sup>-1</sup> )	$[\epsilon\text{-CL}]_0$ (mmol.L <sup>-1</sup> )	Solvant	Temps de réaction (h)	Conv. <sup>b</sup> (%)	$\overline{M}_n$ (théo) <sup>c</sup> (g.mol <sup>-1</sup> )	$\overline{M}_n$ (exp) <sup>d</sup> (g.mol <sup>-1</sup> )	$\overline{M}_w / \overline{M}_n^e$
10	90	900	Tol	4	100	1 300	1 550	1,07
20	90	1 760	Tol	4	100	2 460	2 250	1,09
50	58	2 910	Tol	6	92	5 420	4 550	1,05
60	65	3 870	Tol	6	96	6 750	5 950	1,10
94	16	1 260	Tol	12	100	10 900	9 400	1,12
20	90	1 800	THF	3	100	2 460	2 250	1,08
50	49	2 450	THF	3	88	5 200	4 200	1,10
20	90	1 800	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	4	78	1 960	1 300	1,13
50	36	1 480	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	14	60	3 600	2 600	1,15
47	38	1 480	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-	98	5 430	3 400	1,12

<sup>a</sup>  $[\text{Zn-O}]_0 = [\text{Zn-CH}_2\text{CH}_3]_0$ . <sup>b</sup> Déterminée par RMN <sup>1</sup>H. <sup>c</sup>  $\overline{M}_n$  (théo) =  $[\epsilon\text{-CL}]_0 / [\text{Zn-O}]_0 \times M_{\epsilon\text{-CL}} \times \text{conversion} + M_{\text{ROH}}$ .

<sup>d</sup> Déterminée par CES avec un coefficient correcteur de 0,56. <sup>e</sup> Déterminé par CES.

$M_{\epsilon\text{-CL}}$  (masse molaire du motif unitaire) = 114 g.mol<sup>-1</sup>;  $M_{\text{ROH}}$  (masse molaire du précurseur d'amine (1)) = 175 g.mol<sup>-1</sup>.

**Tableau 2-1 : Polymérisation de l'ε-CL amorcée par ZnEt<sub>2</sub>/3-(Boc-amino)-1-propanol, à la température de 23°C et dans différents solvants**

Afin de pouvoir comparer nos résultats avec ceux de la littérature,<sup>1,6</sup> nous avons finalement choisi d'utiliser le toluène à température ambiante comme solvant de polymérisation.

Dans les conditions de polymérisation établies (solvant : toluène ; température : 23°C ; concentration en amorceur  $\sim 90 \text{ mmol.L}^{-1}$  au maximum ; temps de polymérisation = 4 heures) (Fig. 2-1), nous avons également vérifié que l'un et l'autre des deux réactifs utilisés pour préparer l'amorceur fonctionnel ( $\text{ZnEt}_2$  et  $\text{HO-R}'\text{-NH-P}$ ) n'amorçait pas seul la polymérisation de l' $\epsilon$ -CL. Tandis que les alcools  $\text{HO-R}'\text{-NH-P}$  (Schéma 2-2) n'amorcent pas du tout la polymérisation, le  $\text{ZnEt}_2$  utilisé seul peut le faire mais en des temps beaucoup trop longs, dans les conditions utilisées, pour que cela influence nos réactions. En effet, seulement quelques traces de polymère ( $< 1\%$ ) sont détectées au bout de 4 heures, pour une concentration en centres actifs équivalente à la concentration maximale utilisée lors des polymérisations. Quoiqu'il en soit, nous avons tout de même pris la précaution, dans la suite, de mettre un excès d'alcool dans le milieu réactionnel ( $\sim 1,2$  équivalents par fonction  $\text{Zn-CH}_2\text{CH}_3$ ) de façon à ce que tout le  $\text{ZnEt}_2$  réagisse. L'alcool résiduel étant soluble dans le solvant de précipitation du polymère, l'excès est facilement éliminé.

Une fois le mode opératoire établi et les différentes vérifications faites, nous avons entrepris la polymérisation de l' $\epsilon$ -caprolactone amorcée par les différents systèmes. Comme précisé précédemment, nous avons débuté nos investigations par l'utilisation du système d'amorçage  $\text{ZnEt}_2/3\text{-(Boc-amino)-1-propanol}$  et avons obtenu de très bons résultats (Tableau 2-1). Un ajustement du temps de réaction en fonction de la concentration en amorceur a permis, dans tous les cas, d'obtenir des taux de conversion en monomère proche de 100%, pour des rendements en polymère de l'ordre de 90-95% après précipitation. Les masses molaires expérimentales sont en bon accord avec les masses molaires théoriques et la distribution des masses molaires est inférieure à 1,12.

Néanmoins, des complications rencontrées lors de l'élimination du groupement protecteur 'Boc dans des conditions classiques de traitement acide (c.f. paragraphe II), nous ont amené à étudier des systèmes d'amorçage à base de différents alcools de départ, afin de déterminer l'effet de la nature du groupement  $\text{R}'$  ainsi que l'influence du groupe protecteur lui-même sur cette étape de déprotection. Les résultats obtenus pour la polymérisation de l' $\epsilon$ -CL amorcée par différents systèmes  $\text{ZnEt}_2/\text{ROH}$  sont regroupés dans le Tableau 2-2. Comme l'objectif était de n'étudier que l'effet de l'étape de déprotection sur chacun des

polymères synthétisés, nous avons uniquement préparé des échantillons de faibles masses molaires, de rapport  $[\varepsilon\text{-CL}]_0/[\text{Zn-O}]_0$  identique et égal à 20.

ROH	$[\text{Zn-O}]_0^a$ (mmol.L <sup>-1</sup> )	$[\varepsilon\text{-CL}]_0$ (mmol.L <sup>-1</sup> )	Temps de réaction (h)	Conversion <sup>b</sup> (%)	$\overline{M}_n$ (théo) <sup>c</sup> (g.mol <sup>-1</sup> )	$\overline{M}_n$ (exp) <sup>d</sup> (g.mol <sup>-1</sup> )	$\overline{M}_w / \overline{M}_n^e$
(1)	90	1 760	4	100	2 460	2 250	1,09
(2)	96	1 920	5	99	2 420	2 600	1,15
(3)	50	980	0,5	100	2 490	2 500	1,05
(4)	50	980	0,5	100	2 530	4 000	1,22
(5)*	79	1 580	4,5	100	2 580	2 450	1,17

<sup>a</sup>  $[\text{Zn-O}]_0 = [\text{Zn-CH}_2\text{CH}_3]_0$ . <sup>b</sup> Déterminée par RMN <sup>1</sup>H. <sup>c</sup>  $\overline{M}_n$  (théo) =  $[\varepsilon\text{-CL}]_0/[\text{Zn-O}]_0 \times M_{\varepsilon\text{-CL}} \times \text{conversion} + M_{(\text{ROH})}$ .  
<sup>d</sup> Déterminée par CES avec un coefficient correcteur de 0,56. <sup>e</sup> Déterminé par CES. \* Solvant de polymérisation : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.  
 $M_{\varepsilon\text{-CL}}$  (masse molaire du motif unitaire) = 114 g.mol<sup>-1</sup>.  $M_{\text{ROH}}$  (masse molaire du précurseur d'amine) :  $M_{(1)} = 175$  g.mol<sup>-1</sup> ;  
 $M_{(2)} = 161$  g.mol<sup>-1</sup> ;  $M_{(3)} = 203$  g.mol<sup>-1</sup> ;  $M_{(4)} = 243$  g.mol<sup>-1</sup> ;  $M_{(5)} = 297$  g.mol<sup>-1</sup>.

**Tableau 2-2 : Polymérisation de l' $\varepsilon$ -CL amorcée par ZnEt<sub>2</sub>/ROH, à la température de 23°C dans le toluène avec un rapport  $[\varepsilon\text{-CL}]_0/[\text{Zn-O}]_0 = 20$**

Dans le cas du 3-(Fmoc-amino)-1-propanol (5) qui est insoluble dans le toluène, le solvant de polymérisation est différent. Après plusieurs essais avec du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, du THF et des mélanges des deux, nous avons finalement obtenu les meilleurs résultats avec le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> puisque, dans ce cas, l'accord entre les valeurs des masses molaires théoriques et expérimentales est meilleur pour des faibles masses molaires.

### I.1.2. Caractérisation des polymères fonctionnels

L'analyse par spectroscopie RMN <sup>1</sup>H des différents échantillons de polymère obtenus à partir des cinq différents systèmes d'amorçage a permis, d'une part, de confirmer la structure régulière attendue pour une ouverture de la liaison acyle-oxygène du monomère  $\varepsilon$ -CL et, d'autre part, de déterminer la fonctionnalité de chacun d'eux grâce à l'analyse des extrémités de chaîne. A titre d'exemple, nous présentons dans les Fig. 2-2 & Fig. 2-4 les spectres RMN <sup>1</sup>H d'échantillons de PCL-NH-<sup>t</sup>Boc et PCL-NH-Fmoc de masses molaires  $\overline{M}_n = 2 250$  et  $2 450$  g.mol<sup>-1</sup> respectivement.

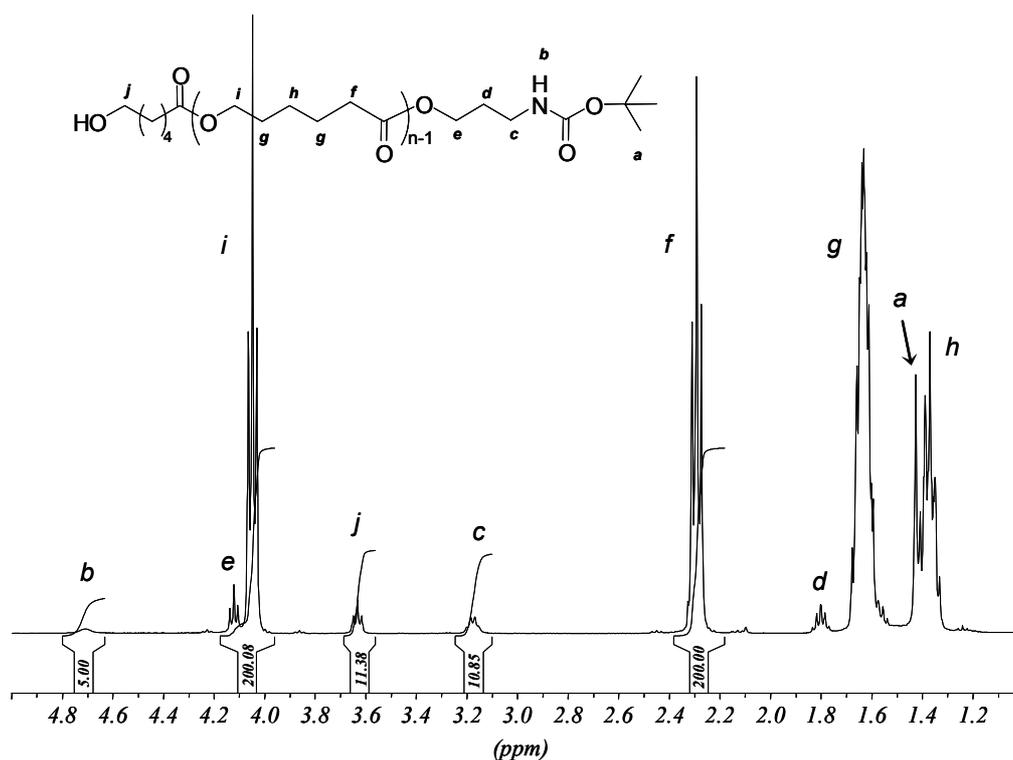


Fig. 2-2 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) dans le  $\text{CDCl}_3$  d'un échantillon de PCL ( $\overline{M}_n = 2\,250\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ;  $\overline{M}_w / \overline{M}_n = 1,09$ ) préparé à partir du système d'amorçage  $\text{ZnEt}_2/3\text{-}(\text{Boc-amino})\text{-1-propanol}$

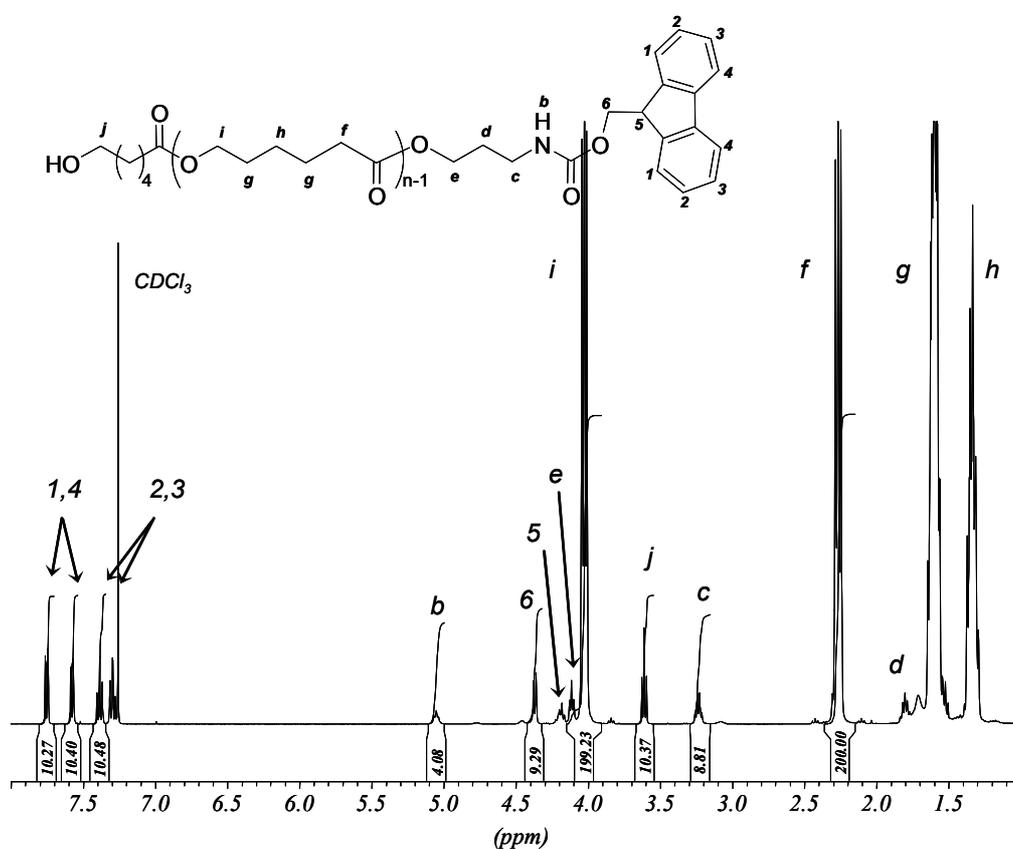


Fig. 2-3 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) dans le  $\text{CDCl}_3$  d'un échantillon de PCL ( $\overline{M}_n = 2\,450\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ;  $\overline{M}_w / \overline{M}_n = 1,17$ ) préparé à partir du système d'amorçage  $\text{ZnEt}_2/3\text{-}(\text{Fmoc-amino})\text{-1-propanol}$

On peut constater, à la précision de l'analyse près, que les réactions de transestérification sont négligeables, pendant la durée de polymérisation, puisque même pour des masses molaires plus élevées (Fig. 2-4), la fonctionnalisation est proche de 100% (rapport des intensités des signaux relatifs aux fonctions terminales  $CH_2-OH$  (j) et  $CH_2-NH^tBoc$  (c) ou Fmoc (1,2,3,4)). On remarque également que l'intensité du signal relatif au proton du  $NH^tBoc$  (b) ne correspond pas toujours à la moitié de l'intensité du pic correspondant aux deux protons du groupe méthylène (c) en  $\alpha$  du  $NH^tBoc$ , ce qui pourrait être dû à un effet important de l'azote (moment quadrupolaire).

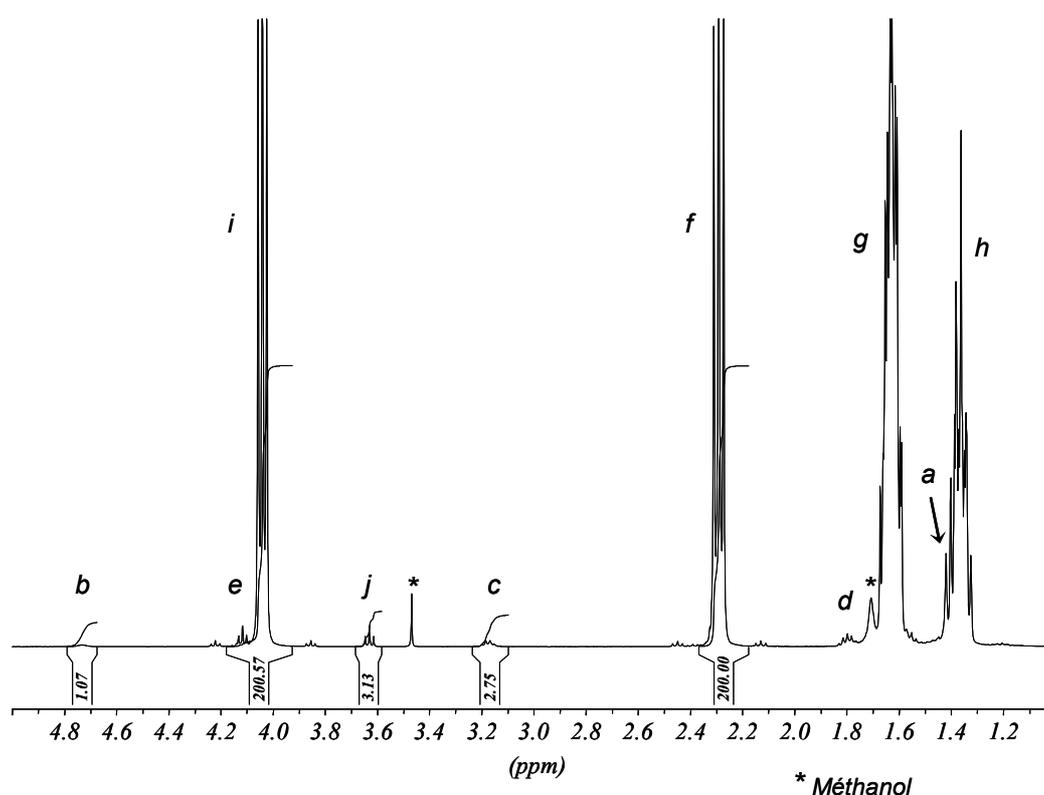


Fig. 2-4 : Spectre RMN  $^1H$  (400 MHz) dans le  $CDCl_3$  d'un échantillon de PCL ( $\overline{M}_n = 7\,500\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ;  $\overline{M}_w / \overline{M}_n = 1,14$ ) préparé à partir du système d'amorçage  $ZnEt_2/3-(Boc-amino)-1-propanol$

Tous les échantillons ainsi préparés ont subi l'étape d'élimination du groupement protecteur, développée dans le paragraphe II.

## I.2. Polymérisation du TMC

Comme dans le cas de l' $\epsilon$ -CL, nous avons tout d'abord débuté nos investigations concernant la polymérisation du TMC avec le système d'amorçage  $ZnEt_2/3-(Boc-amino)-1-$

propanol. Les conditions optimales de polymérisation du TMC qui ont ensuite été utilisées pour le reste de l'étude, ont également été déterminées avec ce système.

### I.2.1. Conditions optimales de polymérisation

Le TMC se présente sous forme d'un solide, soluble dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  et le THF à température ambiante mais plus difficilement soluble dans le toluène. Nous avons effectué des polymérisations dans chacun des trois solvants.

La polymérisation est plus rapide dans le cas du TMC que dans celui de l' $\epsilon$ -CL dans chacun des trois solvants et, comme dans le cas de l' $\epsilon$ -CL, on observe une divergence assez importante entre les valeurs des masses molaires expérimentales et théoriques dans le cas du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  et ceci, dès les faibles masses molaires (Tableau 2-3). Les meilleurs résultats ont été obtenus, comme dans le cas de l' $\epsilon$ -CL, avec le Tol bien que la distribution des masses molaires soit plus élevée qu'avec les deux autres solvants, ce que l'on peut attribuer soit à une solubilité partielle du monomère dans ce solvant, soit à un taux de réactions de transestérification plus élevé, dans ces conditions (Tableau 2-3). Nous avons finalement choisi d'utiliser le THF comme solvant de polymérisation.

$\frac{[\text{TMC}]_0}{[\text{Zn-O}]_0}$	$[\text{Zn-O}]_0^a$ (mmol.L <sup>-1</sup> )	$[\text{TMC}]_0$ (mmol.L <sup>-1</sup> )	Solvant	Temps de réaction (h)	Conv. <sup>b</sup> (%)	$\overline{M}_n$ (théo) <sup>c</sup> (g.mol <sup>-1</sup> )	$\overline{M}_n$ (exp) <sup>d</sup> (g.mol <sup>-1</sup> )	$\frac{\overline{M}_w}{\overline{M}_n}$ <sup>e</sup>
20	49	980	Tol	4	100	2 200	2 100	1.37
40	29	1 180	Tol	4	100	4 250	4 150	1.44
60	22	1 350	Tol	5	100	6 300	5 500	1.57
20	90	1 790	THF	3	99	2 200	1 900	1.18
50	48	2 370	THF	4	99	5 250	4 050	1.21
20	49	980	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	4	100	2 200	1 700	1.16
40	31	1 270	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	4	100	4 250	3 050	1.13

<sup>a</sup>  $[\text{Zn-O}]_0 = [\text{Zn-CH}_2\text{CH}_3]_0$ . <sup>b</sup> Déterminée par RMN <sup>1</sup>H. <sup>c</sup>  $\overline{M}_n$  (théo) =  $[\text{TMC}]_0/[\text{Zn-O}]_0 \times M_{\text{TMC}} \times \text{conversion} + M_{\text{ROH}}$ .

<sup>d</sup> Déterminée par CES avec un coefficient correcteur de 0,5. <sup>e</sup> Déterminé par CES.

$M_{\text{TMC}}$  (masse molaire du motif unitaire) = 102 g.mol<sup>-1</sup>;  $M_{\text{ROH}}$  (masse molaire du précurseur d'amine (1)) = 175 g.mol<sup>-1</sup>.

**Tableau 2-3 : Polymérisation du TMC amorcée par  $\text{ZnEt}_2/3$ -(Boc-amino)-1-propanol, à la température de 23°C et dans différents solvants**

Comme précédemment, dans les conditions de polymérisation établies (solvant : THF ; température : 23°C ; concentration en amorceur  $\sim 90$  mmol.L<sup>-1</sup> au maximum ; temps de polymérisation = 3 heures), nous avons vérifié que l'un et l'autre des deux réactifs  $\text{ZnEt}_2$  et 3-(Boc-amino)-1-propanol n'amorçait pas seul la polymérisation du TMC. Tandis que l'alcool 3-(Boc-amino)-1-propanol n'amorce pas du tout la polymérisation, le  $\text{ZnEt}_2$  utilisé seul peut amorcer la polymérisation, mais aucune trace de polymère n'est détectée au bout de 3 heures,

pour une concentration en centres actifs équivalente à la concentration maximale utilisée lors des polymérisations. Le même mode opératoire a été utilisé que dans le cas de la polymérisation de l' $\epsilon$ -CL, à savoir la mise en excès de l'alcool (1) dans le milieu réactionnel ( $\sim 1,2$  équivalents par fonction Zn-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

Dans la suite, tous les précurseurs à base de poly(TMC) ont été préparés selon la méthode décrite ci-dessus et les résultats de ces synthèses sont en accord avec ceux obtenus dans le THF et présentés dans le Tableau 2-3.

### I.2.2. Caractérisation des polymères fonctionnels

Un exemple d'analyse par RMN <sup>1</sup>H d'un échantillon de PTMC-NH-'Boc de masse molaire  $\bar{M}_n = 1\,900\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , préparé à partir du système d'amorçage ZnEt<sub>2</sub>/3-(Boc-amino)-1-propanol est présenté sur la Fig. 2-5 et confirme la structure attendue pour la chaîne principale et les extrémités.

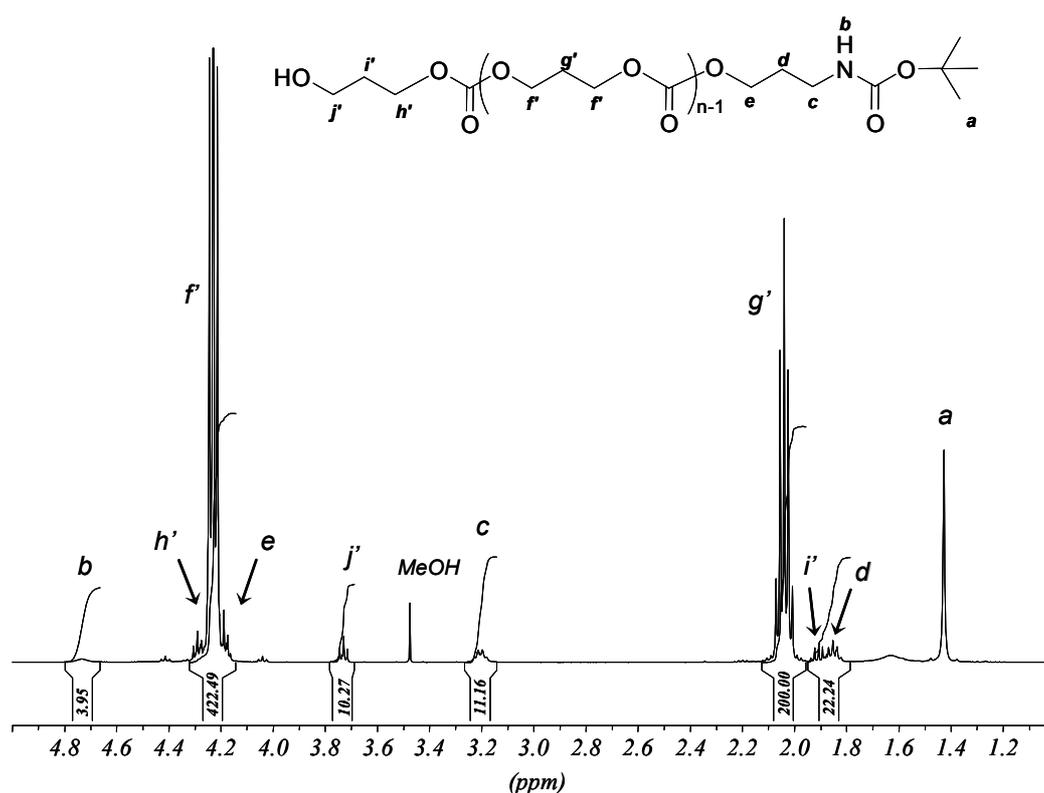


Fig. 2-5 : Spectre RMN <sup>1</sup>H (400 MHz) dans le CDCl<sub>3</sub> d'un échantillon de PTMC ( $\bar{M}_n = 1\,900\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ;  $\bar{M}_w / \bar{M}_n = 1,18$ ) préparé à partir du système d'amorçage ZnEt<sub>2</sub>/3-(Boc-amino)-1-propanol

**Conclusions / commentaires :**

La polymérisation de l' $\epsilon$ -CL et du TMC amorcée par le système ZnEt<sub>2</sub>/HO-R'-NHP nous a permis, après avoir déterminé les conditions de polymérisation optimales pour chacun des monomères, d'obtenir des polymères fonctionnels avec un bon contrôle des masses molaires et une distribution des valeurs des masses molaires relativement étroite. La fonctionnalisation, toujours proche de 100%, a été confirmée par spectroscopie RMN <sup>1</sup>H. Les polymères ainsi préparés ont ensuite subi l'étape de déprotection des fonctions amine primaire avant d'être utilisés comme macroamorceurs pour la polymérisation du deuxième bloc.

## II. DEPROTECTION DE LA FONCTION AMINE PRIMAIRE TERMINALE DE LA PCL ET DU PTMC

Lors de nos premières investigations de la réaction de déprotection de la fonction amine primaire terminale, nous avons réalisé l'élimination du groupement protecteur 'Boc dans des conditions classiques de traitement en milieu acide, par de l'acide trifluoroacétique (TFA), selon un mode opératoire publié,<sup>1</sup> c'est-à-dire dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, à la température moyenne de 23°C, pendant 30 minutes, en présence d'un large excès de TFA.

D'un point de vue théorique, il peut exister trois possibilités différentes lors de ce type de réaction de déprotection (Schéma 2-3). En effet, en dehors de l'obtention du polymère fonctionnalisé NH<sub>2</sub> attendu, on peut également trouver dans le milieu du polymère fonctionnalisé NH-P résiduel et un polymère fonctionnalisé X qui peut se former suite à des réactions secondaires. En outre, pour des temps beaucoup plus longs, le TFA peut induire des réactions de coupure de chaîne par hydrolyse.

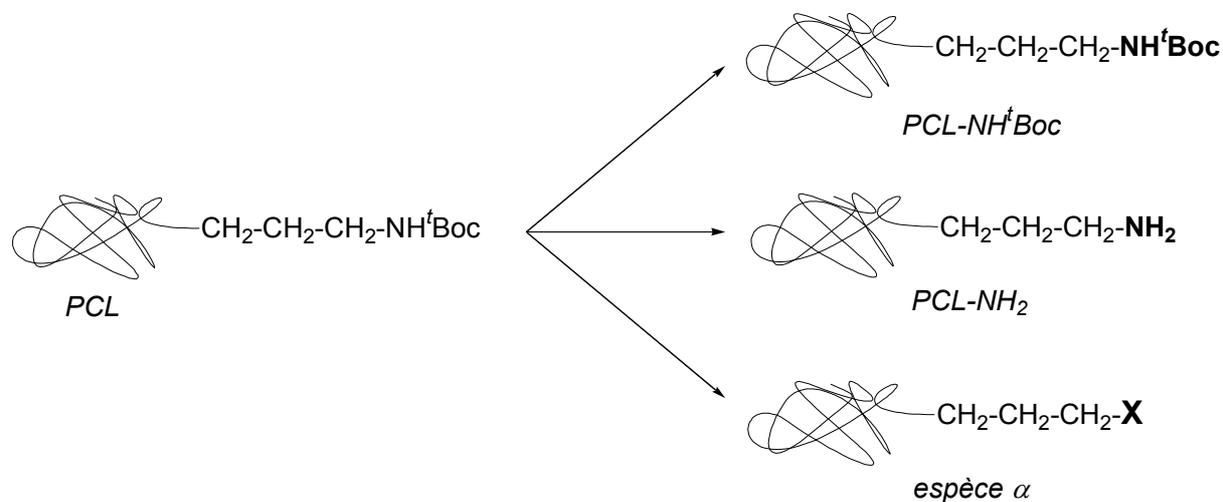


Schéma 2-3 : Différentes espèces pouvant être obtenues après la réaction de déprotection

Les premiers résultats ont montré, d'une part l'obtention du polymère attendu fonctionnalisé par une amine primaire mais, d'autre part, la formation d'une autre espèce (notée espèce  $\alpha$ ) qui ne diffère à priori de la PCL-NH<sub>2</sub> que par la nature du bout de chaîne déprotégé. En effet, les analyses CES et RMN <sup>1</sup>H effectuées sur les échantillons de polymère après déprotection montrent en premier lieu qu'il n'y a pas d'évolution notable des masses molaires ni de la distribution des masses molaires lors de la déprotection et, en second lieu, que seuls les signaux de la séquence du bout de chaîne CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> se dédoublent laissant supposer la présence d'un enchaînement -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- lié à un bout de chaîne différent de NH<sub>2</sub> (Fig. 2-6). En outre, l'intensité des signaux relatifs au groupe CH<sub>2</sub>OH (j) est toujours égale à la somme des intensités des différents signaux des extrémités CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> (c'), CH<sub>2</sub>NHP (c) et CH<sub>2</sub>X (c <sup>$\alpha$</sup> ), ce qui confirme l'absence de coupure des chaînes polymère en milieu acide, dans les conditions expérimentales utilisées.

La déprotection des échantillons de PTMC-NH<sup>t</sup>Boc a conduit aux mêmes observations.

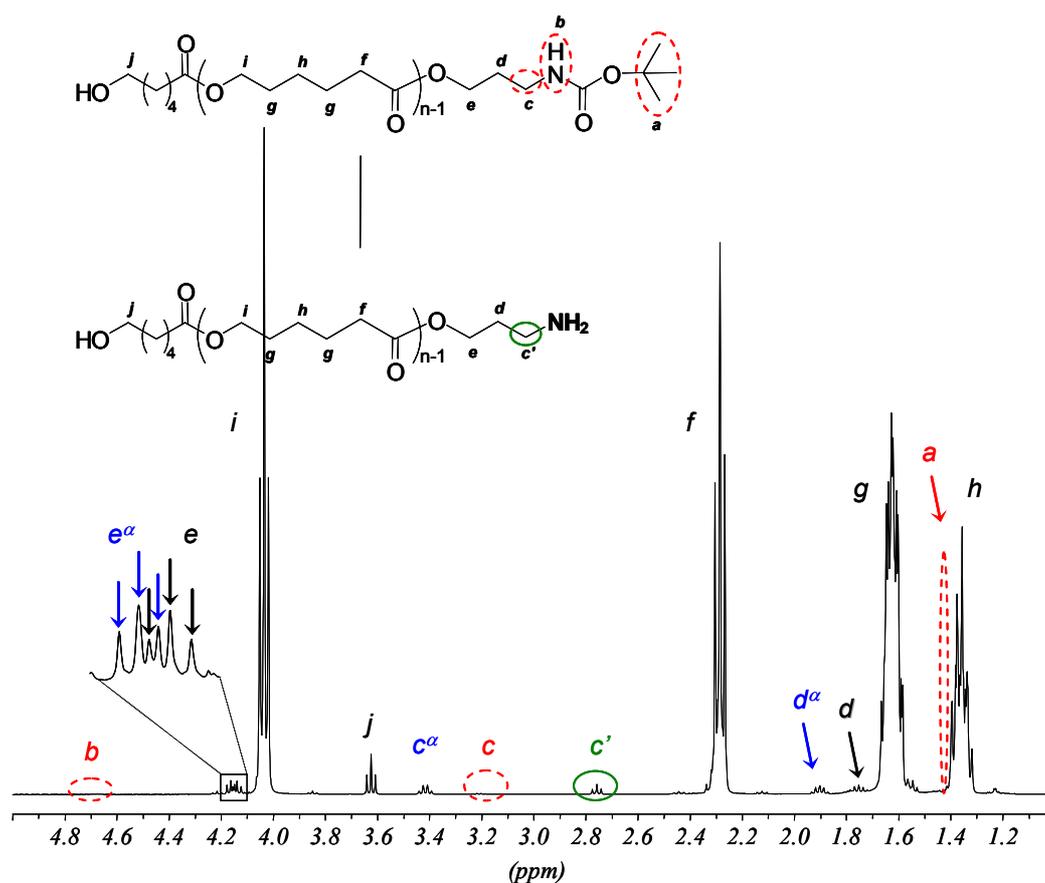


Fig. 2-6 : Spectre RMN <sup>1</sup>H (400 MHz) dans le CDCl<sub>3</sub> d'un échantillon de PCL ( $\bar{M}_n = 2\,800\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) après traitement par du TFA (Exp 2)

Nous avons montré que cette espèce  $\alpha$  n'amorce pas la polymérisation par ouverture de cycle du L-glutamate de  $\gamma$ -benzyle NCA (voir pages 91-92), ce qui nous a aidé à confirmer les attributions des différents signaux observés aux espèces terminées 'Boc (lorsqu'il en reste),  $\text{NH}_2$  et à l'espèce  $\alpha$ . Par ailleurs, des analyses en spectroscopie MALDI-TOF nous ont permis de confirmer la présence de chaînes polymères fonctionnalisées OH à une extrémité et  $\text{NH}_2$  à l'autre extrémité, tout en laissant apparaître une deuxième enveloppe correspondant à un polymère présentant des extrémités de chaîne différentes (Fig. 2-7) et une valeur de la masse molaire inférieure de  $18 \text{ g.mol}^{-1}$  à l'espèce terminée  $\text{NH}_2$ . Ce second polymère pourrait correspondre à l'espèce  $\alpha$  observée par RMN  $^1\text{H}$ , mais nous ne pouvons l'affirmer avec certitude car l'effet de la matrice utilisée lors des analyses MALDI-TOF sur nos polymères n'est pas connu.

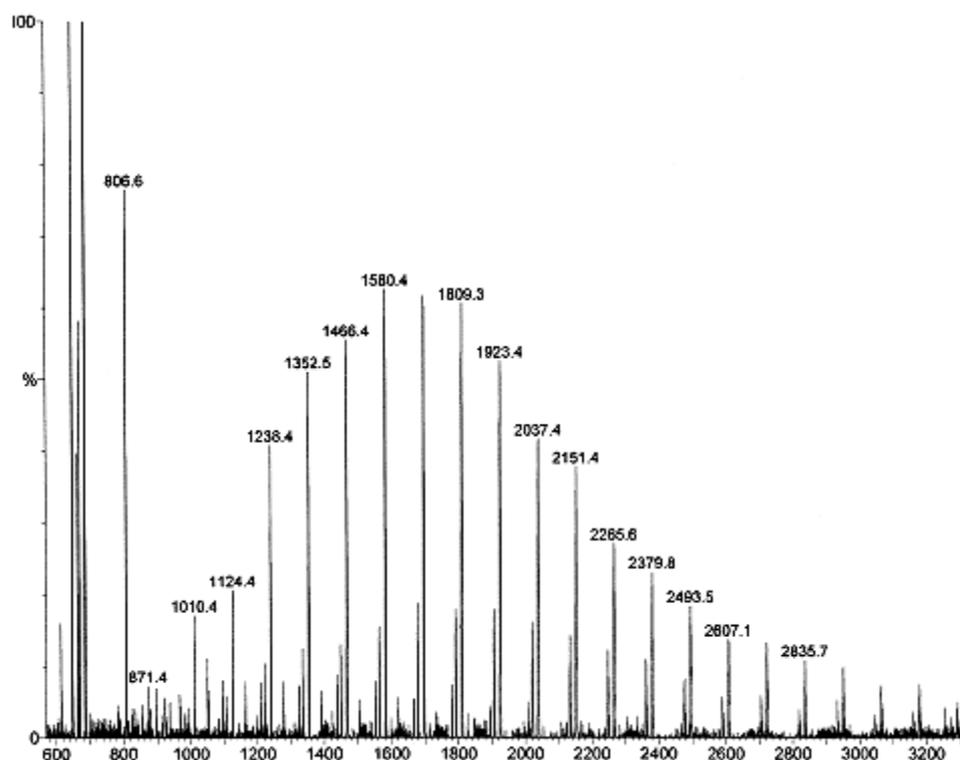


Fig. 2-7 : Spectre MALDI-TOF d'un échantillon de PCL déprotégée ( $\overline{M}_n = 1\ 650 \text{ g.mol}^{-1}$  ;  $\overline{M}_w / \overline{M}_n = 1,18$ )

Afin d'élucider ce problème nous avons, dans un premier temps, effectué une étude plus approfondie des conditions de la réaction de déprotection (temps, température, solvant, quantité de TFA) de la fonction amine primaire terminale des échantillons de PCL. Dans un second temps, nous avons étudié l'effet de la nature et de la structure de l'espaceur du précurseur d'amine primaire ainsi que l'effet de la nature du groupement protecteur. Enfin,

nous avons étudié l'effet de la nature du polymère sur cette réaction de déprotection avec l'utilisation d'un PLA fonctionnalisé.

## **II.1. Effet des conditions de réaction**

Nous avons effectué l'étape de déprotection sur le même échantillon de PCL-NH<sup>t</sup>Boc dans diverses conditions en faisant varier, en particulier, la température, la quantité de TFA utilisée et le temps de réaction. Les résultats les plus marquants sont rassemblés dans le Tableau 2-4. Ils montrent que :

- la température de réaction a un effet très marquant sur les résultats de la déprotection. En effet, pour des réactions effectuées exactement dans les mêmes conditions de temps, de quantité de TFA et de dilution (Exp. 2-4-7), on observe qu'aux températures de 23°C et 0°C, la quasi-totalité des fonctions <sup>t</sup>Boc ont été éliminées pour donner, dans le premier cas, une majorité de fonctions  $\alpha$  et, dans l'autre, une majorité de fonctions NH<sub>2</sub>. Par contre, à la température de -15°C, l'élimination des fonctions <sup>t</sup>Boc est beaucoup plus lente puisque au bout de 45min, il reste encore 42% de fonctions contre 6% dans les deux autres expériences.
- au cours du temps, et une fois les groupements <sup>t</sup>Boc quasi-totalement éliminés, la proportion d'espèce terminée NH<sub>2</sub> présente dans le milieu diminue au profit de l'espèce inconnue (Exp. 4-5 et 8-9).
- l'augmentation de la masse molaire du polymère n'a pas d'effet notable sur les résultats de la réaction de déprotection (Exp. 5-6).
- la dilution du milieu donne lieu, comme attendu, à un ralentissement marqué de la réaction de déprotection (Exp. 8-11, 21% de fonction <sup>t</sup>Boc encore présente au bout de 90 min contre 74% en milieu plus dilué), tout comme la diminution de la quantité de TFA (Exp. 8-10). A l'inverse, l'augmentation de la quantité de TFA (Exp. 8-12) permet certes d'accélérer la réaction (21% de fonctions <sup>t</sup>Boc encore présentes au bout de 90 min contre 7% en milieu plus concentré) mais elle entraîne l'accroissement de la proportion d'espèce inconnue présente dans le milieu réactionnel final, au détriment de l'espèce fonctionnalisée NH<sub>2</sub>.

Les mêmes expériences conduites avec le PTMC fonctionnalisé par le groupe précurseur d'amine donnent des résultats comparables.

Exp.	Température	Temps de réaction (min)	TFA (mL / 1g PCL)	<sup>t</sup> Boc <sup>a</sup> (%)	NH <sub>2</sub> <sup>a</sup> (%)	$\alpha^a$ (%)
1	23°C	30	2	12	46	42
2	23°C	45	2	6	36	58
3	0°C	30	2	36	43	21
4	0°C	45	2	6	68	26
5	0°C	60	2	9	58	33
6*	0°C	60	2	8	64	28
7	-15°C	45	2	42	46	12
8	-15°C	90	2	21	61	18
9	-15°C	120	2	19	48	33
10	-15°C	90	1	53	34	13
11 <sup>§</sup>	-15°C	90	2	74	15	11
12	-15°C	90	3	7	41	52

<sup>a</sup> Déterminée par RMN <sup>1</sup>H. \* PCL 10 000 g.mol<sup>-1</sup>. <sup>§</sup> 20mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / 1g PCL.

**Tableau 2-4 : Conditions d'élimination des groupements <sup>t</sup>Boc dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL / 1 g PCL (3 000 g.mol<sup>-1</sup>))**

Afin de compléter cette étude sur les conditions de déprotection des échantillons de PCL-NH<sup>t</sup>Boc, nous avons procédé à plusieurs essais dans différents solvants de réaction et nous avons utilisé une autre méthode de déprotection du groupe <sup>t</sup>Boc. Cette méthode repose sur le traitement successif du polymère dans le chloroforme par des solutions d'acide formique (HCOOH) et de triéthylamine (TEA).<sup>7</sup> Dans le premier cas, lorsque la déprotection a lieu (c'est-à-dire uniquement dans le toluène), on observe les mêmes résultats que dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (Tableau 2-5). Dans le second cas, les résultats n'ont pas été concluants puisqu'on observe la disparition des fonctions CH<sub>2</sub>-OH, certainement dans une réaction d'amidification.

Exp.	Solvant	Température	Temps de réaction (min)	TFA (mL / 1 g PCL)	<sup>t</sup> Boc <sup>a</sup> (%)	NH <sub>2</sub> <sup>a</sup> (%)	$\alpha^a$ (%)
2	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	TA	30	2	12	46	42
4	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0°C	45	2	6	68	26
8	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-15°C	90	2	21	61	18
12	Toluène	0°C	45	2	7	66	27
13	Toluène	-15°C	90	2	38	45	17
14	THF	TA	30	2	100	0	0
15	THF	TA	60	2	100	0	0
16	DMF	TA	30	2	100	0	0
17	DMF	TA	60	2	100	0	0

<sup>a</sup> Déterminée par RMN <sup>1</sup>H.

**Tableau 2-5 : Elimination des groupements <sup>t</sup>Boc dans différents solvants (10mL / 1g PCL (3000 g.mol<sup>-1</sup>))**

Etant donné les résultats observés lors de cette première étude des conditions de la réaction de déprotection, nous pouvons formuler plusieurs hypothèses quant à la nature de l'espèce  $\alpha$  obtenue. La première possibilité est l'existence d'un équilibre entre des chaînes

polymères terminées  $\text{NH}_2$  et  $\text{NH}_3^+$ , ce qui est tout de même peu probable puisqu'un traitement des polymères par une solution aqueuse de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  puis une solution aqueuse jusqu'à neutralité est effectuée après la réaction de déprotection.

Il est également possible que la fonction amine primaire libérée par le TFA réagisse en milieu acide avec une fonction de la même chaîne polymère, donnant ainsi lieu à une cyclisation ou peut-être un réarrangement ; une réaction intermoléculaire n'est pas envisageable puisque ni les analyses en CES ni les analyses en MALDI-TOF ne démontrent la présence d'un couplage des chaînes.

## II.2. Effet de la nature de l'espaceur et du groupe protecteur

Afin d'étudier l'effet de la nature de l'espaceur du précurseur d'amine primaire sur la réaction de déprotection, nous avons envisagé l'utilisation de systèmes d'amorçage où l'alcool de départ possède un groupement  $\text{R}'$  plus encombré ou de longueur différente. Cette étude a été menée uniquement dans le cas de la PCL, choisie comme modèle, et les caractéristiques des polymères fonctionnalisés obtenus pour chaque polymérisation (Schéma 2-4) ont été présentées précédemment dans le Tableau 2-2.

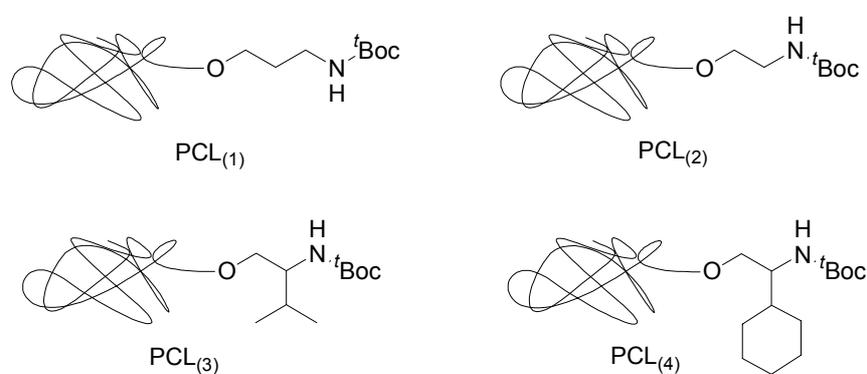


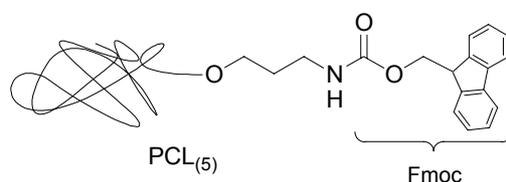
Schéma 2-4 : Structure des PCL fonctionnalisées par une amine primaire protégée, utilisées pour l'étude de l'effet de la nature du groupement  $\text{R}'$  sur l'étape de déprotection

Dans le cas de la PCL préparée par amorçage avec le système  $\text{ZnEt}_2/\text{N}$ -Boc-ethanolamine ( $\text{PCL}_{(2)}$ ) qui permet un espace plus court entre la chaîne polymère et le groupe amine, le traitement par du TFA dans les conditions « optimales » déterminées plus haut (c'est-à-dire à  $0^\circ\text{C}$  pendant 45 min) a abouti aux mêmes résultats que dans le cas de la  $\text{PCL}_{(1)}$ . En effet, dans ce cas, le spectre RMN  $^1\text{H}$  final contient les signaux du polymère attendu fonctionnalisé par une amine primaire mais également les signaux attribués à l'espèce  $\alpha$ .

En outre, la réaction est globalement plus lente puisqu'en 45 min on obtient les différentes chaînes fonctionnalisées 'Boc, NH<sub>2</sub> et  $\alpha$ , dans les mêmes proportions qu'en 30 min lors de la déprotection d'une PCL<sub>(1)</sub> (respectivement 33, 41 et 26%).

Dans le cas des échantillons de PCL préparés par amorçage avec les systèmes ZnEt<sub>2</sub>/Boc-L-valinol (PCL<sub>(3)</sub>) et ZnEt<sub>2</sub>/*N*-Boc-L-cyclohexylglycinol (PCL<sub>(4)</sub>) qui conduisent à un espace plus encombré entre la chaîne polymère et le groupe amine, les résultats sont différents. Alors que les signaux relatifs au groupement 'Boc disparaissent partiellement, aucun autre signal n'apparaît dans le même temps, ni celui du groupement CHNH<sub>2</sub> situé théoriquement dans le domaine 2,8-3 ppm, ni celui d'une autre espèce. Lorsqu'on augmente le temps de réaction jusqu'à 90 min, il ne reste plus qu'un tiers de fonctions 'Boc résiduelles ; simultanément une faible quantité de fonctions NH<sub>2</sub> apparaissent (< 25%) mais aucun signal attribuable à une espèce secondaire quelconque. Par conséquent, ces expériences ne nous donnent pas d'indications supplémentaires quant à la possibilité d'une réaction parasite de cyclisation de bout de chaîne.

Nous avons également voulu déterminer l'effet de la nature du groupement protecteur en remplaçant le groupe 'Boc par un groupe Fmoc (Schéma 2-5). Dans ce cas particulier, la déprotection se fait par traitement avec de la pipéridine, dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, à température ambiante, pendant 16 heures.



**Schéma 2-5 : Structure de la PCL fonctionnalisée par une amine primaire protégée par un groupement Fmoc, utilisée pour l'étude de l'effet de la nature du groupe protecteur sur l'étape de déprotection**

Tandis que tous les signaux du groupement Fmoc ont complètement disparu, on observe l'apparition du polymère attendu, fonctionnalisé par une amine primaire mais également celle des signaux de l'espèce  $\alpha$  à hauteur de 30% (Fig. 2-8).

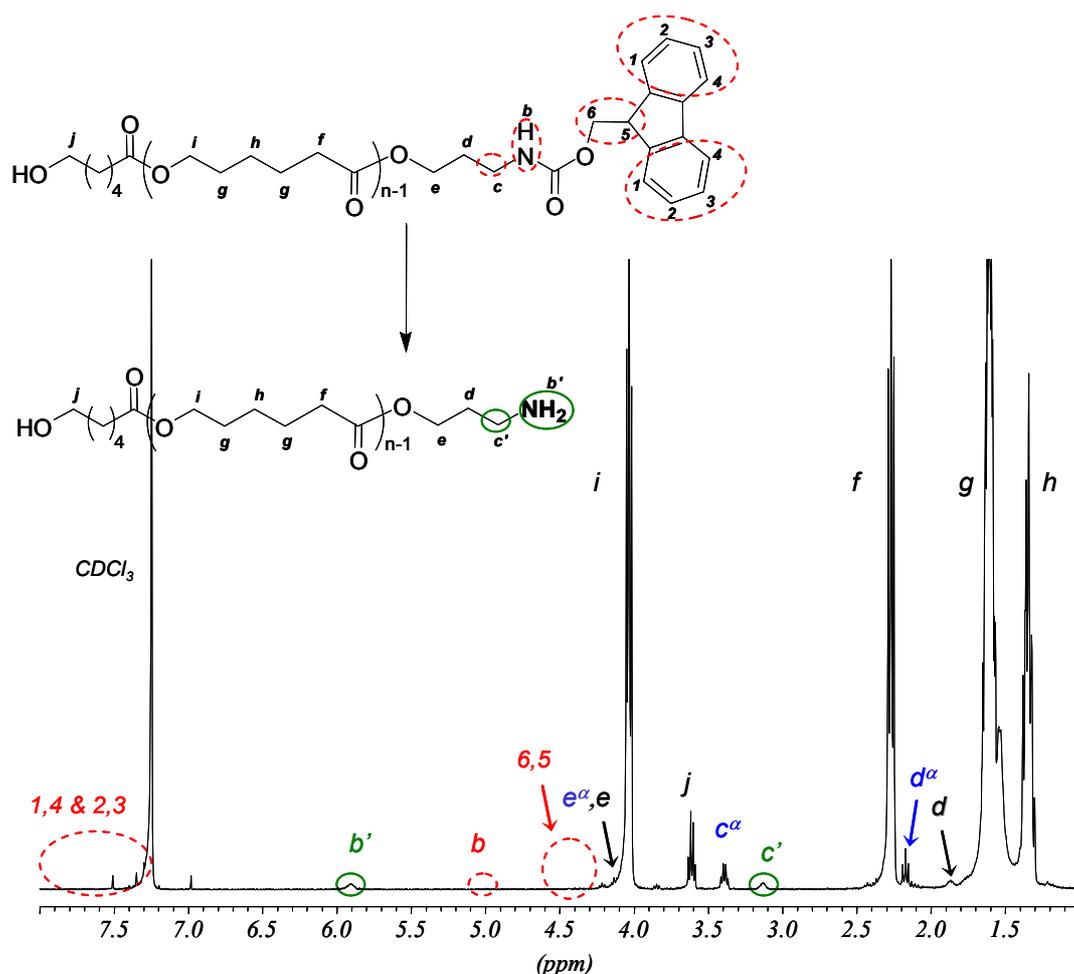


Fig. 2-8 : Spectre RMN <sup>1</sup>H (400 MHz) dans le CDCl<sub>3</sub> d'un échantillon de PCL<sub>(5)</sub> après traitement par la pipéridine

Tandis que l'utilisation de systèmes d'amorçage où l'alcool de départ possède un groupement R' plus encombré (Boc-L-valinol et *N*-Boc-L-cyclohexylglycinol) n'a pas donné de résultats exploitables permettant de confirmer l'hypothèse d'une cyclisation de bout de chaîne qui se produirait plus difficilement dans ce cas, les résultats obtenus avec un groupement R' plus court (*N*-Boc-ethanolamine) ne viennent pas contredire cette hypothèse. En outre, la réaction « parasite » à la réaction de déprotection normale est indépendante de la nature du groupe protecteur et du mode de déprotection (acide ou basique) ce qui tend à infirmer l'hypothèse de la présence d'un polymère fonctionnalisé NH<sub>3</sub><sup>+</sup>.

### II.3. Effet de la nature du polymère

Compte tenu qu'aucune mention de ce problème n'était faite dans la littérature, nous avons tenu à vérifier si le traitement du PLA (qui présente une chaîne plus encombrée que

celle de la PCL et du PTMC) par le TFA donnait les mêmes résultats. Pour cela, nous avons synthétisé un échantillon de PLA, en utilisant le système d'amorçage  $\text{ZnEt}_2/3\text{-(Boc-amino)-1-propanol}$ . Le traitement du polymère par du TFA, dans les mêmes conditions que Caillol *et al.*<sup>1</sup> a donné des résultats différents de ceux observés par les auteurs. En effet, les analyses RMN  $^1\text{H}$  réalisées par les auteurs démontrent une déprotection totale et l'absence (dans le domaine d'erreur de l'analyse) de réaction parasite. Par contre, dans notre cas, nous observons les signaux de trois séquences différentes (Fig. 2-9), le bout de chaîne 'Boc qui n'est pas totalement éliminé (a, b, c, d et e) et deux autres séquences qui n'ont pas été identifiées :  $c_1, d_1, e_1$  où  $d_1$  est couplé avec les deux autres, et  $b_2, c_2, d_2, e_2$  où  $d_2$  est couplé avec  $c_2$  et  $e_2$  et  $b_2$  avec  $c_2$ , et où l'intégration de  $b_2$  vaut pour un proton tandis que les autres valent pour deux protons. Par ailleurs, l'analyse en CES de l'échantillon de PLA déprotégé montre l'apparition, après déprotection, d'une deuxième population située dans le domaine des fortes masses qui peut être attribuée à un éventuel couplage entre les chaînes polymère.

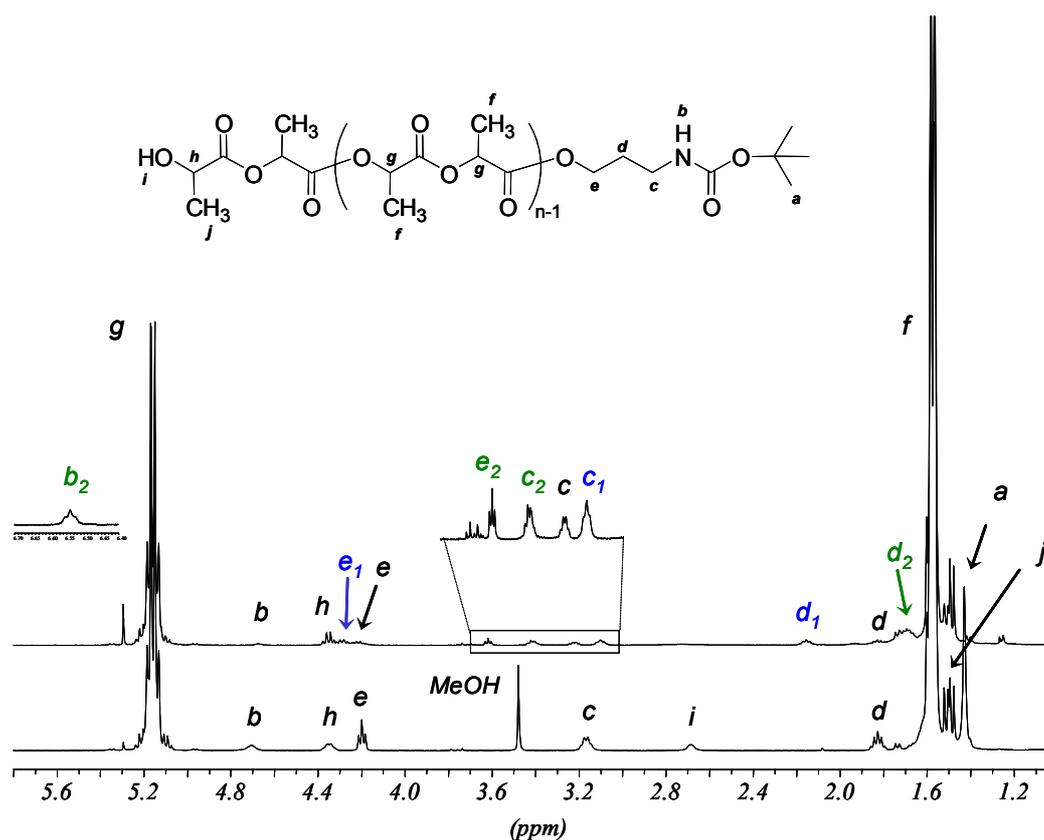


Fig. 2-9 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) dans le  $\text{CDCl}_3$  d'un échantillon de PLA ( $\overline{M}_n = 2\,300\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ;  $\overline{M}_w / \overline{M}_n = 1,11$ ) après traitement par du TFA à température ambiante pendant 30 min

**Conclusions / commentaires :**

Ainsi, toutes les investigations menées pour tenter de comprendre ce qui se produit lors de l'élimination des groupements protecteurs ne nous ont pas permis de résoudre le problème et de déterminer précisément l'origine de la non quantitativité de la fonctionnalisation des chaînes polymères par le groupement NH<sub>2</sub>.

Il est important de noter que Höcker et coll.<sup>6</sup> ont également observé dans leurs travaux une fonctionnalisation incomplète de leurs échantillons de poly(L-lactide)-NH<sub>2</sub>. En effet, l'utilisation de ces échantillons comme macroamorceurs pour la polymérisation de plusieurs monomères NCA conduit dans chaque cas à des copolymères dont les valeurs expérimentales des masses molaires sont toujours bien supérieures aux valeurs théoriques. En outre, l'analyse des résidus des polymérisations démontre la présence d'homopolymère poly(L-lactide) résiduel, fonctionnel ou non, dans des proportions avoisinant toujours les 40%.<sup>6</sup>

En ce qui concerne les autres travaux publiés qui ont donné lieu à la synthèse de copolymères à blocs polyester-*b*-poly(acide  $\alpha$ -aminé) à partir d'un polyester fonctionnalisé NH<sub>2</sub>,<sup>8,9</sup> aucun détail n'est donné sur la quantitativité ou non de la fonctionnalisation et sur la présence éventuelle de macroamorceur résiduel.

Dans la suite de ce travail, c'est-à-dire pour la synthèse des copolymères diblocs, après avoir vérifié que les polymères fonctionnalisés en extrémité par le groupe NH'Boc ou l'espèce  $\alpha$  n'amorcent pas la polymérisation du L-glutamate de  $\gamma$ -benzyle NCA, nous avons choisi d'utiliser directement, comme macroamorceur, les échantillons obtenus en utilisant les conditions optimales de déprotection établies. Ces conditions qui sont un traitement par le TFA, à 0°C, pendant 45 minutes, dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, conduisent à des macroamorceurs contenant entre 60 et 70% de chaînes fonctionnalisées amine primaire. Nous montrerons dans le chapitre suivant que ce choix est justifié par le fait que nous avons pu mettre au point une méthode de purification des copolymères qui permet l'élimination du macroamorceur résiduel.

### III. SYNTHÈSE DES COPOLYMERES DIBLOCS POLYESTER-*b*-POLY(L-GLUTAMATE DE $\gamma$ -BENZYLE)

#### III.1. Conditions de synthèse

Des études préliminaires nous ont permis de déterminer les temps de réaction optimum pour la polymérisation par ouverture de cycle du L-glutamate de  $\gamma$ -benzyle NCA, amorcée par un précurseur polyester fonctionnalisé  $\text{NH}_2$ , lorsqu'elle est effectuée dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , à la température de  $23^\circ\text{C}$  (Schéma 2-6). Ces temps qui conduisent à la conversion en NCA la plus élevée possible sont de 24 heures pour la PCL et de 5 jours pour le PTMC. D'autres exemples de macroamorçage de la polymérisation par ouverture de cycle de NCA par des polymères fonctionnalisés  $\text{NH}_2$  montrent que les temps de polymérisation varient en fonction de la nature du polymère (Exemple : 24 heures avec un poly(butadiène)- $\text{NH}_2$ ,<sup>10</sup> 5 jours avec un poly(styrène)- $\text{NH}_2$ <sup>11</sup>). Il est vraisemblable que, dans notre cas, des interactions de type liaisons hydrogène entre les groupements amine primaire et les chaînes polyester et polycarbonate contribuent à diminuer l'accessibilité à la fonction amine, notamment dans le cas des chaînes polycarbonate où les atomes d'oxygène sont présents en plus grand nombre.

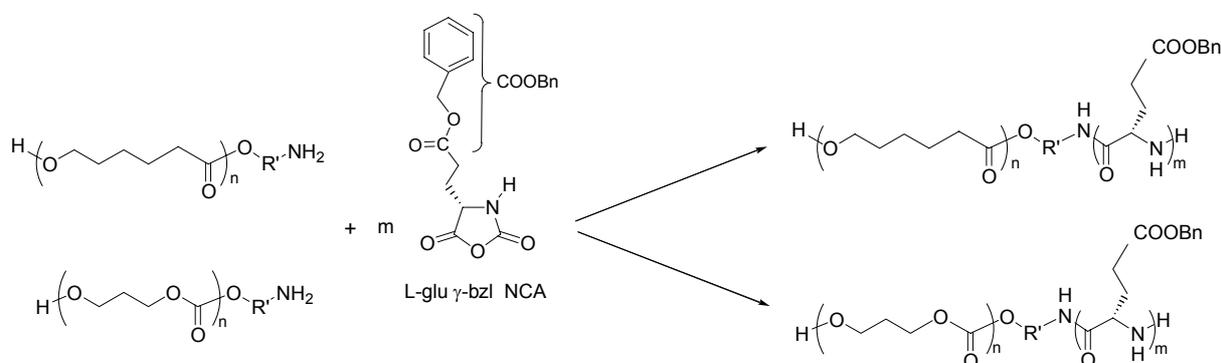


Schéma 2-6 : Schémas de synthèse des copolymères à blocs PCL-*b*-PBLG et PTMC-*b*-PBLG

Le problème majeur rencontré lors de cette étape était l'élimination de l'homopolymère résiduel PCL ou PTMC qui n'amorce pas la polymérisation. Pour le résoudre, nous avons mis au point une méthode de précipitation sélective du copolymère dans un mélange éther/acétone (80/20). L'éther permet d'éliminer le monomère NCA résiduel qui n'a éventuellement pas réagi tandis que l'acétone permet d'éliminer le macroamorceur résiduel (PCL ou PTMC) qui est soluble dans l'acétone à température ambiante, quelle que soit la masse molaire utilisée. La composition 80/20 s'est révélée être le meilleur compromis

afin d'éliminer tout l'homopolymère résiduel en perdant un minimum de copolymère. Ainsi, nous avons pu obtenir des échantillons de copolymères tout à fait « propres ». En outre, l'analyse en RMN  $^1\text{H}$  des résidus solubles issus de la précipitation nous a permis de déterminer la conversion en monomère. L'étude de ces résidus nous a également permis de vérifier (Fig. 2-10), comme nous l'avons mentionné précédemment, que l'espèce  $\alpha$  et le polymère fonctionnalisé  $\text{NH}^t\text{Boc}$  n'amorce pas, dans nos conditions, la polymérisation du NCA de glutamate de benzyle.

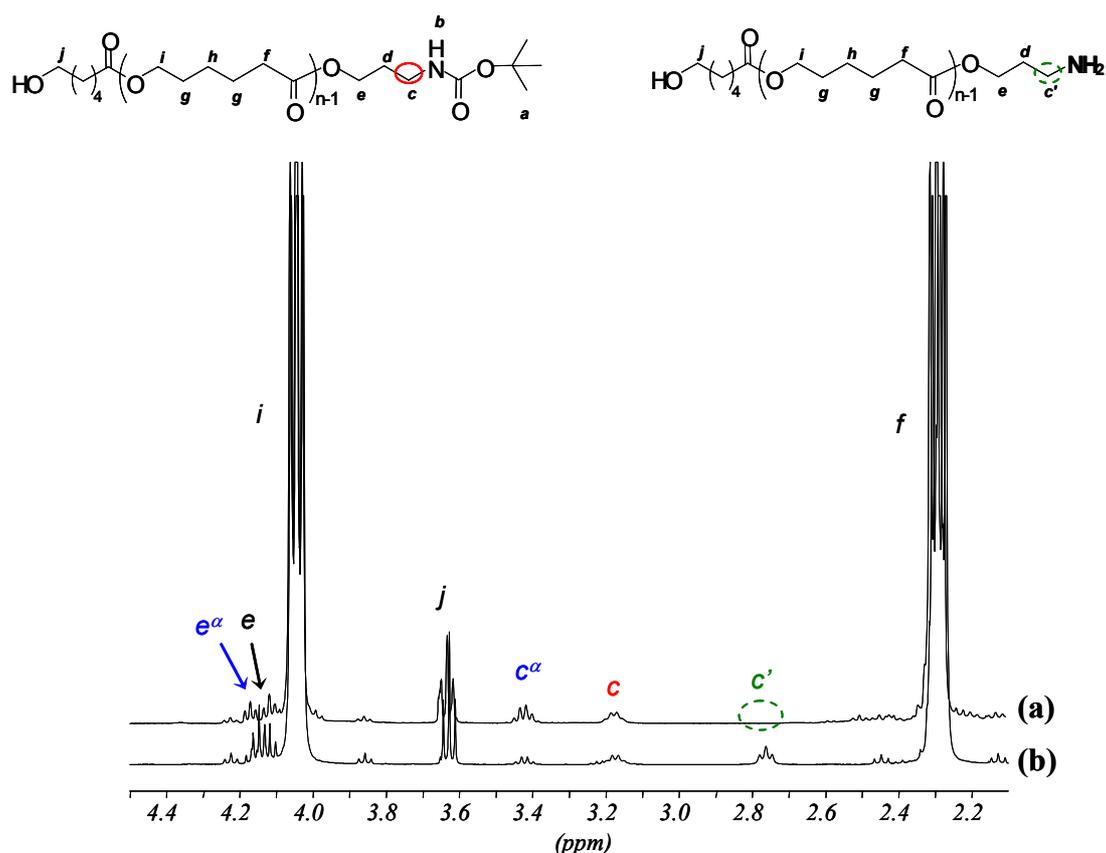


Fig. 2-10 : Spectres RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) dans le  $\text{CDCl}_3$  du résidu soluble de la purification d'un copolymère PCL-*b*-PBLG (a), issu d'un précurseur PCL fonctionnalisé  $\text{NH}_2$  à 42% ( $t\text{Boc} = 23\%$  et  $\alpha = 35\%$ ) (b)

Les principaux résultats obtenus lors de la polymérisation du L-glu bzI NCA amorcée par des précurseurs PCL- $\text{NH}_2$  de différentes masses molaires sont rassemblés dans le Tableau 2-6.

	$\frac{[\text{NCA}]_0}{[\text{NH}_2]_0}$	$[\text{NH}_2]_0^a$ (mmol.L <sup>-1</sup> )	$\overline{M}_n(\text{PCL})^b$ (g.mol <sup>-1</sup> )	$\overline{M}_n(\text{théo})^c$ (g.mol <sup>-1</sup> )	$\overline{M}_n(\text{exp})^d$ (g.mol <sup>-1</sup> )	$\frac{\overline{M}_w}{\overline{M}_n}^e$	Composition PCL/PBLG <sup>f</sup>	$\phi_{\text{PCL}}$ (% masse)
A	10	10	1 900	4 100	7 400	1,36*	16 / 25	26
B	20	10	1 900	6 300	6 750	1,08	16 / 22	28
C	50	8	1 900	12 850	11 100	1,10	16 / 42	17
D	78	6	1 900	19 000	18 100	1,40*	16 / 74	10
E	5	10	2 100	3 200	-	-	-	-
F	20	10	2 100	6 500	6 700	1,07	18 / 21	31
G	48	8	2 100	12 600	11 300	1,26*	18 / 42	19
H	80	6	2 470	20 000	19 550	1,08	21 / 78	13
I	20	5	7 150	11 530	15 050	1,36*	62 / 36	48

<sup>a</sup> Calculé à partir des analyses RMN <sup>1</sup>H des précurseurs. <sup>b</sup> Déterminée par CES avec un coefficient correcteur de 0,56.

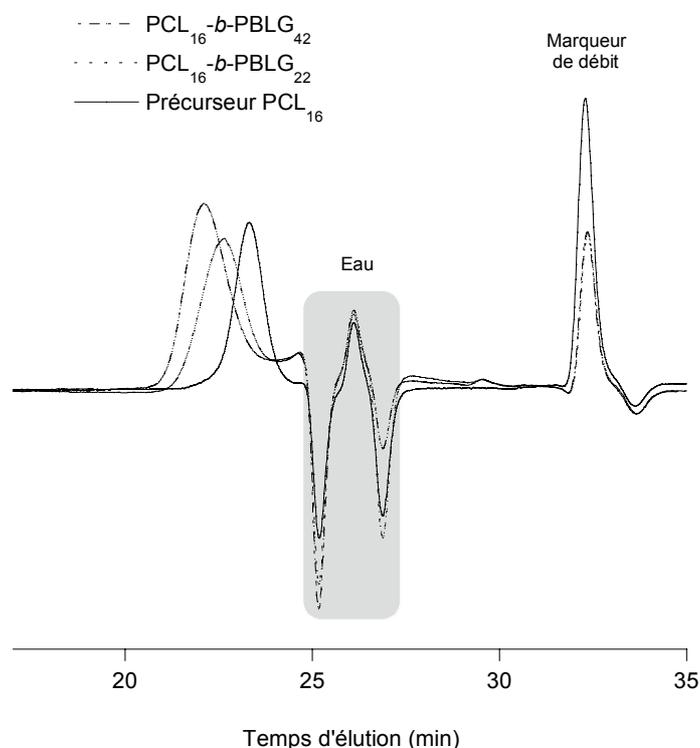
<sup>c</sup>  $\overline{M}_n(\text{théo}) = [\text{NCA}]_0/[\text{NH}_2]_0 \times 219 \times \text{conversion} + \overline{M}_n(\text{PCL})$ . <sup>d</sup> Déterminée par RMN <sup>1</sup>H. <sup>e</sup> Déterminé par CES. <sup>f</sup> Déterminé par RMN <sup>1</sup>H. \* CES effectuée dans le DMF à température ambiante en absence de Li/Br.

**Tableau 2-6 : Caractéristiques des copolymères à blocs PCL-*b*-PBLG synthétisés par polymérisation par ouverture de cycle du monomère L-glu bzI NCA amorcée par un précurseur PCL-NH<sub>2</sub>**

Etant donné que le mode de purification du copolymère utilisé est une précipitation sélective, nous avons rencontré quelques difficultés pour préparer des copolymères de faible composition en PBLG. En effet, lorsque le bloc PBLG est court, le copolymère précipite mal dans le mélange éther/acétone puisque sa solubilité est alors gouvernée par le bloc polyester majoritaire. Dans le cas, par exemple, d'une composition théorique PCL<sub>18</sub>-*b*-PBLG<sub>5</sub>, il nous a été impossible de récupérer du copolymère par précipitation sélective. Dans le cas d'une composition théorique PCL<sub>16</sub>-*b*-PBLG<sub>10</sub>, nous avons pu récupérer du copolymère purifié mais avec des rendements très faibles (20-30%) et une valeur expérimentale des masses molaires supérieure à la valeur théorique (7 400 au lieu de 4 100 g.mol<sup>-1</sup>). Ceci montre que notre méthode de précipitation sélective ne permet de récupérer du copolymère qu'au-delà d'une certaine composition en PCL, la plus grande partie des échantillons contenant un bloc court en PBLG restant en solution dans le mélange éther/acétone.

Nous avons pu néanmoins préparer et purifier des échantillons de copolymère avec des fractions massiques en PCL ( $\phi_{\text{PCL}}$ ) proches de 50% en augmentant la taille du précurseur PCL (7 150 g.mol<sup>-1</sup>). En effet, dans ce cas, pour une composition permettant d'accéder à  $\phi_{\text{PCL}} = 50\text{-}60\%$ , le bloc PBLG présente des valeurs de masse molaire de l'ordre de 4 000 à 6 000 g.mol<sup>-1</sup>, ce qui permet de mieux le précipiter dans le mélange éther/acétone. Dans ce cas, on observe néanmoins un écart entre les valeurs des masses molaires théoriques et expérimentales (Exp. I).

La valeur expérimentale des masses molaires des copolymères, mesurée par RMN  $^1\text{H}^\dagger$ , est en accord, compte tenu de la précision expérimentale et du mode de purification du copolymère qui peut induire une certaine ségrégation des chaînes, avec celles calculées théoriquement à partir de la concentration effective en groupement  $\text{NH}_2^\ddagger$ , en particulier, pour les copolymères de faible fraction molaire en PCL. Elles augmentent comme attendu avec le rapport  $[\text{NCA}]_0/[\text{NH}_2]_0$  et leur distribution est relativement étroite $^\S$  (Tableau 2-6). Ces résultats montrent que, comme dans le cas de l'amorçage de la polymérisation des NCAs par une amine primaire aliphatique, la polymérisation amorcée par le macroamorceur PCL-NH $_2$  est relativement bien contrôlée.



**Fig. 2-11 : Chromatogrammes d'exclusion stérique d'échantillons de PCL-*b*-PBLG de différentes masses molaires, et du précurseur PCL-NH $_2$  dont ils sont issus**

$^\dagger$  Compte tenu que la CES utilisée est calibrée avec des échantillons de PS, les valeurs des masses molaires des copolymères ne sont qu'apparentes. Nous avons donc calculé, chaque fois que cela était possible techniquement, les valeurs expérimentales de ces masses à partir de la composition mesurée par RMN  $^1\text{H}$  et de la valeur de la masse molaire du précurseur (voir partie expérimentale).

$^\ddagger$  La concentration supposée efficace en groupes  $\text{NH}_2$  a été calculée à partir de la RMN  $^1\text{H}$  du précurseur PCL.

$^\S$  Dans certains cas, l'analyse CES des copolymères a été réalisée dans le DMF à la température de 23°C. Certainement en raison de l'existence de phénomènes d'agrégation spontanée des blocs PBLG, ces mesures donnent des valeurs de distribution des masses molaires plus élevées que celles qui sont mesurées dans le DMF à 60°C en présence de sels (LiBr).

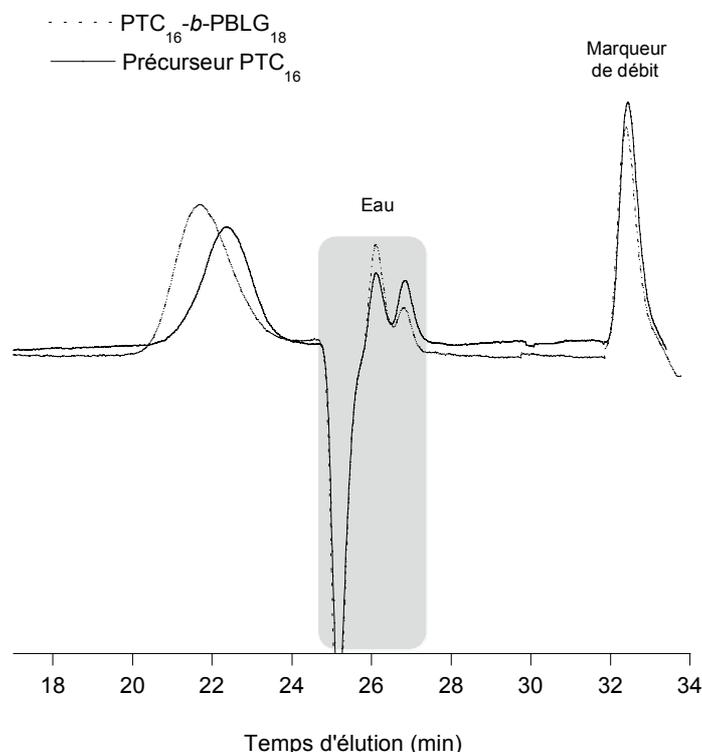
La synthèse et la purification des copolymères PTMC-*b*-PBLG ont été conduites selon les mêmes méthodes et donnent des résultats analogues (Tableau 2-7). Nous avons pu préparer et purifier des échantillons dont la composition en PTMC varie de 10 à 44% massique sans toutefois pouvoir, pour les mêmes raisons que précédemment, dépasser les 50%. Cependant, dans le cas du PTMC, la ségrégation des masses molaires est moins importante, vraisemblablement en raison d'une différence de solubilité entre les chaînes PCL et les chaînes PTMC.

	$\frac{[\text{NCA}]_0}{[\text{NH}_2]_0}$	$[\text{NH}_2]_0^a$ (mmol.L <sup>-1</sup> )	$\bar{M}_n$ (PTMC) <sup>b</sup> (g.mol <sup>-1</sup> )	$\bar{M}_n$ (théo) <sup>c</sup> (g.mol <sup>-1</sup> )	$\bar{M}_n$ (exp) <sup>d</sup> (g.mol <sup>-1</sup> )	$\frac{\bar{M}_w}{\bar{M}_n}$ <sup>e</sup>	Composition PTMC/PBLG <sup>f</sup>	$\phi_{\text{PTMC}}$ (% masse)
J	20	10	1 700	6 080	5 650	1,11	16 / 18	30
K	42	7	1 700	10 900	11 800	1,29	16 / 46	14
L	10	10	2 100	4 300	4 750	1,21	20 / 12	44
M	20	8	2 100	6 480	7 800	1,18	20 / 26	27
N	40	8	2 100	10 860	10 400	1,13	20 / 38	20
P	60	5	2 100	15 240	12 200	1,23	20 / 46	17

<sup>a</sup> Calculé à partir des analyses RMN <sup>1</sup>H des précurseurs. <sup>b</sup> Déterminée par CES avec un coefficient correcteur de 0,50.

<sup>c</sup>  $\bar{M}_n$  (théo) =  $[\text{NCA}]_0/[\text{NH}_2]_0 \times 219 \times \text{conversion} + \bar{M}_n$  (PTMC). <sup>d</sup> Déterminée par RMN <sup>1</sup>H. <sup>e</sup> Déterminé par CES. <sup>f</sup> Déterminé par RMN <sup>1</sup>H.

**Tableau 2-7 : Caractéristiques des copolymères à blocs PTMC-*b*-PBLG synthétisés par polymérisation par ouverture de cycle du monomère L-glu bzI NCA amorcée par un précurseur PTMC-NH<sub>2</sub>**



**Fig. 2-12 : Chromatogramme d'exclusion stérique d'un échantillon de PTMC-*b*-PBLG, et du précurseur PTMC-NH<sub>2</sub> dont il est issu**

### III.2. Caractérisation des copolymères diblocs

L'analyse par RMN  $^1\text{H}$  des copolymères permet de confirmer la structure attendue (à savoir la présence d'enchaînements PCL, PTMC ou PBLG), d'identifier les extrémités des segments PCL et PTMC (j et j'), d'identifier la jonction des blocs polyester-poly(glutamate de benzyle) (c,e) et de calculer la composition des copolymères (Fig. 2-13 & Fig. 2-14). Par contre, nous n'avons jamais pu identifier l'extrémité du bloc PBLG ( $\text{NH}_2$  ou autre) ce qui est régulièrement rapporté dans la littérature.

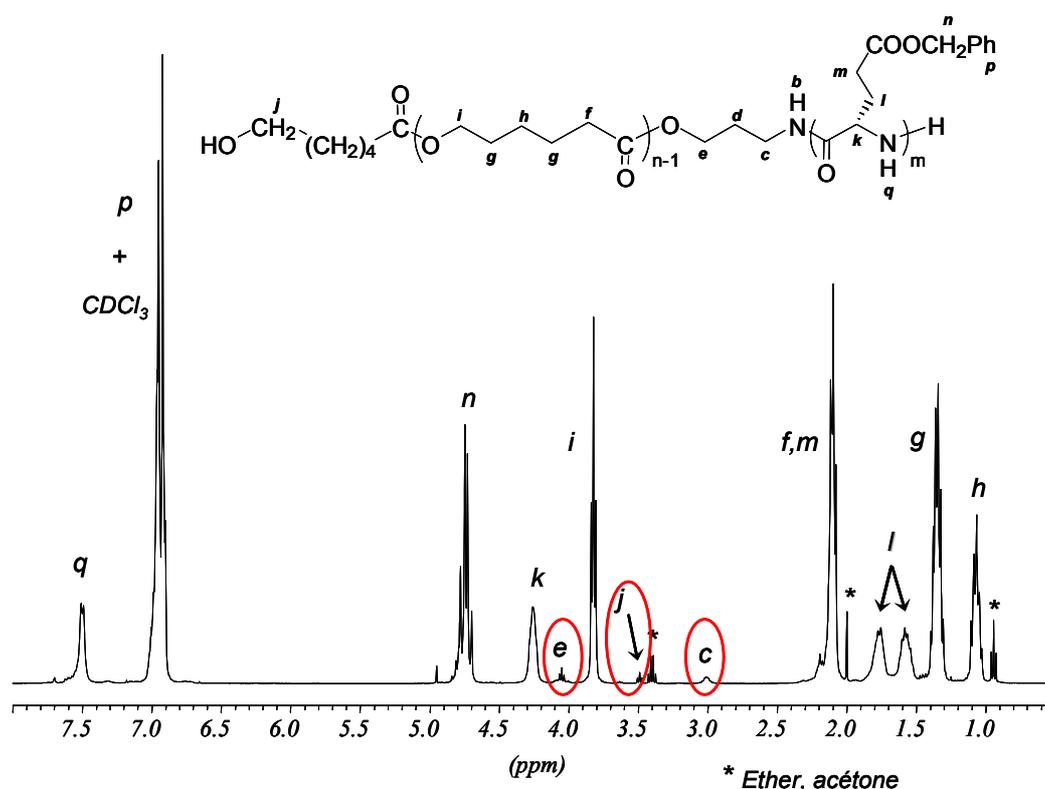


Fig. 2-13 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) dans le  $\text{CDCl}_3/\text{TFA}$  (80/20) du copolymère  $\text{PCL}_{18}\text{-}b\text{-PBLG}_{21}$  ( $\bar{M}_n = 6\,700\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ )

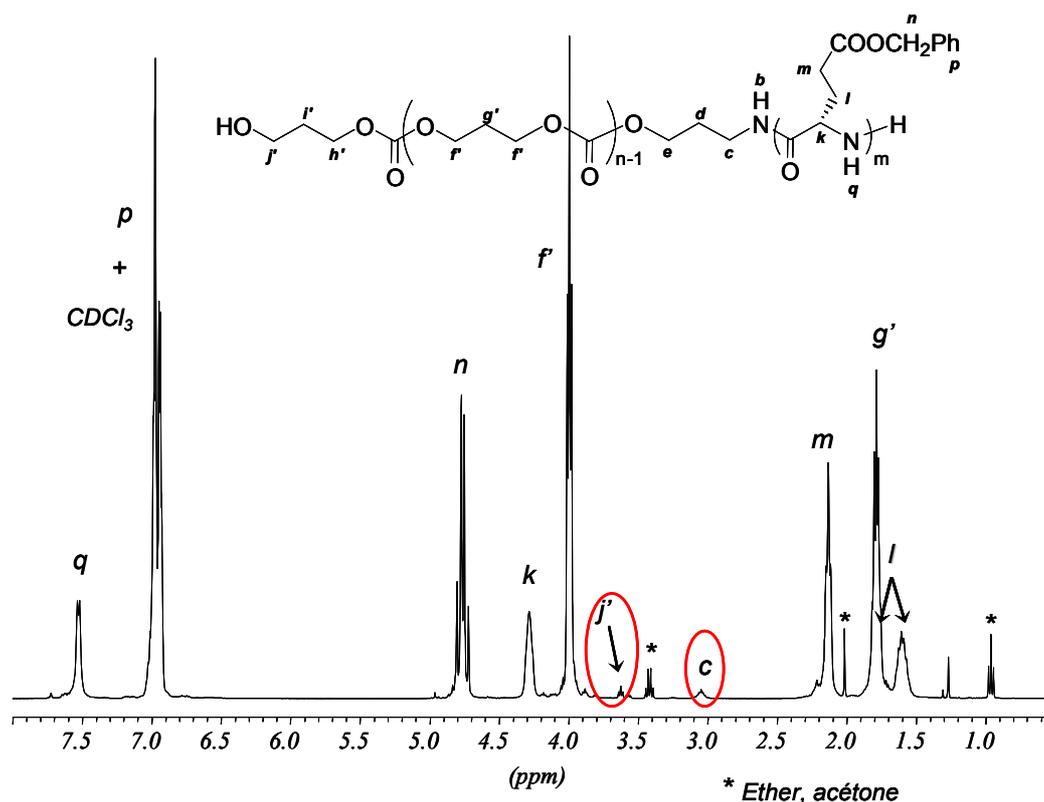


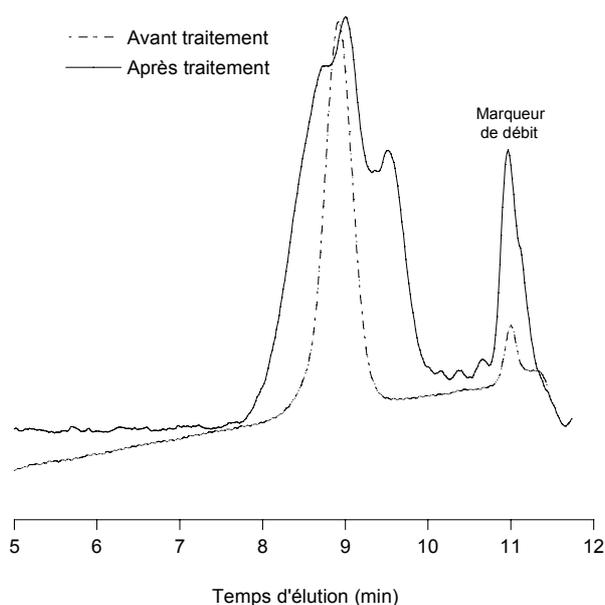
Fig. 2-14 : Spectre RMN <sup>1</sup>H (400 MHz) dans le CDCl<sub>3</sub>/TFA (80/20) du copolymère PTMC<sub>16</sub>-*b*-PBLG<sub>18</sub> ( $\bar{M}_n = 5\,650\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ )

Par ailleurs l'analyse thermique (effectuée par DSC) de différents échantillons de copolymère PCL-*b*-PBLG et PTMC-*b*-PBLG de compositions variables a permis de confirmer la structure à blocs de nos copolymères puisque on observe simultanément les transitions thermiques caractéristiques de chacun des blocs (les résultats obtenus seront développés dans la partie 3 de ce manuscrit, consacrée à l'étude de l'organisation à l'état solide des copolymères).

#### IV. SYNTHÈSE DES COPOLYMERES A BLOCS AMPHIPHILES

Les copolymères amphiphiles PCL-*b*-PGA et PTMC-*b*-PGA peuvent être obtenus par hydrolyse des liaisons ester de benzyle du bloc poly(L-glutamate de  $\gamma$ -benzyle) ce qui permet ainsi d'accéder au poly(acide L-glutamique). Cette ultime étape s'est avérée, dans notre cas, délicate à mettre en œuvre à cause de la présence du bloc polyester. En effet, les méthodes classiques d'hydrolyse décrites dans la littérature font intervenir, pour la plupart, des acides forts qui sont susceptibles d'hydrolyser la chaîne polyester et qui n'ont donc pas pu

être utilisées. Par exemple, le traitement d'un copolymère, en milieu acide, par un mélange d'acide trifluoroacétique (TFA), d'acide méthane sulfonique (MSA) et d'anisole, à 10°C, pendant 3 heures, selon une procédure décrite dans la littérature,<sup>14</sup> conduit à une modification désastreuse du bloc polyester. En effet, l'analyse par CES du polymère après traitement ont démontre une modification importante de la valeur des masses molaires et l'apparition d'une multimodalité des distributions des masses qui peut être attribuée à de nombreux réarrangements et coupures des chaînes polymère (Fig. 2-15).



**Fig. 2-15 : Chromatogrammes d'exclusion stérique d'un échantillon de PCL (1 900 g.mol<sup>-1</sup>) avant et après traitement par une solution TFA/MSA/anisole dans les conditions de Caillol *et al.*<sup>14</sup>**

Nous avons donc choisi d'utiliser une autre méthode, également publiée et utilisée à plusieurs reprises dans le cas de polyesters, basée sur une réaction d'hydrogénation catalytique de la liaison ester de benzyle. Bien que plus complexe et plus longue à mettre en œuvre, cette méthode semblait plus sélective et l'hydrolyse des précurseurs d'acide  $\alpha$ -aminé semblait quantitative, sans affecter les segments polyesters (Tableau 2-8).

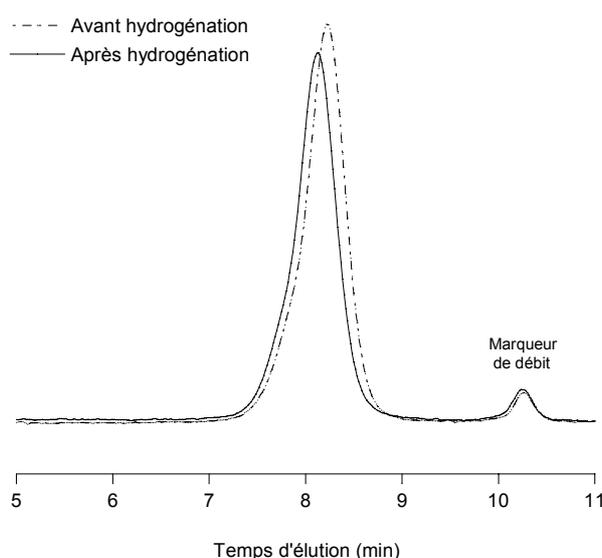
Modification chimique / Nature du copolymère	Conditions d'hydrogénation		Référence
$N_3 \rightarrow NH_2$ (PEG- <i>b</i> -PCL)	H, Pd/C (10%)	DMF, 30°C, 1 nuit	Yuan et coll. <sup>15</sup>
$NO_2 \rightarrow NH_2$ (PCL)		THF, 1 MPa, 10 h	Chen X. et coll. <sup>12</sup>
$NO_2 \rightarrow NH_2$ (PCL)	H, Pt/C (10%)	THF, P <sub>atm</sub> , 6 h	Kricheldorf et coll. <sup>16</sup>
poly(Glc- <i>alt</i> -Asp(OBn))	H, Pd/C (5 ou 10%)	THF/MeOH (3/1), bullage, 3 jours	Feng et coll. <sup>17,18</sup> Deng X. et coll. <sup>19</sup>
poly(Glc- <i>alt</i> -Glu(OBn))			
poly[CL- <i>co</i> -(Glc- <i>alt</i> -Asp(OBn))]			
poly[Lac- <i>co</i> -(Glc- <i>alt</i> -Glu(OBn))]			
poly(Lac- <i>alt</i> -Asp(OBn))			
poly(Lac- <i>co</i> -Asp(OBn))	THF/MeOH (3/1), P <sub>atm</sub> , 20 jours	Höcker et coll. <sup>20</sup>	
PLGBG- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -PLGBG *	THF/MeOH (3/1) 1 MPa, 50°C, 48 h	Jing X. et coll. <sup>21</sup>	
PLA- <i>b</i> -PBLG	H, Pd/C (10%)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 60 psi, 48 h	Kim et coll. <sup>22</sup>
PEG- <i>b</i> -PLA- <i>b</i> -PBLG		THF/MeOH (3/1), bullage, 2 jours	Chen X. et coll. <sup>23</sup>

\* PLGBG = poly[Lac-*co*-(Glc-*alt*-Glu(OBn))].

**Tableau 2-8 : Conditions d'hydrogénation en présence de polyesters, rapportées dans la littérature**

Des essais préliminaires nous ont permis d'optimiser les procédures publiées et d'établir un protocole précis, propre à nos systèmes, que nous avons ensuite appliqué à tous nos copolymères (voir partie expérimentale).

Nous avons également vérifié que, dans les mêmes conditions, l'homopolymère PCL n'était pas affecté, en ce qui concerne notamment les valeurs des masses molaires et de leur distribution, par cette opération (Fig. 2-16).



**Fig. 2-16 : Chromatogrammes d'exclusion stérique d'un échantillon de PCL (2 100 g.mol<sup>-1</sup>) avant et après hydrogénation**

Dans tous les cas, l'hydrogénation de nos échantillons de copolymères de différentes compositions est quantitative comme le montre l'analyse par RMN  $^1\text{H}$ . (Fig. 2-17).

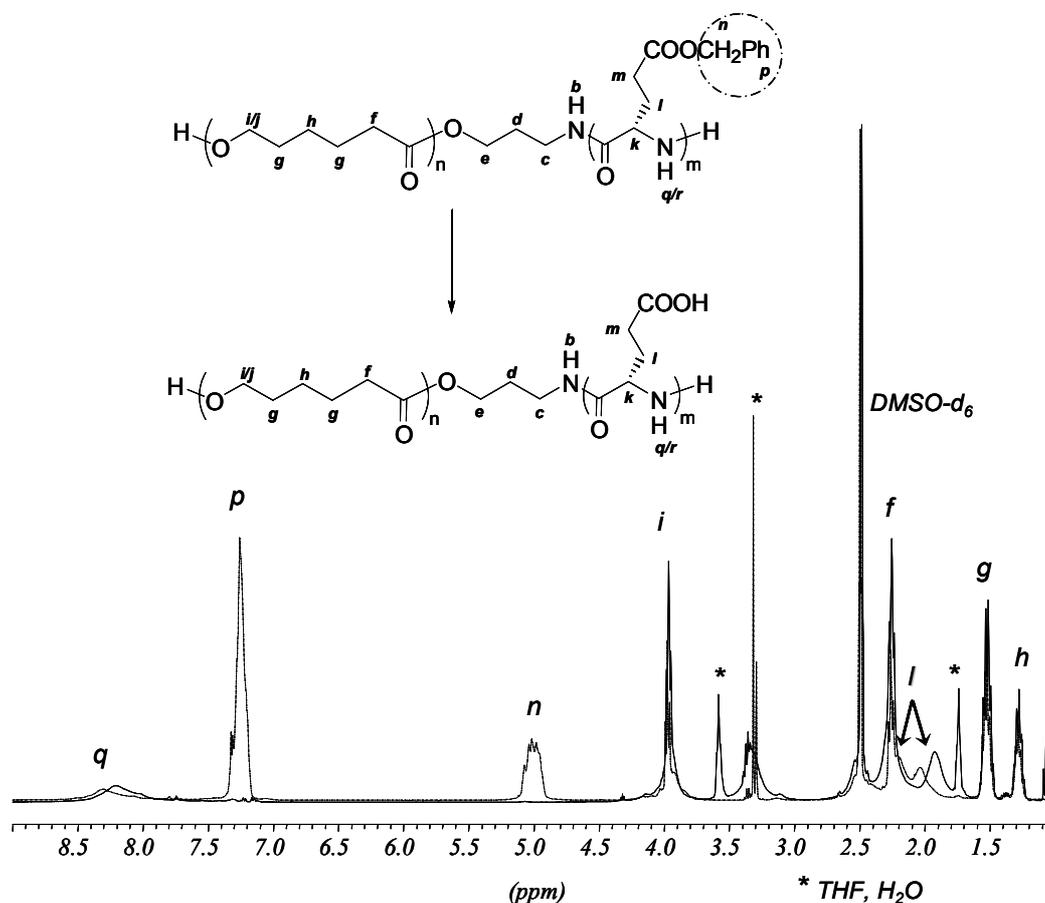


Fig. 2-17 : Spectres RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) dans le DMSO du copolymère  $\text{PCL}_{18}\text{-}b\text{-PBLG}_{42}$  avant et après hydrogénation

## CONCLUSION

La préparation des précurseurs PCL et PTMC fonctionnalisés par une amine primaire et l'hydrolyse du bloc PBLG en PGA ont été les étapes les plus délicates de nos travaux visant à préparer des architectures à blocs amphiphiles  $\text{PCL-}b\text{-PGA}$  (dont la synthèse a déjà été rapportée dans la littérature) et  $\text{PTMC-}b\text{-PGA}$  (dont la synthèse est décrite ici pour la première fois). Même si les nombreuses difficultés rencontrées au cours de ces deux étapes ont ralenti de façon considérable la progression de notre étude, nous avons tout de même atteint les objectifs fixés et nous avons réussi à préparer des copolymères à blocs  $\text{PCL-}b\text{-PBLG}$ ,  $\text{PTMC-}b\text{-PBLG}$  ainsi que leurs homologues amphiphiles « propres » et bien définis, ce qui est un point essentiel pour conduire des études physico-chimiques fiables.

La voie de synthèse utilisée pour préparer de telles architectures qui paraissait relativement simple au départ, s'est finalement avérée beaucoup plus compliquée en raison de la nature polyester ou polycarbonate du bloc que nous avons choisi d'associer au poly(acide  $\alpha$ -aminé). La méthode de préparation de nos copolymères à blocs basée sur l'utilisation de macroamorceurs obtenus à partir d'amorceurs fonctionnels, permet d'envisager, selon l'architecture et la nature de ceux-ci, l'association de poly(acide  $\alpha$ -aminé)s à divers autres polymères et selon des architectures plus élaborées.

- 
- <sup>1</sup> Caillol, S.; Lecommandoux, S.; Mingotaud, A.-F.; Schappacher, M.; Soum, A.; Bryson, N.; Meyrueix, R. *Macromolecules* **2003**, *36*, 1118-1124.
  - <sup>2</sup> Save, M.; Soum, A. *Polym. Prepr.* **2001**, *42*, 655-656.
  - <sup>3</sup> Save, M.; Schappacher, M.; Soum, A. *Macromol. Chem. Phys.* **2002**, *203*, 889-899.
  - <sup>4</sup> Palard, I. *Thèse de doctorat*; Université Bordeaux 1: France, **2005**.
  - <sup>5</sup> Onfroy-Dulong. *Thèse de doctorat*; Université Bordeaux 1: France, **1999**.
  - <sup>6</sup> Gotsche, M.; Keul, H.; Höcker, H. *Macromol. Chem. Phys.* **1995**, *196*, 3891-3903.
  - <sup>7</sup> Ouchi, T.; Uchida, T.; Arimura, H.; Ohya, Y. *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 477-480.
  - <sup>8</sup> Fan, Y.; Chen, G.; Tanaka, J.; Tateishi, T. *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 3051-3056.
  - <sup>9</sup> Deng, C.; Rong, G.; Tian, H.; Tang, Z.; Chen, X.; Jing, X. *Polymer* **2005**, *46*, 653-659.
  - <sup>10</sup> Babin, J. *Thèse de doctorat*; Université Bordeaux 1: France, **2006**.
  - <sup>11</sup> Chécot, F. *Thèse de doctorat*; Université Bordeaux 1: France, **2003**.
  - <sup>12</sup> Rong, G.; Deng, M.; Deng, C.; Tang, Z.; Piao, L.; Chen, X.; Jing, X. *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 1800-1804.
  - <sup>13</sup> Schappacher, M.; Soum, A.; Guillaume, S. M. *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 1373-1379.
  - <sup>14</sup> Bryson, N.; Caillol, S.; Mingotaud, A.-F.; Meyrueix, R.; Soula, G.; Soum, A.; Flamel Technologies S.A., FR, 2,838,964, **2002**
  - <sup>15</sup> Yuan, M.; Wang, Y.; Li, X.; Xiong, C.; Deng, X. *Macromolecules* **2000**, *33*, 1613-1617.
  - <sup>16</sup> Kricheldorf, H. R.; Hauser, K. *Macromolecules* **1998**, *31*, 614-620.
  - <sup>17</sup> Wang, D.; Feng, X.-D. *Macromolecules* **1997**, *30*, 5688-5692.
  - <sup>18</sup> Wang, D.; Feng, X.-D. *Macromolecules* **1998**, *31*, 3824-3831.
  - <sup>19</sup> Deng, X.; Yao, J.; Yuan, M.; Li, X.; Xiong, C. *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, *201*, 2371-2376.
  - <sup>20</sup> Feng, Y.; Klee, D.; Höcker, H. *Macromol. Chem. Phys.* **2002**, *203*, 819-824.
  - <sup>21</sup> Guan, H.; Xie, Z.; Zhang, P.; Deng, C.; Chen, X.; Jing, X. *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 1954-1960.
  - <sup>22</sup> Kim, H.; Sung, Y. K.; Jung, J.; Baik, H.; Min, T. J.; Kim, Y. S. *Journal of the Korean Chemical Society* **1990**, *34*, 203-210.
  - <sup>23</sup> Deng, M.; Wang, R.; Rong, G.; Sun, J.; Zhang, X.; Chen, X.; Jing, X. *Biomaterials* **2004**, *25*, 3553-3558.



---

Partie 3 :

ORGANISATION A L'ETAT  
SOLIDE DES COPOLYMERES  
A BLOCS POLYESTER-  
POLY(ACIDE  $\alpha$ -AMINE)

---

I. Introduction aux phénomènes de diffusion	105
II. L'auto-assemblage en masse : généralités	108
III. Organisation à l'état solide des systèmes rigide-flexible PCL- <i>b</i> -PBLG et PTMC- <i>b</i> -PBLG	112
III.1. Etude structurale préliminaire	112
III.2. Etude thermique	114
III.3. Organisation locale et à grande échelle	120
III.3.1. Organisation locale	120
III.3.2. Organisation à grande échelle	124
Conclusions	127
Références bibliographiques	128

---

Il nous est apparu important d'étudier, dans cette partie, les propriétés d'organisation à l'état solide des copolymères préparés. En effet, ces propriétés (comme par exemple la cristallinité et la compacité des blocs) sont un des éléments essentiels intervenant dans la formation de nanoparticules, en particulier par nanoprécipitation. Elles influencent également les capacités d'encapsulation et de libération de principes actifs.

Dans cet objectif, nous avons déterminé, dans le cas des copolymères PCL-*b*-PBLG et PTMC-*b*-PBLG, les caractéristiques et propriétés physiques des matériaux ainsi que morphologies obtenues par le processus d'auto-assemblage. Nous avons également tenté d'évaluer l'effet de la nature du bloc polyester sur l'organisation globale des systèmes. Nous avons, pour cela, combiné plusieurs techniques d'analyses : la spectroscopie IRTF, les analyses thermiques par DSC et les techniques de diffusion des rayons X aux grands angles (WAXS) et aux petits angles (SAXS) dont les principes sont présentés en annexe.

## I. INTRODUCTION AUX PHENOMENES DE DIFFUSION

Les techniques expérimentales basées sur les phénomènes de diffusion du rayonnement constituent l'une des principales méthodes d'étude et de caractérisation des polymères, permettant d'obtenir des informations sur leur structure à différentes échelles. La diffusion est l'une des conséquences des interactions entre la matière et le rayonnement. En effet, lorsqu'un milieu diffusant est traversé par un rayonnement incident, chaque élément de volume renvoie dans toutes les directions de l'espace une partie du faisceau incident. Dans un milieu homogène, ces ondes se recombinent pour reconstruire le rayon incident, ce qui n'est pas le cas dans un milieu inhomogène, où l'intensité du faisceau diffusé dépend de la géométrie des éléments diffusants et des interactions entre ces éléments.

On distingue trois principales techniques de diffusion selon le rayonnement incident : la diffusion de la lumière, la diffusion des neutrons et la diffusion des rayons X. Chacune de ces trois techniques repose sur le même principe général et diffère des autres par la longueur d'onde  $\lambda_i$  du faisceau incident :

- ✓ Diffusion de la lumière :  $4\,000 \text{ \AA} < \lambda_i < 7\,000 \text{ \AA}$
- ✓ Diffusion des neutrons :  $1 \text{ \AA} < \lambda_i < 20 \text{ \AA}$
- ✓ Diffusion des rayons X :  $0,2 \text{ \AA} < \lambda_i < 2 \text{ \AA}$

Une expérience typique de diffusion du rayonnement consiste à envoyer un faisceau incident monochromatique de longueur d'onde  $\lambda_i$  et de vecteur d'onde  $\vec{k}_i$  sur l'échantillon à étudier, puis à analyser le rayonnement diffusé ( $\lambda_d$  et  $\vec{k}_d$ ) en fonction de l'angle d'observation  $\theta$ , comme le montre le Schéma 3-1.

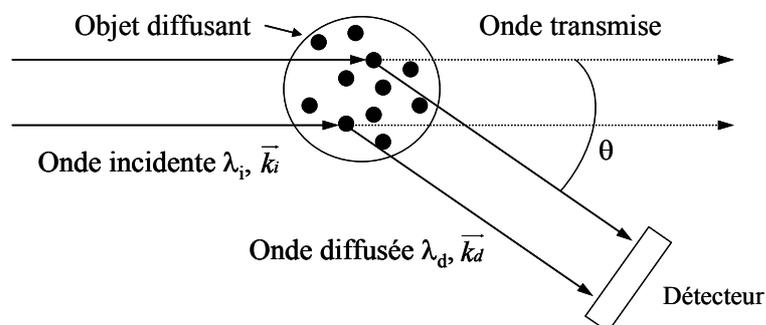


Schéma 3-1 : Principe d'une expérience de diffusion du rayonnement

Les modules des vecteurs d'onde incident  $\vec{k}_i$  et diffusé  $\vec{k}_d$  sont définis par les relations suivantes :

$$|\vec{k}_i| = \frac{2\pi n}{\lambda_i} \qquad |\vec{k}_d| = \frac{2\pi n}{\lambda_d}$$

avec  $\lambda_i$  et  $\lambda_d$  les longueurs d'onde incidente et diffusée dans le vide et  $n$  l'indice de réfraction du milieu. L'intensité diffusée dans une direction donnée est définie par le vecteur d'onde  $\vec{q}$  égal à  $\vec{k}_i - \vec{k}_d$ . Dans le cas d'une diffusion élastique (c'est-à-dire d'un transfert d'énergie), les longueurs d'onde incidente et diffusée sont égales et les modules des vecteurs d'ondes sont égaux. La norme de  $\vec{q}$  en fonction de l'angle de diffusion  $\theta$  qui détermine la direction d'observation s'écrit alors :

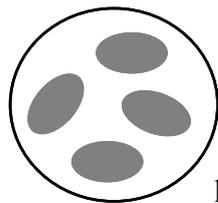
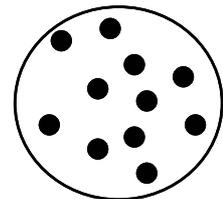
$$|\vec{q}| = \frac{4\pi n}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2}$$

Cette relation montre que le vecteur d'onde  $\vec{q}$  est inversement proportionnel à  $\lambda$ . Or nous avons vu que les longueurs d'onde incidentes diffèrent selon les techniques utilisées, par conséquent les domaines de  $q$  accessibles dépendent du type de rayonnement :

- ✓ Diffusion de la lumière :  $5 \cdot 10^{-5} \text{ \AA}^{-1} < q < 3 \cdot 10^{-3} \text{ \AA}^{-1}$
- ✓ Diffusion des neutrons et rayons X :  $2 \cdot 10^{-4} \text{ \AA}^{-1} < q < 5 \cdot 10^{-1} \text{ \AA}^{-1}$

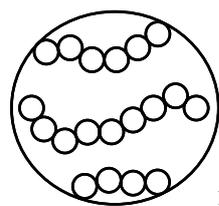
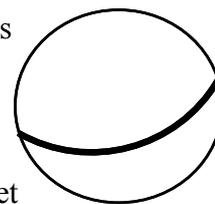
L'inverse du module du vecteur d'onde ( $q^{-1}$ ) peut être assimilé à l'échelle d'observation du système. De manière qualitative, voici par exemple ce qui est observable lorsqu'une solution diluée de polymère est étudiée à différentes échelles de  $q$ .

Aux faibles valeurs de  $q$ , l'échelle d'observation est large, le pouvoir séparateur est faible et les objets sont pratiquement des points. La grandeur qui peut être mesurée, si ces points sont indépendants, est leur masse molaire (essentiellement par diffusion de la lumière).



Aux valeurs de  $q$  plus importantes, les objets ne sont plus ponctuels et leurs dimensions globales deviennent mesurables. Les grandeurs alors mesurées sont les rayons de giration ( $R_G$ ) et hydrodynamique ( $R_H$ ) par diffusion de la lumière, des neutrons et des rayons X.

Aux grandes valeurs de  $q$ , la chaîne polymère peut être étudiée et les résultats ne dépendent alors ni de la masse molaire, ni de la concentration. Dans le cas d'objets de type micelles, leur structure interne est observable à cette échelle, ce qui permet d'accéder aux grandeurs telles que le rayon du cœur et l'épaisseur de la couronne (diffusion des neutrons et des rayons X).



Enfin, aux très grandes valeurs de  $q$ , la structure moléculaire de la chaîne polymère est observable. Les distances caractéristiques alors mesurées sont de l'ordre de quelques unités monomères (diffusion des neutrons et des rayons X).

Ainsi, les trois techniques de diffusion sont complémentaires et leur combinaison donne accès à un domaine de vecteur d'onde  $q$  assez large pour permettre de caractériser des échantillons polymères à différentes échelles spatiales.

Notons enfin que l'étude de l'intensité diffusée, en fonction du vecteur d'onde (c'est-à-dire en fonction de l'angle d'observation) nécessite la prise en compte d'un paramètre important, le contraste. En effet, tout comme en photographie où cette notion est essentielle pour obtenir une image de qualité, le contraste en diffusion va permettre de différencier l'intensité diffusée par l'échantillon de celle diffusée par l'environnement (par exemple le solvant). Le contraste trouve des origines différentes selon les techniques de diffusion (Tableau 3-1).

Technique de diffusion	Origine du contraste
Lumière	Différence d'indice de réfraction
Neutrons	Différence de longueur de diffusion cohérente entre les atomes
Rayons X	Différence de densité électronique

**Tableau 3-1 : Origine du contraste en fonction des techniques de diffusion**

## **II. L'AUTO-ASSEMBLAGE EN MASSE : GENERALITES**

Du fait même de sa structure et de l'incompatibilité entre les chaînes de polymère de nature chimique différente constituant un copolymère à blocs, celui-ci va pouvoir s'auto-organiser et donner une variété de morphologies de formes et de tailles différentes (sphères, cylindres, lamelles ...) en fonction de la fraction volumique de chaque bloc. Ce phénomène a été largement décrit depuis plus de vingt ans.<sup>1,2</sup> Longtemps, la majorité des études menées sur le phénomène de microséparation de phases induisant l'auto-assemblage a concerné des copolymères dont les blocs possèdent des énergies de cohésion similaires et où chaque bloc peut adopter une conformation flexible ou semi-flexible.<sup>3</sup> Dans ce cas, le phénomène de microséparation de phases est uniquement gouverné par l'incompatibilité entre les blocs constituant le copolymère.

La microséparation de phases dépend des paramètres thermodynamiques. Le processus d'auto-organisation survient lorsque l'entropie de mélange qui favorise la miscibilité ne parvient plus à contrebalancer le coût énergétique des contacts répulsifs entre les unités monomères A et B. Le mélange intime des deux blocs est alors énergétiquement défavorable, ce qui conduit à une séparation de phases. Toutefois, le lien covalent qui existe entre les deux blocs du copolymère empêche la ségrégation macroscopique observée dans le cas du mélange de deux homopolymères incompatibles. La minimisation des contacts répulsifs entre les deux chaînes ne peut donc se faire qu'au niveau microscopique sur une distance de l'ordre de la taille des blocs eux-mêmes. La variété des morphologies obtenues peut être enrichie par une asymétrie conformationnelle, en augmentant par exemple la rigidité de l'un des blocs,<sup>4,5</sup> ou bien en augmentant les contraintes entropiques au sein du copolymère, et ceci en jouant sur son architecture (copolymères de type miktoarm, ramifiés ou en étoile). Dans le premier cas, l'auto-assemblage de copolymères rigide-flexible n'est alors plus seulement dirigé par la microséparation de phases entre les blocs, mais également par la tendance des segments rigides à s'agréger pour former des domaines cristallins. La compétition entre les deux processus peut alors donner lieu à des morphologies différentes de celles communément observées dans le cas de copolymères de type flexible-flexible, ou conduire à des structures auto-assemblées d'échelles de tailles caractéristiques inaccessibles avec les copolymères flexibles.

Comme dans le cas de mélanges d'homopolymères, la force motrice de la séparation de phases est le paramètre d'interaction de Flory-Huggins  $\chi_{AB}$  représentant la force des interactions répulsives entre les blocs formant le copolymère, celui-ci mesure donc l'incompatibilité entre les blocs. Ainsi un  $\chi_{AB}$  positif indique une répulsion entre les chaînes alors qu'une valeur négative traduit une compatibilité entre les blocs. Deux autres paramètres influencent la microséparation de phases : le degré de polymérisation total  $N$  ( $N = N_A + N_B$ , avec  $N_A$  et  $N_B$  les degrés de polymérisation respectifs des blocs A et B) et les fractions volumiques des blocs constitutifs ( $f_A$  et  $f_B$ ,  $f_A + f_B = 1$ ). Le terme  $\chi N$ , aussi appelé paramètre réduit, illustre le pouvoir de ségrégation d'un copolymère à blocs. En fonction de sa valeur, on distingue trois régimes : un domaine de faible ségrégation ( $\chi N \approx 10$ ), un domaine de forte ségrégation ( $\chi N > 100$ ) et un domaine intermédiaire. D'autre part, on peut définir une force de ségrégation critique  $(\chi N)_c$  caractéristique du point de microséparation de phases et pour lequel on se trouve à la frontière entre les domaines ordonné et désordonné, c'est la « transition ordre-désordre ». A l'intérieur de la zone ordonnée, plusieurs types de structures peuvent être obtenues dont la morphologie est fonction de la fraction volumique des blocs A et B. Pour un copolymère dibloc symétrique où  $f_A \approx f_B$ , on observe une morphologie lamellaire constituée d'une succession de couches A et B. Pour une fraction volumique croissante du bloc A, on observe une morphologie cylindrique puis sphérique, constituée d'un coeur de bloc B et d'une matrice continue de bloc A. Ces phases ainsi que la position des frontières entre elles (Fig. 3-1) dépendent du régime de ségrégation défini ci-dessus.

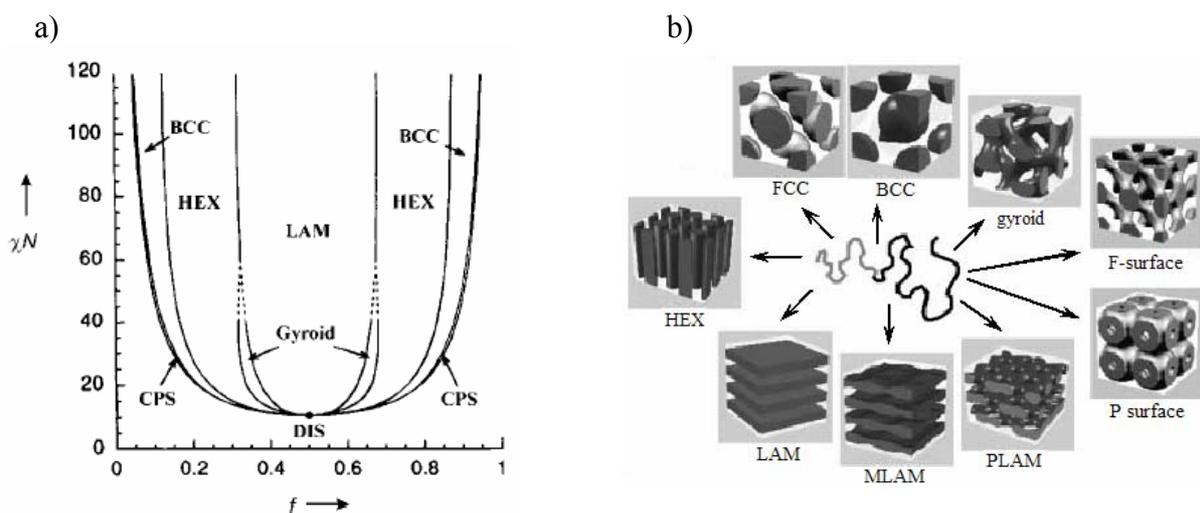


Fig. 3-1 : a) Diagramme de phases théorique d'un copolymère dibloc flexible-flexible<sup>3</sup> ; LAM lamellaire, HEX hexagonale, BCC cubique centrée, CPS cubique faces centrées, DIS désordonnée  
 b) Représentation des différentes morphologies observées pour un copolymère dibloc flexible-flexible<sup>6</sup>

Dans le cas de copolymères à blocs de type rigide-flexible, l'introduction du bloc rigide entraîne une asymétrie conformationnelle qui se traduit par une augmentation du paramètre d'interaction de Flory-Huggins  $\chi_{AB}$ . En outre, le paramètre réduit critique  $(\chi N)_c$  est plus faible ( $(\chi N)_c = 8,5$ ) que dans le cas des copolymères de type flexible-flexible ( $(\chi N)_c = 10,5$ ).<sup>7</sup> Pour ces deux raisons, la séparation de phases au sein de systèmes de type rigide-flexible peut avoir lieu pour de plus faibles masses molaires (faibles degrés de polymérisation  $N$ ) que dans le cas de systèmes de type flexible-flexible.

Ainsi, les structures supramoléculaires pouvant exister au sein de systèmes de type rigide-flexible ont pour origine la combinaison de trois grandes forces gouvernant l'organisation : (1) la répulsion mutuelle entre les blocs incompatibles, (2) la contrainte imposée par la liaison covalente entre les blocs et (3) la tendance des parties rigides à former des domaines orientés, ordonnés, voire cristallins. Les oligomères de type rigide-flexible sont d'un très grand intérêt dans la mesure où ils permettent d'accéder à des tailles caractéristiques de séparation de phases inaccessibles avec les copolymères diblocs flexible-flexible. En effet, alors que ces derniers forment des morphologies de taille en général comprise entre 10 et 100 nm, les copolymères rigide-flexible peuvent donner accès à des structures de taille caractéristique de l'ordre de quelques nanomètres ; on peut alors parler de nanoséparation de phases. Par ailleurs, l'utilisation de blocs rigides possédant des activités optiques ou électroniques est un moyen efficace de conférer des propriétés singulières aux matériaux supramoléculaires.

Contrairement au cas des copolymères de type flexible-flexible pour lesquels il existe un outil de modélisation des diagrammes de phases et ainsi de prédiction du phénomène d'auto-assemblage des copolymères diblocs linéaires,<sup>3,8</sup> une théorie générale capable de rendre compte du comportement en masse des copolymères rigide-flexible n'est pas encore disponible même si de nombreux groupes s'y consacrent,<sup>9-14</sup> donnant lieu à la construction de diagrammes de phases plus ou moins complexes de ces systèmes (Fig. 3-2). On peut remarquer que la phase lamellaire est extrêmement stabilisée par cette rigidité de la chaîne, puisqu'elle couvre la quasi-totalité du diagramme de phases.

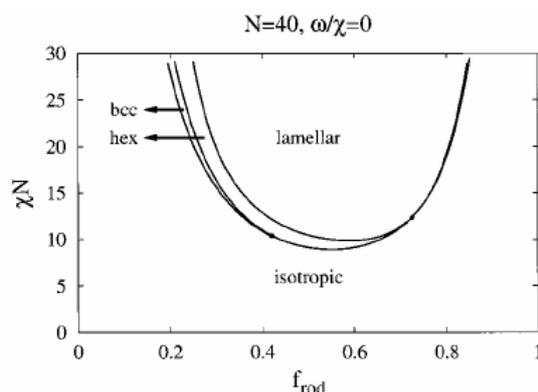


Fig. 3-2 : Diagramme de phases théorique simplifié d'un copolymère dibloc rigide-flexible<sup>13</sup>

Expérimentalement, un certain nombre de copolymères diblocs et triblocs de type rigide-flexible, leurs structures supramoléculaires et leurs propriétés ont été décrites dans la littérature.<sup>4,5,15-17</sup> Les copolymères à blocs composés d'un segment flexible et d'un segment polypeptidique représentent un cas particulier des systèmes rigide-flexible étant donné le caractère rigide apporté au polypeptide par sa conformation en hélice  $\alpha$ . De nombreux exemples de synthèse de ces copolymères di- et triblocs constitués de blocs flexibles PB, PI, PS, POE, PPO ou PLLA et de blocs rigides PBLG ou PLys et de l'étude de leur comportement en masse ont été rapportés.<sup>18</sup> Généralement, les auteurs observent la formation d'une phase lamellaire constituée d'un empilement de couches des deux polymères ainsi qu'une sous-structure hexagonale composée des chaînes de poly(acide  $\alpha$ -aminé) en hélice  $\alpha$ , c'est la morphologie « hexagonale dans lamellaire » (HL) (Fig. 3-3).<sup>19-24</sup>

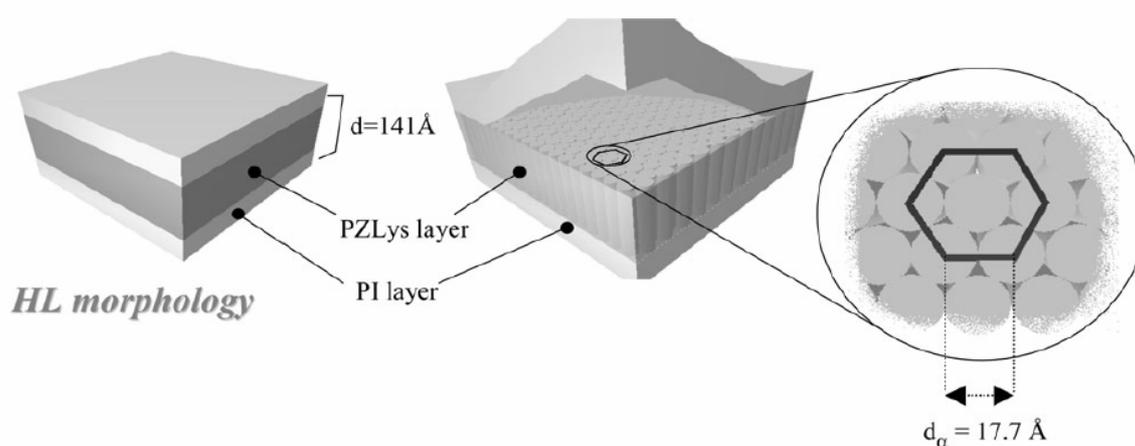
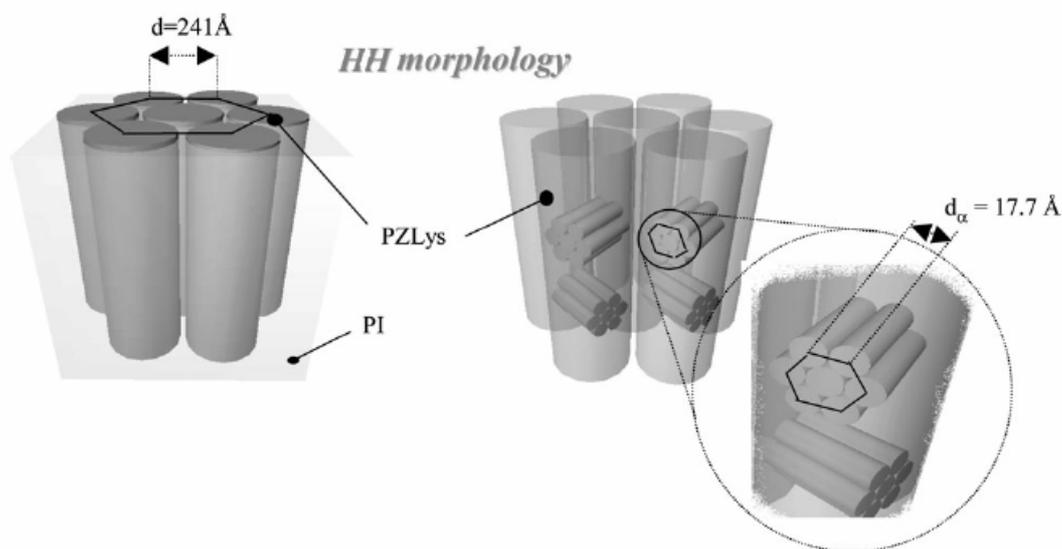


Fig. 3-3 : Représentation schématique de la morphologie « hexagonale dans lamellaire » (HL)<sup>24</sup>

Plus rarement, dans le cas de systèmes très asymétriques, certains auteurs ont observé la formation d'une morphologie « hexagonale dans hexagonale » (HH) <sup>24,25</sup> (Fig. 3-4) rapportée pour la première fois par Klok *et al.* en 2000.<sup>26</sup>



**Fig. 3-4 : Représentation schématique de la morphologie « hexagonale dans hexagonale » (HH)<sup>24</sup>**

En outre, un travail dans le régime oligomère permet d'utiliser les propriétés de changement de conformation des poly(acide  $\alpha$ -aminé)s pour préparer des systèmes « stimulables » dont l'organisation et la morphologie vont changer sous l'effet de la température.<sup>26,27</sup>

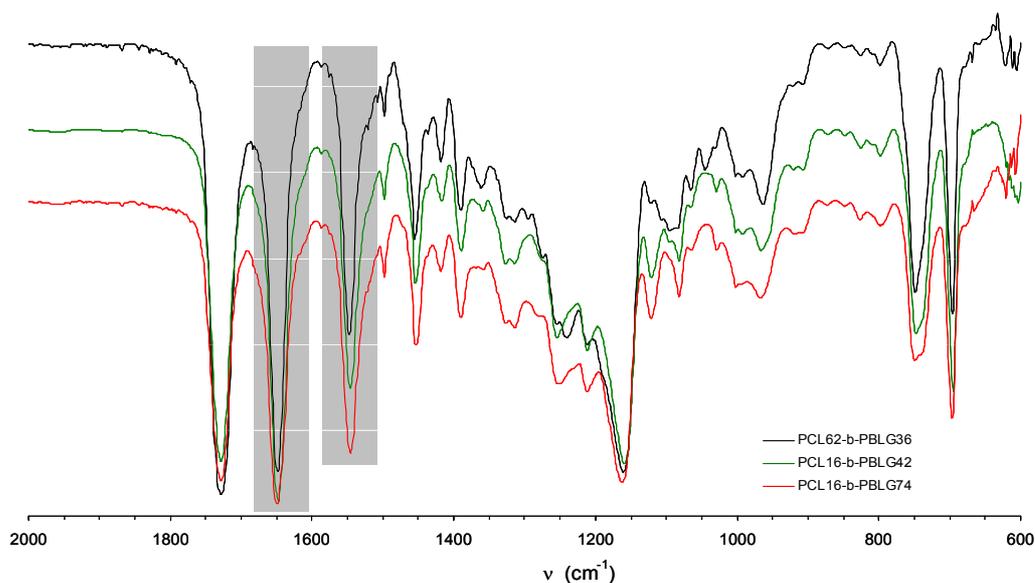
### **III. ORGANISATION A L'ETAT SOLIDE DES SYSTEMES RIGIDE-FLEXIBLE PCL-*b*-PBLG ET PTMC-*b*-PBLG**

Dans la suite de cette partie, nous allons présenter les résultats de l'étude du comportement à l'état solide des copolymères de type rigide-flexible PCL-*b*-PBLG et PTMC-*b*-PBLG de différentes compositions. L'objectif est de déterminer leurs propriétés structurales et les morphologies supramoléculaires que ceux-ci peuvent former.

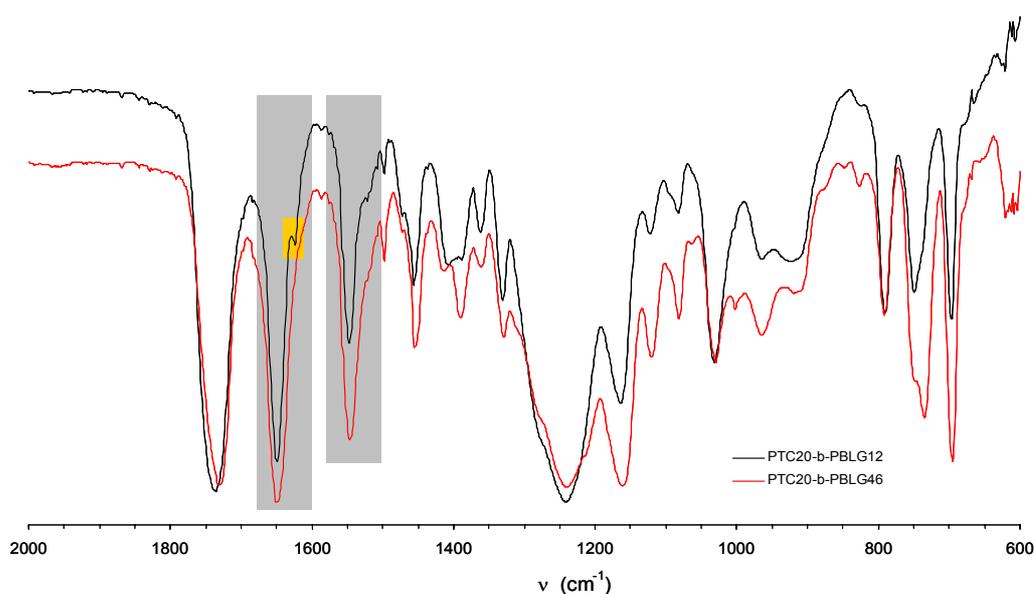
#### **III.1. Etude structurale préliminaire**

L'analyse des bandes amides I (élongation de la liaison C=O) et amide II (élongation et déformation de la liaison N-H) en spectroscopie Infra-Rouge à Transformée de Fourier (IRTF) est souvent utilisée pour explorer la conformation des poly(acide  $\alpha$ -aminé)s.

Tandis que les bandes d'absorption situées à  $1655\text{ cm}^{-1}$  (amide I) et  $1546\text{-}1548\text{ cm}^{-1}$  (amide II) sont caractéristiques d'une hélice  $\alpha$  de pas droit, les bandes d'absorption situées à  $1668\text{ cm}^{-1}$  et  $1555\text{-}1557\text{ cm}^{-1}$  sont caractéristiques d'une hélice  $\alpha$  de pas gauche. La bande amide I correspondant à la conformation en feuillet  $\beta$  parallèle se situe quant à elle vers  $1636\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$  et est déplacée vers  $1622\text{-}1632\text{ cm}^{-1}$  pour la conformation en feuillet  $\beta$  antiparallèle. Les spectres en transmission correspondants aux copolymères à blocs PCL-*b*-PBLG et PTMC-*b*-PBLG de différentes compositions sont présentés sur les Fig. 3-5 & Fig. 3-6.



**Fig. 3-5 : Spectres IRTF de copolymères PCL-*b*-PBLG de différentes compositions**



**Fig. 3-6 : Spectres IRTF de copolymères PTMC-*b*-PBLG de différentes compositions**

Pour tous les copolymères, on constate la présence des bandes amide I à  $1655\text{ cm}^{-1}$  et amide II à  $1550\text{ cm}^{-1}$  caractéristiques d'une conformation en hélice  $\alpha$  de pas droit. Dans le cas du copolymère PTMC<sub>20</sub>-*b*-PBLG<sub>12</sub> ( $\phi_{\text{PTMC}} = 44\%$ ) et uniquement dans ce cas où le bloc PBLG est très court, une bande supplémentaire proche de  $1630\text{ cm}^{-1}$  est observée, ce qui démontre que les blocs PBLG adoptent également une structure secondaire en feuillet  $\beta$  à température ambiante et que, dans ce cas précis, il y a coexistence entre les deux conformations avec une part très minoritaire de feuillets  $\beta$ . Ces résultats mettent en évidence la stabilisation de la structure en hélice  $\alpha$  du bloc PBLG grâce à la copolymérisation et sont en accord avec les observations précédemment faites par Klok *et al.* sur des systèmes de copolymères PS<sub>10</sub>-*b*-PBLG<sub>10</sub> et PS<sub>10</sub>-*b*-PBLG<sub>20</sub>.<sup>26</sup>

Cette étude structurale préliminaire par spectroscopie IRTF nous a permis de confirmer le caractère rigide du segment poly(acide  $\alpha$ -aminé) de nos copolymères (structure en hélice  $\alpha$ ). La partie flexible des copolymères correspond quant à elle aux blocs PCL ou PTMC.

### **III.2. Etude thermique**

L'analyse thermique par DSC de différents échantillons de copolymère PCL-*b*-PBLG de composition variable, permet de confirmer la structure à blocs de nos copolymères puisque on observe simultanément, la température de transition vitreuse ( $T_g$ ) et la température de fusion ( $T_f$ ) du segment PCL, se situant respectivement vers  $-60^\circ\text{C}$  et  $50\text{-}55^\circ\text{C}$ , ainsi que la transition thermique habituelle du segment PBLG ( $T_{LC}$  vers  $110^\circ\text{C}$ ) caractéristique du changement de conformation de l'hélice  $7/2$  en hélice  $\alpha$   $18/5$  et sa température de transition vitreuse ( $T_g$  vers  $10\text{-}15^\circ\text{C}$ ). Cette dernière n'est observée que lors du deuxième chauffage et pour des copolymères présentant un bloc PBLG relativement long (Fig. 3-7 & Fig. 3-8).<sup>28,29</sup>

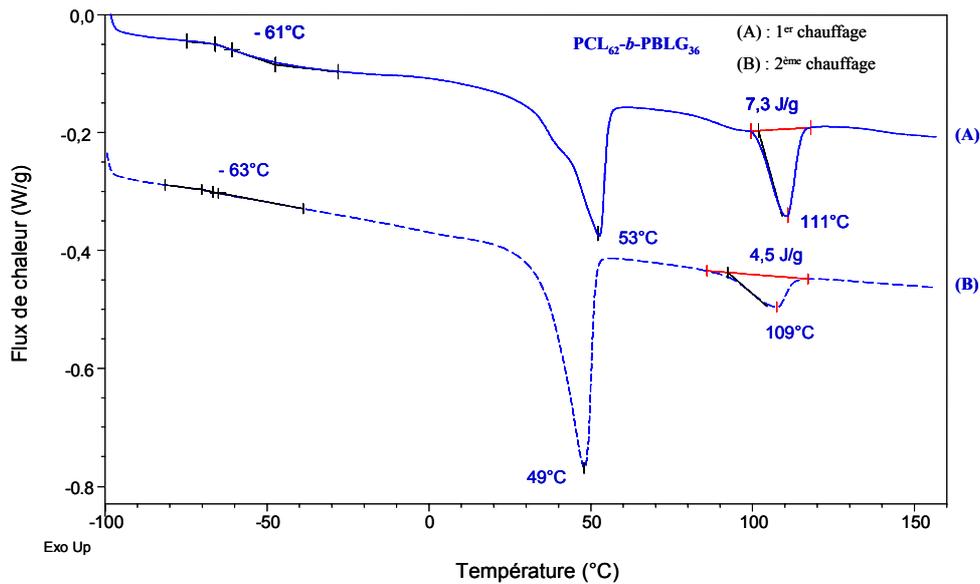


Fig. 3-7 : Analyse DSC de l'échantillon PCL<sub>62</sub>-b-PBLG<sub>36</sub>

Lorsque la composition des copolymères varie, on observe une évolution relativement importante de ces transitions. Notamment, pour de courtes chaînes de PCL, plus le pourcentage molaire de PCL présent dans le copolymère diminue plus les transitions relatives à ce polymère sont faibles et deviennent donc difficiles à observer ; elles peuvent disparaître ou bien être déplacées (Fig. 3-8, Fig. 3-9 & Fig. 3-10). Ce phénomène peut vraisemblablement être attribué à une diminution importante de la mobilité des segments PCL lorsque le segment PBLG, très rigide par nature, augmente en taille. Cette diminution de mobilité (effet de confinement) entraînerait une inhibition progressive, avec l'augmentation de taille du segment PBLG, du phénomène de cristallisation et une augmentation de la température de transition vitreuse.

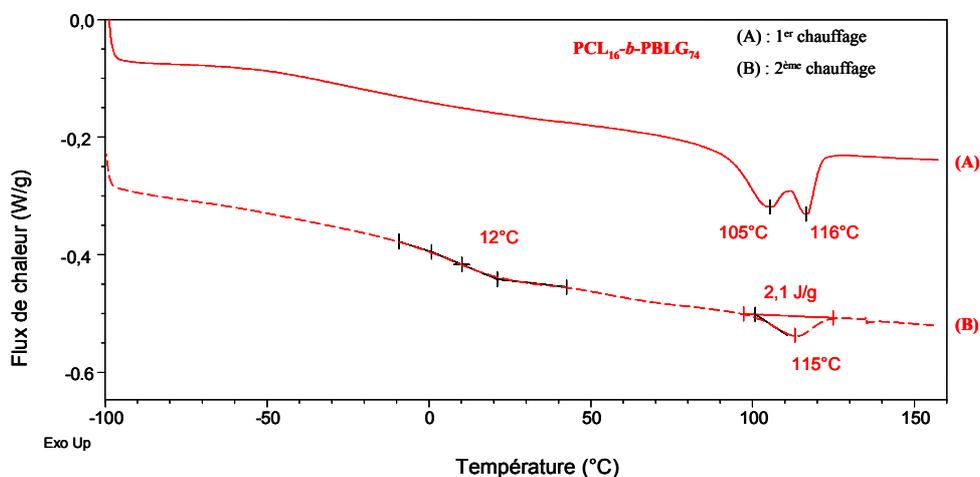


Fig. 3-8 : Analyse DSC de l'échantillon PCL<sub>16</sub>-b-PBLG<sub>74</sub>

En ce qui concerne le bloc PBLG, la transition observée vers 110°C, habituellement attribuée au changement irréversible de conformation de l'hélice 7/2 en hélice  $\alpha$  18/5 évolue notablement en forme et en intensité. En particulier, cette transition devient bimodale, avec un pic situé vers 90-105°C et un pic situé vers 105-115°C respectivement plus intense et moins intense au fur et à mesure que la fraction massique en PBLG augmente (Fig. 3-9, Fig. 3-10 & Fig. 3-8). En outre, la première des deux transitions est irréversible tandis que la seconde est également observée lors du deuxième chauffage, ce qui laisse supposer qu'elle est réversible.

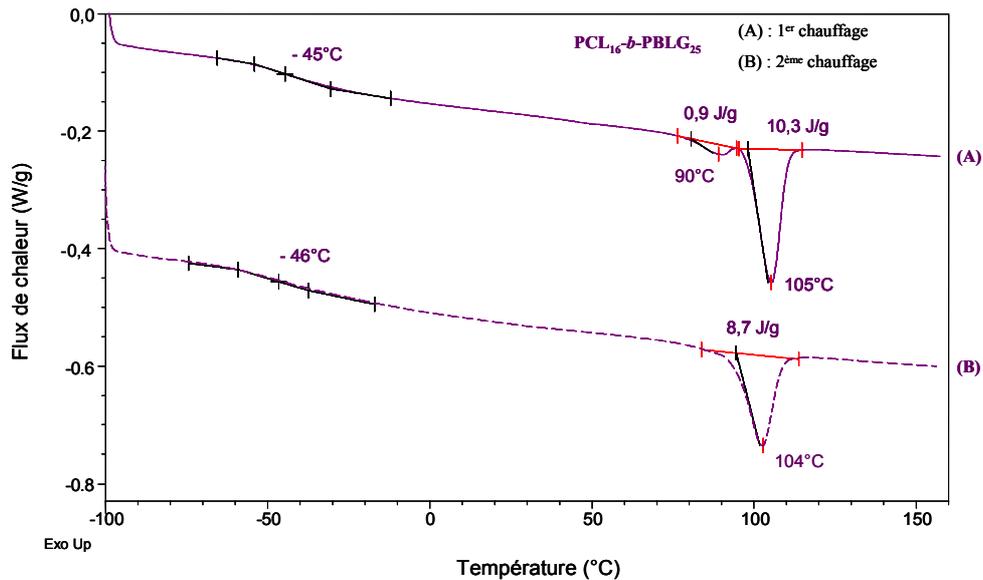


Fig. 3-9 : : Analyse DSC de l'échantillon PCL<sub>16</sub>-b-PBLG<sub>25</sub>

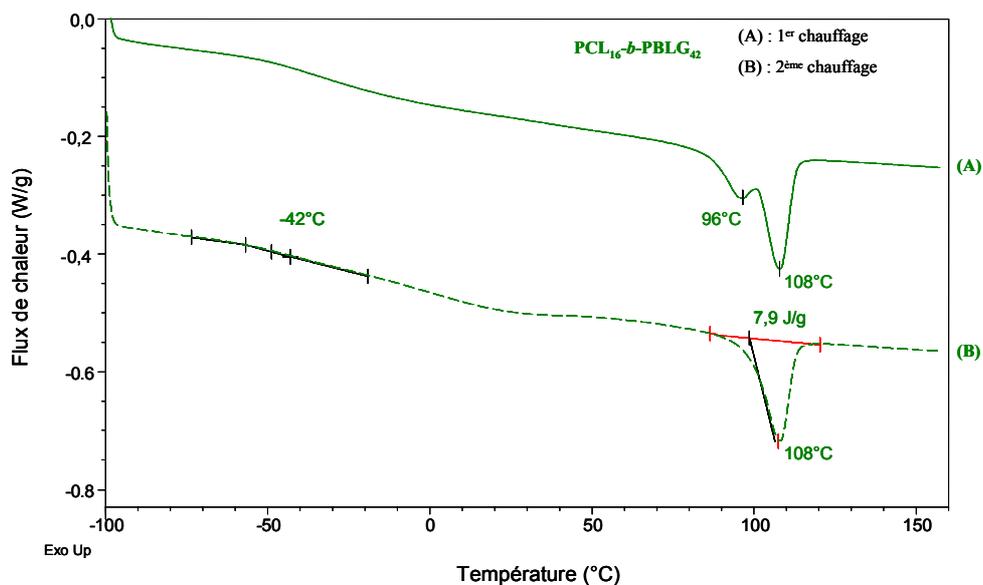


Fig. 3-10 : Analyse DSC de l'échantillon PCL<sub>16</sub>-b-PBLG<sub>42</sub>

Le comportement thermique observé pour le bloc PBLG semble donc complexe, mais on peut cependant émettre quelques hypothèses :

- lors de la précipitation sélective du copolymère le segment PBLG pourrait adopter deux structures cristallines de stabilité légèrement différente, dont l'une d'entre elles correspond au changement irréversible de conformation de l'hélice 7/2 en hélice  $\alpha$  18/5 ( $T_{LC} = 90-105^{\circ}\text{C}$ ),
- la réversibilité de la seconde transition pourrait s'expliquer par une structure beaucoup moins compacte que la précédente, notamment en ce qui concerne les liaisons intramoléculaires, c'est pourquoi elle pourrait se reformer plus facilement,
- l'existence de cette seconde forme cristalline du PBLG pourrait être liée à la présence du bloc PCL qui aurait pour effet de « polluer » le bloc PBLG par formation d'interactions entre les groupes ester et amide (co-cristallisation).

L'analyse par DSC des copolymères PTMC-*b*-PBLG conduit à des observations analogues et à des conclusions similaires. Les transitions observées confirment la structure à bloc de ces copolymères puisque à côté de la transition vitreuse du PTMC ( $T_g$  vers  $-20^{\circ}\text{C}$ ), on observe la transition vitreuse du PBLG ( $T_g$  vers  $15^{\circ}\text{C}$ ) et la transition attribuée au changement de conformation de l'hélice  $\alpha$  ( $T_{LC}$  vers  $110^{\circ}\text{C}$ ) (Fig. 3-11).

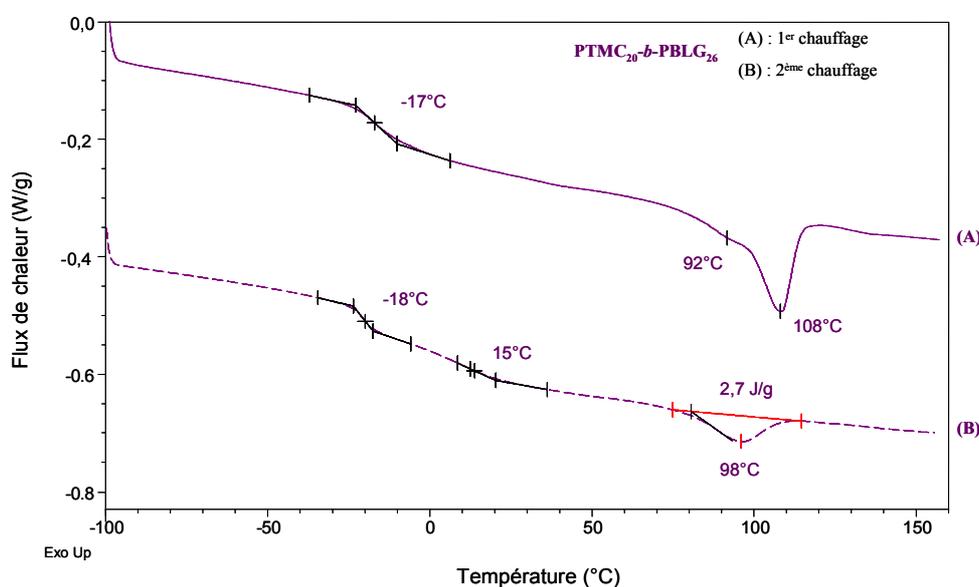


Fig. 3-11 : Analyse DSC de l'échantillon PTMC<sub>20</sub>-*b*-PBLG<sub>26</sub>

On peut également noter, dans le cas de ces copolymères, une évolution notable en terme de position, intensité et forme de ces transitions avec la composition. Pour le segment PTMC, la température de transition vitreuse augmente de  $-20^{\circ}\text{C}$  à  $-14^{\circ}\text{C}$  avec la fraction massique en PBLG (Fig. 3-12, Fig. 3-13 & Fig. 3-14), phénomène à nouveau attribué à une diminution de

la mobilité de ces segments associée à la présence d'un bloc rigide (PBLG) de plus en plus long.

Pour le segment PBLG, on observe, comme avec la PCL, une bimodalité de la transition habituellement attribuée au changement irréversible de conformation de l'hélice 7/2 en hélice  $\alpha$  18/5 avec un pic situé vers 95-105°C et un pic situé vers 105-115°C respectivement plus intense et moins intense au fur et à mesure que la fraction molaire en PBLG augmente. En outre, comme dans le cas précédent, la seconde transition est réversible (tandis que la première ne l'est pas) avec, dans ce cas particulier, un déplacement du pic vers les plus basses températures lors du deuxième chauffage ce qui traduirait une meilleure organisation de la seconde forme cristalline du PBLG après recuit.

L'analyse thermique des copolymères PTMC-*b*-PBLG confirme donc les hypothèses faites dans le cas des échantillons de copolymères PCL-*b*-PBLG.

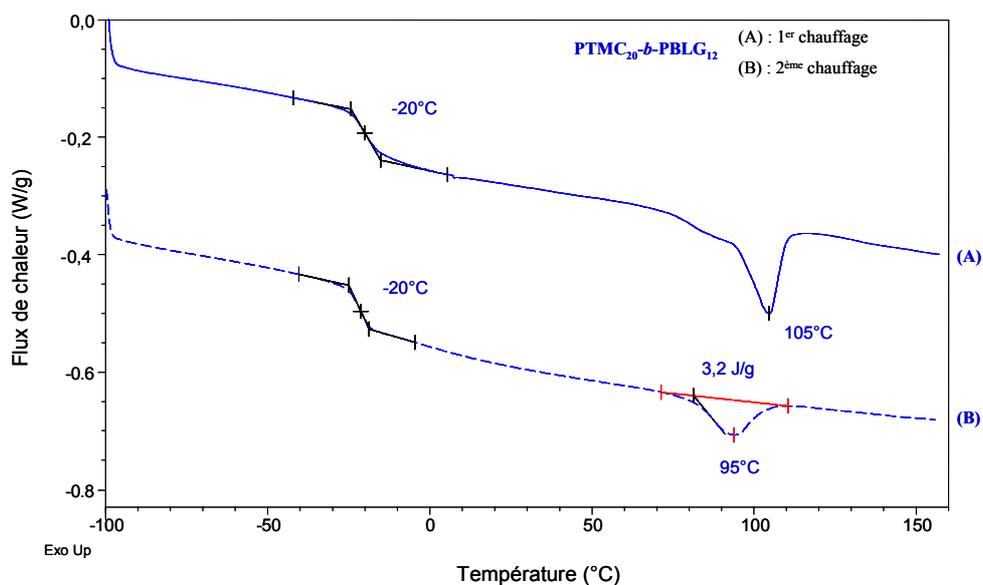


Fig. 3-12 : Analyse DSC de l'échantillon PTMC<sub>20</sub>-*b*-PBLG<sub>12</sub>

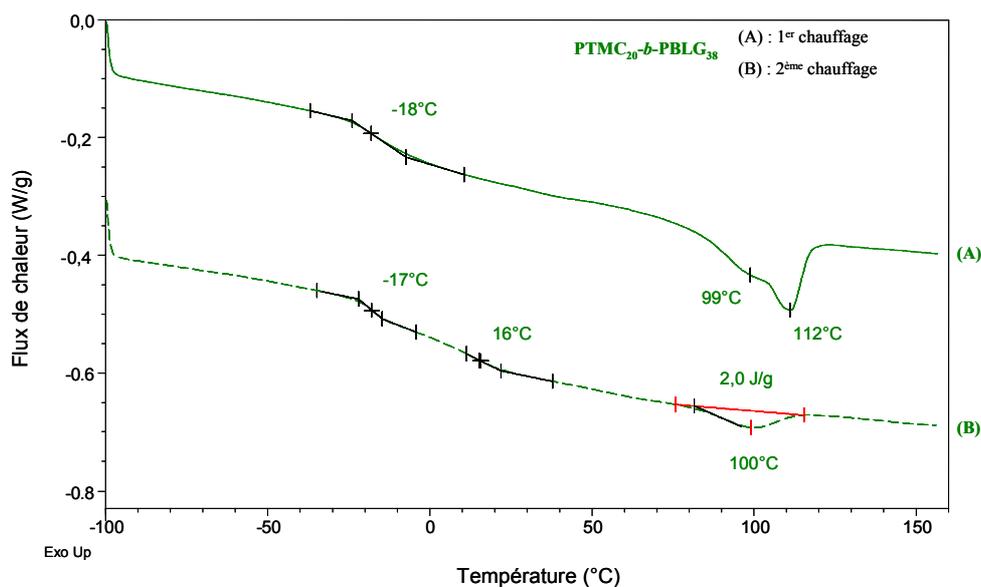


Fig. 3-13 : Analyse DSC de l'échantillon PTMC<sub>20</sub>-b-PBLG<sub>38</sub>

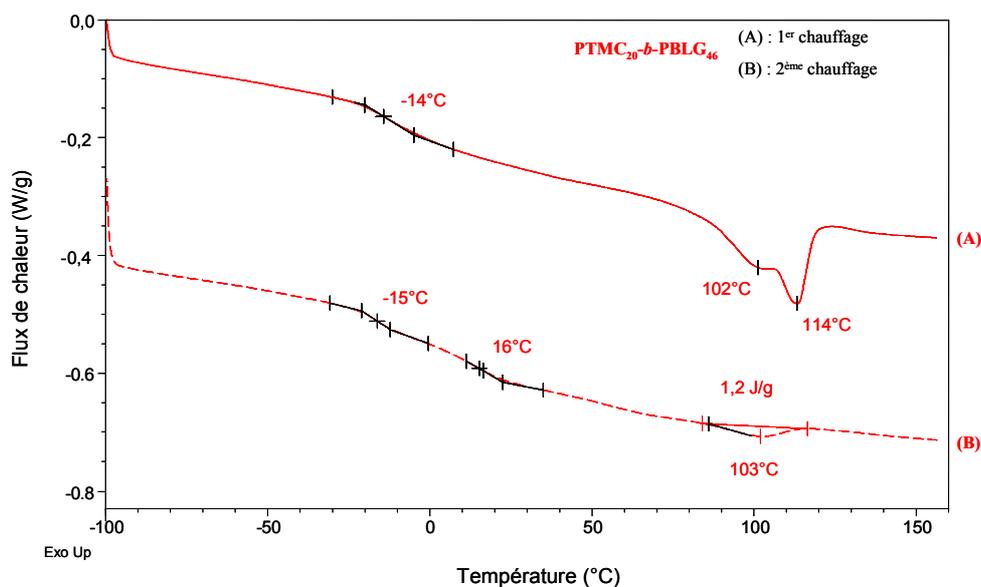


Fig. 3-14 : Analyse DSC de l'échantillon PTMC<sub>20</sub>-b-PBLG<sub>46</sub>

**Conclusions / commentaires :**

Ces analyses thermiques en DSC nous ont permis, d'une part, en complément des précédentes informations obtenues par les caractérisations par RMN et CES, de confirmer l'obtention de la structure à blocs des copolymères polyester-*b*-poly(L-glutamate de  $\gamma$ -benzyle) et, d'autre part, de mettre en évidence une séparation de phases au sein de nos architectures à blocs à l'état solide. Elles nous ont également permis de mettre en évidence, pour la première fois dans ce type de copolymères, un deuxième état d'organisation des segments PBLG au sein des copolymères.

### III.3. Organisation locale et à grande échelle

#### III.3.1. Organisation locale

Afin de caractériser l'organisation locale des blocs PBLG dans les différents échantillons de copolymères, nous avons réalisé des mesures de diffusion des rayons X aux grands angles (WAXS) sur différents échantillons de copolymères PCL-*b*-PBLG. Les profils de l'intensité diffusée mesurés en fonction du vecteur d'onde ( $q$ ), pour des copolymères de compositions extrêmes PCL<sub>62</sub>-*b*-PBLG<sub>36</sub> ( $\phi_{\text{PCL}} = 48\%$ ) et PCL<sub>16</sub>-*b*-PBLG<sub>74</sub> ( $\phi_{\text{PCL}} = 10\%$ ), à température ambiante, sont présentés sur la Fig. 3-15.

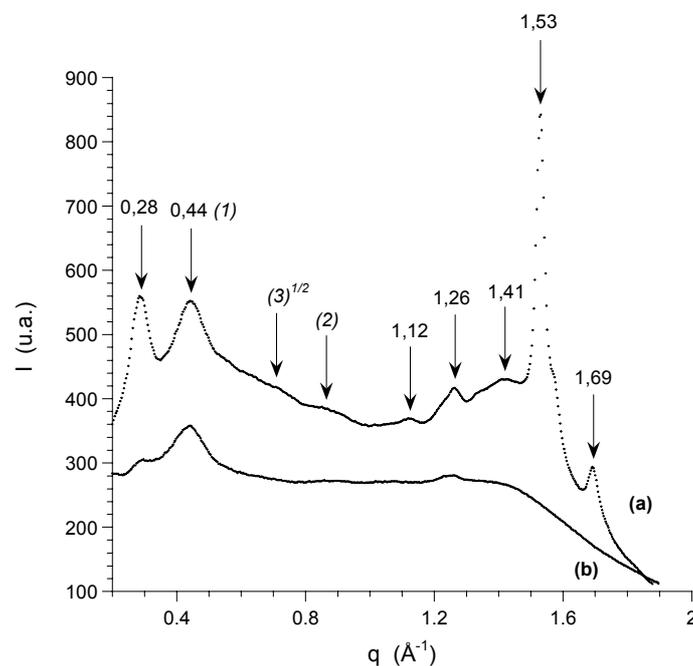


Fig. 3-15 : Profils d'intensité diffusée en WAXS à température ambiante pour les copolymères PCL<sub>62</sub>-*b*-PBLG<sub>36</sub> (a) et PCL<sub>16</sub>-*b*-PBLG<sub>74</sub> (b)

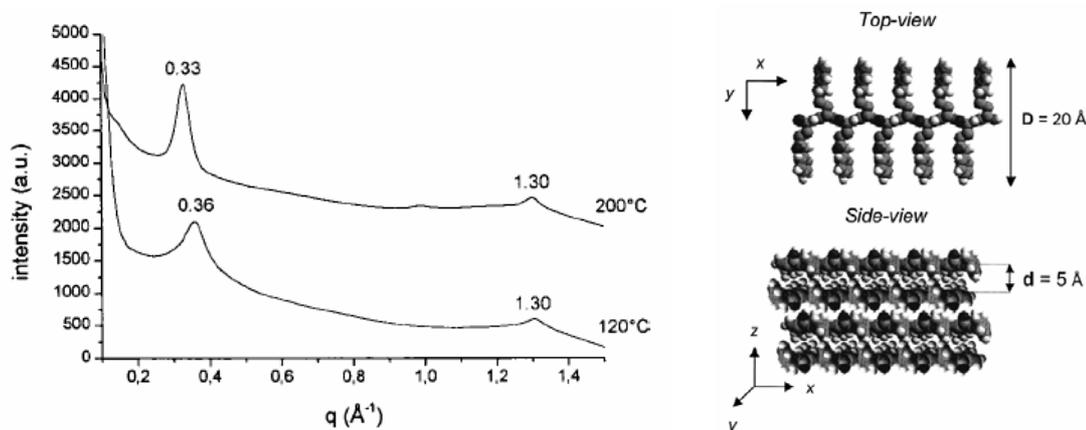
La superposition des deux profils d'intensité diffusée permet d'attribuer les différents pics à chacun des deux blocs. En effet, dans le cas du copolymère contenant une fraction molaire en PCL de 48%, on observe une série de pics à 1,12 : 1,41 : 1,53 et 1,69  $\text{\AA}^{-1}$  qui n'apparaissent pas dans le cas du copolymère contenant une fraction molaire en PCL de 10%. Nous avons donc attribué cette série de pics à l'organisation locale du bloc PCL semi-cristallin. En outre, ces résultats sont en accord avec les observations faites en DSC concernant l'inhibition du caractère cristallin du bloc PCL, dans le cas de copolymères contenant une faible fraction de PCL.

Les pics situés à 0,28, 0,44 et 1,26  $\text{\AA}^{-1}$  sont attribués à l'organisation locale du bloc PBLG en accord avec la littérature. Le pic situé à 0,44  $\text{\AA}^{-1}$  correspond à la première réflexion de la série

de pics de Bragg d'ordre 1 :  $\sqrt{3}$  : 2, caractéristique de la structure colonnaire hexagonale formée par les poly(acide  $\alpha$ -aminé)s en hélice  $\alpha$  ; la faible intensité des réflexions d'ordres  $\sqrt{3}$  et 2 traduit alors un agencement des hélices peu ordonné. Dans la majorité des systèmes de copolymères à blocs à base de poly(acide  $\alpha$ -aminé)s, les pics d'ordre  $\sqrt{3}$  et 2 sont généralement peu intenses voire inexistant à température ambiante. Seul un travail à plus haute température ( $> 150^\circ\text{C}$ ) permet habituellement d'améliorer l'ordre et ainsi d'observer par WAXS la série complète des pics de Bragg d'ordre 1 :  $\sqrt{3}$  : 2. Concernant maintenant les pics situés à 0,28 et 1,26  $\text{\AA}^{-1}$ , étant donné que les analyses par spectroscopie IRTF ont mis en évidence l'absence d'une structure en feuillet  $\beta$  des segments de PBLG, on peut penser à juste titre que ce pic traduise l'organisation des segments de PBLG qui adoptent une structure différente de l'hélice  $\alpha$  et non identifiée, observée lors des analyses en DSC (voir Partie 2 – Chapitre III) et qui serait induite par la présence du bloc polyester (nous l'appellerons par la suite structure  $\zeta$  pour plus de clarté).

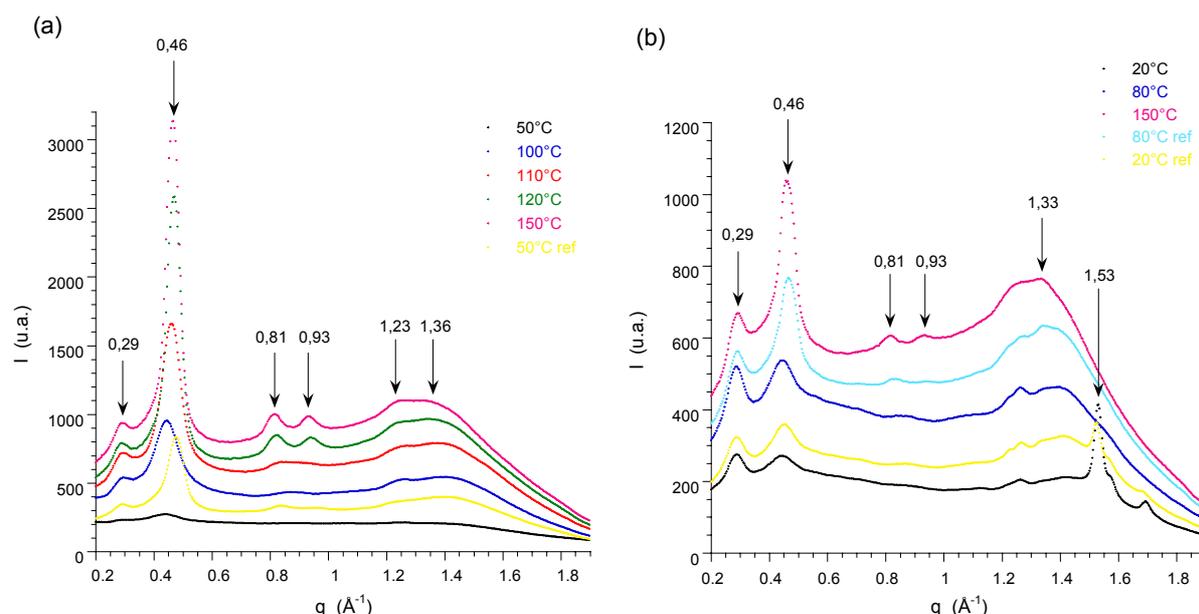
**Remarque :**

La série de pics de Bragg correspondant à une organisation lamellaire des chaînes de PBLG avec une structure en feuillet  $\beta$  est localisée vers 0,35 et 1,30  $\text{\AA}^{-1}$  (Fig. 3-16).<sup>26</sup>



**Fig. 3-16 :** Profils d'intensité diffusée en WAXS à différentes températures pour des copolymères  $\text{PS}_{10}\text{-}b\text{-PBLG}_{10}$  où les chaînes de PBLG sont structurés en feuillet  $\beta$  selon le modèle présenté à droite<sup>26</sup>

Nous avons ensuite étudié les deux échantillons de copolymères précédents à différentes températures (Fig. 3-17).



**Fig. 3-17 : Profils d'intensité diffusée en WAXS pour les copolymères PCL<sub>16</sub>-*b*-PBLG<sub>74</sub> (a) et PCL<sub>62</sub>-*b*-PBLG<sub>36</sub> (b) à différentes températures**

Dans les deux cas, on voit effectivement apparaître très distinctement avec l'élévation de température, la série complète des pics de Bragg d'ordre 1 :  $\sqrt{3}$  : 2 situés à 0,46 : 0,81 et 0,93  $\text{\AA}^{-1}$  caractéristique d'une phase de symétrie hexagonale cylindrique formée par les chaînes de PBLG en hélice  $\alpha$ . La périodicité ( $d_\alpha$ ) de cette structure hexagonale, calculée à partir du pic de premier ordre (0,46  $\text{\AA}^{-1}$ ), correspond à la distance intermoléculaire entre deux chaînes de PBLG voisines (= diamètre de l'hélice) et vaut environ 1,6 nm. De plus, le pic de diffusion relativement large situé vers 1,3  $\text{\AA}^{-1}$ , apparaissant lui aussi beaucoup plus nettement avec la température, est attribué au pas de l'hélice  $\alpha$  et à la distance moyenne ( $\sim 5 \text{\AA}$ ) entre les cycles aromatiques du bloc PBLG. Conformément aux analyses complémentaires effectuées par spectroscopie IRTF en température, on n'observe pas l'apparition d'une organisation lamellaire de feuillet  $\beta$  de segments PBLG avec la température.

Dans le cas du copolymère PCL<sub>62</sub>-*b*-PBLG<sub>36</sub> (Fig. 3-17 / b) dont la composition permet d'observer les pics attribués à l'organisation semi-cristalline locale du bloc PCL, contrairement au copolymère PCL<sub>16</sub>-*b*-PBLG<sub>74</sub>, ceux-ci disparaissent logiquement avec la température puisqu'on est alors au-dessus de la température de fusion du bloc PCL et réapparaissent lorsqu'on redescend en température et que le bloc PCL recristallise. En outre, la cristallisation du bloc PCL ne semble pas perturber l'organisation locale des segments de PBLG.

Dans le cas d'un échantillon de composition intermédiaire PCL<sub>16</sub>-*b*-PBLG<sub>25</sub>, pour lequel le bloc PBLG possède un degré de polymérisation suffisamment petit pour donner lieu

à un changement de conformation avec la température, on observe effectivement l'apparition d'un pic situé à  $0,37 \text{ \AA}^{-1}$  caractéristique de la structure lamellaire formée par les feuilletts  $\beta$  de PBLG (Fig. 3-18).

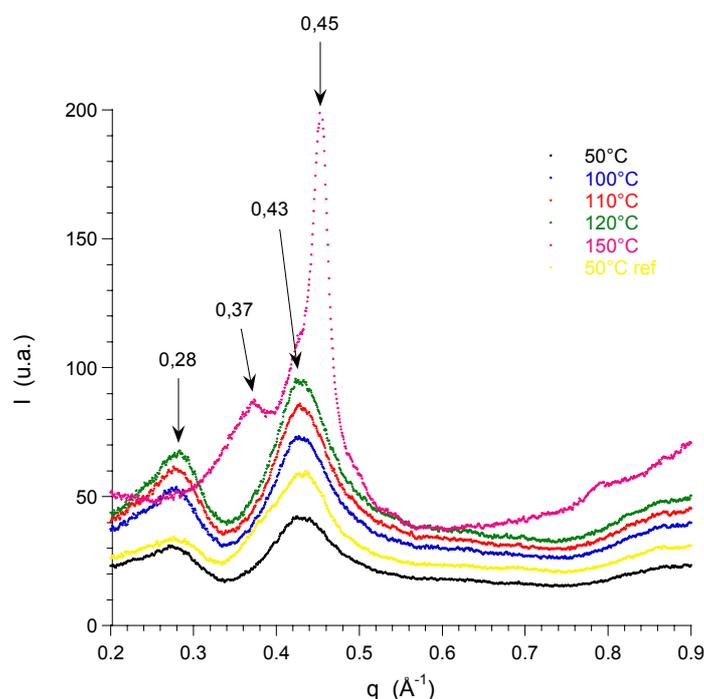
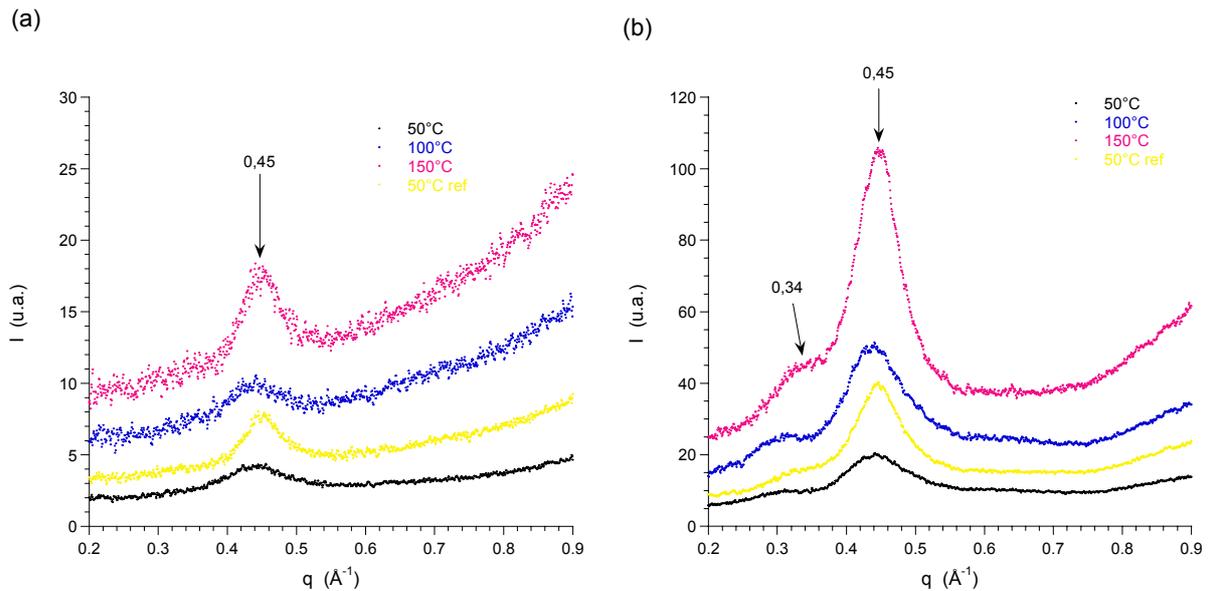


Fig. 3-18 : Profils d'intensité diffusée en WAXS pour le copolymères  $\text{PCL}_{16}\text{-}b\text{-PBLG}_{25}$  à différentes températures

En outre, on observe également avec l'apparition de la structure en feuillet  $\beta$ , la déstabilisation de la structure  $\zeta$  puisque le pic situé à  $0,28 \text{ \AA}^{-1}$  attribué à l'organisation de segments de PBLG présent dans une structure  $\zeta$  disparaît complètement. Dans le même temps, l'affinement du pic situé à  $0,43 \text{ \AA}^{-1}$ , caractéristique d'une phase de symétrie hexagonale cylindrique formée par les chaînes de PBLG en hélice  $\alpha$  ainsi que son léger déplacement vers les plus grandes valeurs de  $q$ , traduit une réorganisation en une phase hexagonale plus ordonnée et plus compacte que la précédente.

En ce qui concerne les copolymères à blocs PTMC- $b$ -PBLG, nous avons observé un comportement en masse différent de celui des copolymères PCL- $b$ -PBLG. En effet, même si les analyses en DSC ont précédemment conduit aux mêmes observations quelle que soit la nature du bloc polyester avec la présence de deux structures différentes des segments PBLG (une structure non identifiée  $\zeta$  et une conformation en hélice  $\alpha$ ), il n'en est pas de même pour l'organisation de ces structures à l'échelle locale (Fig. 3-19).



**Fig. 3-19 : Profils d'intensité diffusée en WAXS pour le copolymère PTMC<sub>20</sub>-*b*-PBLG<sub>46</sub> (a) et PTMC<sub>20</sub>-*b*-PBLG<sub>12</sub> (b) à différentes températures**

Si le pic situé à  $0,45 \text{ \AA}^{-1}$  correspond avec certitude à la première réflexion de la série de pics de Bragg d'ordre  $1 : \sqrt{3} : 2$ , caractéristique de l'organisation colonnaire hexagonale des hélices  $\alpha$  de segments de PBLG, l'élévation de température ne permet pas, contrairement au cas précédent, d'observer les réflexions suivantes d'ordres  $\sqrt{3}$  et 2. Cela traduit une perturbation de l'organisation locale des blocs PBLG : les deux structures différentes des segments de PBLG sont bien présentes, comme le montre les analyses en DSC, mais elles ne s'organisent pas de manière aussi structurée que dans le cas de copolymères PCL-*b*-PBLG. Nous avons attribué ces résultats à une moins grande incompatibilité entre les blocs PTMC et PBLG qu'entre les blocs PCL et PBLG.

### III.3.2. Organisation à grande échelle

Afin de caractériser l'organisation à plus grande échelle des blocs PBLG dans les différents copolymères à blocs, nous avons réalisé des mesures de diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS) sur les mêmes échantillons de copolymères PCL-*b*-PBLG. Les profils de l'intensité diffusée mesurée en fonction du vecteur d'onde ( $q$ ) pour le copolymère de composition PCL<sub>16</sub>-*b*-PBLG<sub>25</sub>, à différentes températures, sont présentés sur la Fig. 3-20.

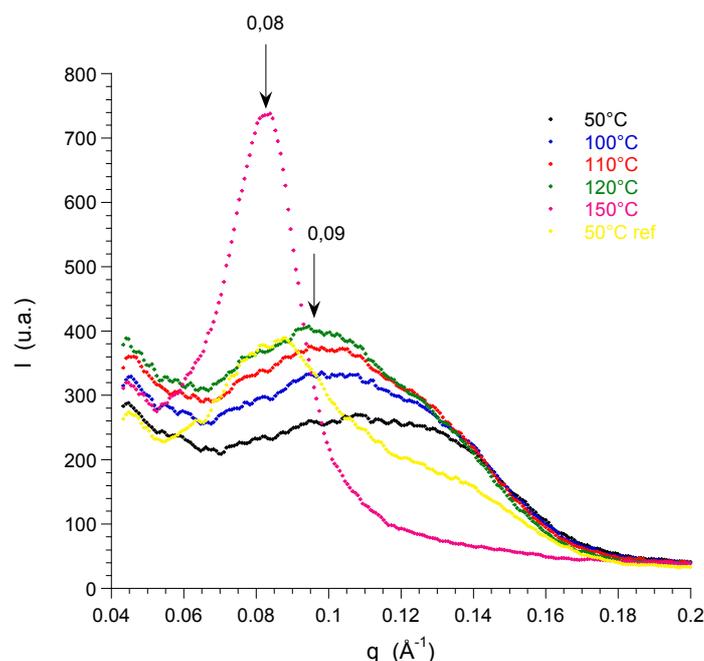


Fig. 3-20 : Profils d'intensité diffusée en SAXS pour le copolymère PCL<sub>16</sub>-b-PBLG<sub>25</sub> à différentes températures

Les profils de diffusion ne font apparaître clairement qu'un large pic qui n'est malheureusement pas suffisant pour associer ces profils d'intensité à des morphologies spécifiques. Cependant, étant donné que les travaux publiés sur ce type de copolymères rapportent, pour la plupart, la formation d'une phase lamellaire constituée d'un empilement de couches des deux polymères, on peut supposer que le pic que nous observons corresponde à la première réflexion de la série de pics de Bragg d'ordre 1 : 2 : 3 : 4 ... caractéristique d'une morphologie lamellaire. La largeur du pic de diffusion et l'absence de pics supplémentaires indiquent que ces structures sont peu ordonnées, ce qui a souvent été rapporté.<sup>23,25,30</sup>

Par ailleurs, Schlaad et coll. ont récemment montré l'influence de la distribution des tailles des chaînes polypeptidiques sur la superstructure lamellaire avec l'observation d'un pic de diffusion de plus en plus large avec l'augmentation de la distribution des tailles et la formation d'une phase lamellaire de plus en plus désordonnée.<sup>31</sup>

Comme dans le cas de l'étude de l'organisation à l'échelle locale, l'élévation de température permet toutefois d'observer un système un peu plus ordonné (affinement du pic de diffusion). Par ailleurs, la préparation de films de copolymères suivant une méthode d'évaporation lente<sup>†</sup> permet d'améliorer le processus de microséparation de phases (on se rapproche de l'équilibre thermodynamique) et ainsi d'observer, dans certains cas, la série de pics de Bragg

<sup>†</sup> Cette méthode consiste en la solubilisation des copolymères dans un bon solvant des deux blocs puis en l'évaporation lente du solvant.

caractéristique d'une morphologie lamellaire jusqu'à l'ordre 6.<sup>32</sup> Toutefois, il a récemment été montré au laboratoire que les résultats observés avec cette méthode de préparation de films dépendent fortement de la cinétique d'évaporation.<sup>32</sup> En effet, alors que la préparation d'un film de copolymère PS-*b*-PBLG par évaporation lente (7 à 10 jours) entraîne la formation d'une structure lamellaire ordonnée, la préparation d'un second film à partir du même échantillon par évaporation rapide (2 jours) entraîne la formation d'une structure lamellaire peu ordonnée avec un pic de diffusion large (Fig. 3-21).

Dans notre cas, la préparation de films par évaporation (5 jours) n'a pas permis d'observer de pics de diffusion supplémentaires.

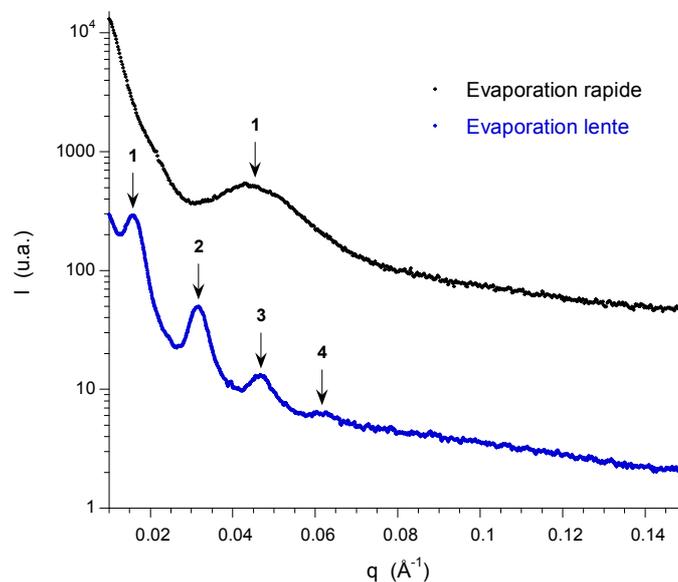


Fig. 3-21 : Profils de l'intensité diffusée en SAXS par les films d'un copolymère PS<sub>24</sub>-*b*-PBLG<sub>104</sub> en fonction de la vitesse d'évaporation du solvant<sup>32</sup>

Dans le cas des copolymères à blocs PTMC-*b*-PBLG, aucun pic de diffusion n'est observé à cette échelle, ce qui montre que la séparation de phases qui existe au sein du matériau n'est pas structurée. La taille relativement courte de chacun des deux blocs dans le cas de ces échantillons de copolymère contribue certainement à l'absence de structure ordonnée. En effet, elle conduit à une diminution de l'incompatibilité entre les blocs PTMC et PBLG, ce qui entraîne une diminution du paramètre d'interaction de Flory-Huggins avec la possibilité de se trouver proche de la transition ordre-désordre dans le cas des systèmes étudiés. L'analyse d'échantillons de masse molaire beaucoup plus élevée pourrait éventuellement permettre d'observer une séparation de phases mieux structurée au sein des copolymères à blocs PTMC-*b*-PBLG.

## CONCLUSION

L'étude des systèmes de copolymères à blocs PLLA-*b*-PBLG où les deux blocs présentent un caractère cristallin constitue, à notre connaissance, le seul exemple d'étude des propriétés d'auto-organisation à l'état solide de systèmes polyester-*b*-poly(acide  $\alpha$ -aminé).<sup>33</sup> Celle-ci avait conduit à l'observation d'une séparation de phases non structurée de domaines de PLLA cristallins et de domaines de PBLG adoptant une morphologie colonnaire hexagonale. L'absence de structuration avait été attribuée au caractère cristallin des deux blocs ; nous pensons donc, à juste titre, observer de meilleurs résultats avec nos systèmes PCL-*b*-PBLG dans lesquels la cristallisation de la PCL est inhibée au-dessous d'une certaine composition et *a fortiori* avec nos systèmes de PTMC-*b*-PBLG où le bloc polyester est amorphe.

Dans le premier cas, l'étude de la structure locale des copolymères PCL-*b*-PBLG a permis, dans un premier temps, de confirmer la présence d'une seconde structuration (structure  $\zeta$ ) des segments PBLG quelle que soit la composition des échantillons de copolymère, différente d'une structuration en hélice  $\alpha$ , sans pouvoir déterminer l'organisation adoptée par les segments de PBLG lorsqu'ils sont dans cette structure  $\zeta$ . La nature de cette structure cristalline pourrait être déterminée grâce à des études cristallographiques détaillées et approfondies, ce qui n'a pu être fait dans le cadre de ce travail. Dans un second temps, nous avons mis en évidence l'organisation colonnaire hexagonale des hélices  $\alpha$  de segments de PBLG avec, pour des échantillons constitués d'un bloc PBLG suffisamment court et au-delà d'une certaine température, déstabilisation de la structure  $\zeta$  et coexistence entre l'organisation hexagonale d'hélices  $\alpha$  et une organisation lamellaire de segments de PBLG structurés en feuillet  $\beta$ . L'étude de l'organisation à grande échelle des mêmes copolymères a ensuite permis d'observer la formation d'une phase lamellaire peu ordonnée constituée d'un empilement de couches de PBLG et de PCL. L'effet de la température et la préparation de films par évaporation lente n'ont pas permis d'accéder à une morphologie beaucoup plus ordonnée. Les copolymères à blocs PCL-*b*-PBLG s'organisent donc globalement à l'état solide selon une morphologie « hexagonale dans lamellaire » comme la plupart des systèmes « rigide-flexible » constitués d'un bloc poly(acide  $\alpha$ -aminé) PBLG ou PLys déjà étudiés ; ceci n'avait pas été observé avec les systèmes de copolymères PLLA-*b*-PBLG.

Dans le second cas, l'étude de la structure locale des copolymères PTMC-*b*-PBLG n'a pas permis, contrairement au cas précédent, d'identifier clairement les deux organisations différentes liées aux structures  $\zeta$  et hélice  $\alpha$  pourtant présentes, comme l'indique les analyses en DSC. La plus grande compatibilité entre les deux blocs pourrait constituer une explication à la perturbation de l'organisation locale des segments de PBLG.

L'étude de l'organisation à grande échelle des copolymères PTMC-*b*-PBLG n'a pas permis de mettre en évidence une organisation quelconque des différents domaines de PTMC et de PBLG, certainement pour les mêmes raisons qui entraînent une perturbation de l'organisation locale des segments de PBLG. Dans ce cas précis, nous avons à faire à une séparation de phases non structurée. Il faudrait certainement, dans la suite, travailler avec des segments PTMC plus longs pour contourner ce problème.

---

<sup>1</sup> Leibler, L. *Macromolecules* **1980**, *13*, 1602-1617.

<sup>2</sup> Hamley, I. W. *The Physics of Block Copolymers*; Oxford University Press: Oxford, **1998**.

<sup>3</sup> Matsen, M. W.; Bates, F. S. *Macromolecules* **1996**, *29*, 1091-1098.

<sup>4</sup> Klok, H.-A.; Lecommandoux, S. *Advanced Materials* **2001**, *13*, 1217-1229.

<sup>5</sup> Lee, M.; Cho, B.-K.; Zin, W.-C. *Chemical Reviews* **2001**, *101*, 3869-3892.

<sup>6</sup> Förster, S.; Plantenberg, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 688-714.

<sup>7</sup> Borsali, R.; Lecommandoux, S.; Pecora, R.; Benoît, H. *Macromolecules* **2001**, *34*, 4229-4234.

<sup>8</sup> Matsen, M. W.; Schick, M. *Physical Review Letters* **1994**, *72*, 2660-2663.

<sup>9</sup> Semenov, A. N.; Vasilenko, S. V. *Soviet Phys. JETP* **1986**, *12*, 385.

<sup>10</sup> Williams, D. R. M.; Fredrickson, G. H. *Macromolecules* **1992**, *25*, 3561-3568.

<sup>11</sup> Matsen, M. W. *J. Chem. Phys.* **1996**, *104*, 7758-7764.

<sup>12</sup> Matsen, M. W.; Barrett, C. J. *J. Chem. Phys.* **1998**, *109*, 4108-4118.

<sup>13</sup> Reenders, M.; Brinke, G. t. *Macromolecules* **2002**, *35*, 3266-3280.

<sup>14</sup> Pryamitsyn, V.; Ganesan, V. *J. Chem. Phys.* **2004**, *120*, 5824-5838.

<sup>15</sup> Gallot, B. *Prog. Polym. Sci.* **1996**, *21*, 1035-1088.

<sup>16</sup> Stupp, S. I. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **1998**, *3*, 20.

<sup>17</sup> Schlaad, H.; Antonietti, M. *Eur. Phys. J. E.* **2003**, *10*, 17-23.

<sup>18</sup> Klok, H.-A.; Lecommandoux, S. *Advances in Polymer Science* **2006**, *202*, 75-111.

<sup>19</sup> Perly, B.; Douy, A.; Gallot, B. *Makromol. Chem.* **1976**, *177*, 2569-2589.

<sup>20</sup> Billot, J.-P.; Douy, A.; Gallot, B. *Makromol. Chem.* **1977**, *178*, 1641-1650.

<sup>21</sup> Douy, A.; Gallot, B. *Polymer* **1982**, *23*, 1039-1044.

<sup>22</sup> Schlaad, H.; Kukula, H.; Smarsly, B.; Antonietti, M.; Pakula, T. *Polymer* **2002**, *43*, 5321-5328.

<sup>23</sup> Losik, M.; Kubowicz, S.; Smarsly, B.; Schlaad, H. *Eur. Phys. J. E* **2004**, *15*, 407-411.

<sup>24</sup> Babin, J.; Rodriguez-Hernandez, J.; Lecommandoux, S.; Klok, H.-A.; Achard, M.-F. *Faraday Discuss.* **2005**, *128*, 179-192.

<sup>25</sup> Papadopoulos, P.; Floudas, G.; Schnell, I.; Aliferis, T.; Iatrou, H.; Hadjichristidis, N. *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 2352-2361.

<sup>26</sup> Klok, H.-A.; Langenwalter, J. F.; Lecommandoux, S. *Macromolecules* **2000**, *33*, 7819-7826.

<sup>27</sup> Lecommandoux, S.; Achard, M.-F.; Langenwalter, J. F.; Klok, H.-A. *Macromolecules* **2001**, *34*, 9100-9111.

<sup>28</sup> Rong, G.; Deng, M.; Deng, C.; Tang, Z.; Piao, L.; Chen, X.; Jing, X. *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 1800-1804.

<sup>29</sup> Schappacher, M.; Soum, A.; Guillaume, S. M. *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 1373-1379.

<sup>30</sup> Chécot, F. *Thèse de doctorat*; Université Bordeaux 1: France, **2003**.

<sup>31</sup> Schlaad, H.; Smarsly, B.; Losik, M. *Macromolecules* **2004**, *37*, 2210-2214.

<sup>32</sup> Babin, J. *Thèse de doctorat*; Université Bordeaux 1: France, **2006**.

<sup>33</sup> Caillol, S.; Lecommandoux, S.; Mingotaud, A.-F.; Schappacher, M.; Soum, A.; Bryson, N.; Meyrueix, R. *Macromolecules* **2003**, *36*, 1118-1124.

---

Partie 4 :

NANOPARTICULES DE  
COPOLYMERES A BLOCS  
POLYESTER-*b*-POLY(ACIDE  
 $\alpha$ -AMINE)

---

I. Nanoparticules de copolymères à blocs pour le transport de médicaments	131
I.1. Micelles de polymères à base de POE	132
I.2. Complexes micellaires de polyions ou micelles PIC (PolyIon Complex)	135
I.3. Vésicules de polymères	135
II. Nanoparticules de copolymères hydrophobes PCL- <i>b</i> -PBLG et PTMC- <i>b</i> -PBLG	136
II.1. Préparation des particules par nanoprécipitation	138
II.2. Analyse structurale des nanoparticules	141
III. Micellisation des copolymères amphiphiles PCL- <i>b</i> -PGA et PTMC- <i>b</i> -PGA	144
IV. Dégradation des nanoparticules de copolymères par voie enzymatique	146
Conclusion	148
Références bibliographiques	149

---

Le premier chapitre de cette dernière partie est consacré à la présentation des dispositifs nanostructurés, à base de copolymères à blocs aux propriétés auto-associatives, déjà étudiés pour des applications dans le domaine du transport de médicaments. Dans ce contexte, le poly(oxyde d'éthylène) (POE) est le polymère biocompatible le plus couramment utilisé, souvent en association avec un bloc poly(acide  $\alpha$ -aminé) ou un bloc polyester, au sein d'architectures amphiphiles.

Nous détaillerons, dans les chapitres suivants, les résultats obtenus lors de la préparation de nanoparticules de copolymères à blocs PCL-*b*-PGA, PTMC-*b*-PGA et de leurs homologues non déprotégés PCL-*b*-PBLG et PTMC-*b*-PBLG. Cette préparation a été conduite selon différents procédés suivant la nature amphiphile ou hydrophobe des systèmes. Nous montrerons ainsi que de telles architectures ont la capacité de s'auto-organiser spontanément, en solution aqueuse, sous forme de nanoparticules, de micelles ou de vésicules, ce qui devrait permettre leur utilisation en tant que vecteurs de principes actifs.

## I. NANOPARTICULES DE COPOLYMERES A BLOCS POUR LE TRANSPORT DE MEDICAMENTS

Les copolymères à blocs sont connus depuis longtemps pour leur capacité à s'auto-organiser de façon spontanée, en solvant sélectif, sous forme de micelles de morphologies variées (sphères, cylindres, vésicules etc.) (Fig. 4-1) ce qui leur confère un fort potentiel pour des applications de transport de principes actifs et les avancées réalisées ces dernières années en chimie des polymères ont grandement contribué à faire progresser la recherche dans ce domaine.<sup>1-5</sup> L'ingénierie macromoléculaire, c'est-à-dire le « design » chimique des copolymères à blocs permet d'ajuster les propriétés physico-chimiques et biologiques des micelles obtenues ce qui est le principal avantage de l'utilisation de tels systèmes. La morphologie des micelles dépend de divers paramètres comme la nature chimique de chaque bloc, la composition, la concentration, la température, ... C'est ainsi que certains systèmes dits « intelligents » ou stimulables sont sensibles à leur environnement (pH, température) et répondent à ces stimuli par des modifications de leurs propriétés physiques et/ou chimiques. Par ailleurs, le « design » de micelles de polymères « intelligentes » inclue également les systèmes possédant des fonctions permettant le ciblage de cellules particulières, récemment développés.

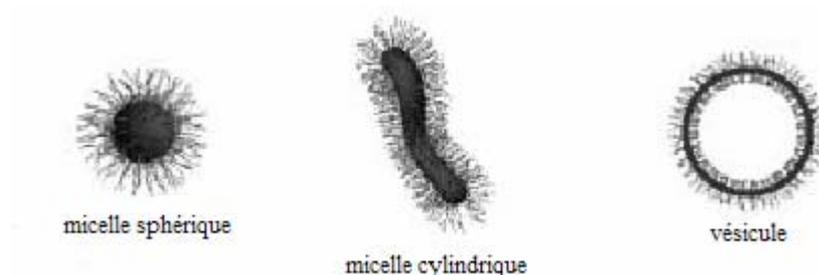


Fig. 4-1 : Différentes morphologies observées en solution dans le cas de copolymères à blocs auto-associatifs<sup>6</sup>

Les micelles de polymères présentent de nombreux avantages pour le transport de médicaments : (1) la possibilité d'utilisation avec une grande variété d'agents thérapeutiques (substances hydrophobes, complexes de métaux, macromolécules chargées comme des polypeptides et des protéines), (2) la facilité d'incorporation des principes actifs sans avoir recours à des liaisons chimiques, (3) la facilité de préparation des micelles, (4) la grande capacité de chargement en principe actif et (5) la libération contrôlée de ceux-ci. En outre, ces propriétés peuvent être optimisées en fonction du principe actif à véhiculer.

L'objectif principal de l'utilisation de tels systèmes pour le transport de médicaments dans le corps est la possibilité de moduler leur disponibilité. En effet, la distribution et le temps de circulation dans le corps humain des principes actifs est principalement déterminée par les propriétés de surface et la taille des particules qui les véhiculent. La circulation sur une longue période (permise notamment grâce aux propriétés de furtivité qui peuvent être apportées aux systèmes) est un point essentiel pour un ciblage réussi. Les principaux obstacles à une circulation de longue durée sont l'élimination après filtration par les voies rénales et la reconnaissance des systèmes non ou faiblement biocompatibles par le système réticulo-endothélial (RES) situé dans le foie, la rate et les poumons, suivie d'une élimination des voies sanguines.

Le poly(oxyde d'éthylène) (POE) est le polymère biocompatible le plus couramment utilisé pour ce type d'applications en raison de la grande flexibilité de sa structure, de son caractère hydrophile et de sa non-toxicité, celui-ci ayant d'ailleurs été approuvé par la FDA (« Food and Drug Administration »).

## **I.1. Micelles de polymères à base de POE**

Ce polymère est principalement associé à un polyester ou un poly(acide  $\alpha$ -aminé) au sein d'architectures à blocs amphiphiles.<sup>7,8</sup> Ces deux types de copolymères à blocs sont particulièrement intéressants du point de vue des applications biomédicales puisqu'ils sont biocompatibles et permettent de disposer d'une grande variété de fonctions chimiques spécifiques. Les voies de synthèse les plus courantes de ces deux types de copolymères à blocs sont identiques ; il s'agit de l'utilisation d'un POE fonctionnalisé en bout de chaîne par un groupement approprié (hydroxyle ou amine), pour amorcer la polymérisation par ouverture de cycle d'un ester cyclique ou d'un acide  $\alpha$ -aminé NCA.

Afin d'accéder à des vitesses de dégradation appropriées, différents esters sont souvent associés, le glycolide, le lactide ou encore l' $\epsilon$ -caprolactone, dont les polymères correspondants, déjà largement utilisés dans le domaine biomédical, présentent des vitesses de dégradation très différentes. L'utilisation de poly(acide  $\alpha$ -aminé)s présente quant à elle l'avantage de la disponibilité d'une grande variété de groupes fonctionnels le long de la chaîne polymère (groupements benzyle, amine primaire, acide carboxylique, ...), autant de fonctions qui vont avoir un effet sur la formation des micelles, leur stabilité, leurs propriétés physico-chimiques et qui vont pouvoir interagir avec certains principes actifs.<sup>9,10</sup> La structure secondaire

des poly(acide  $\alpha$ -aminé)s (hélice  $\alpha$ , feuillet  $\beta$ ) peut également être un paramètre critique pour la formation et la stabilisation des micelles.

De manière générale, les micelles obtenues par auto-assemblage en solution aqueuse de tels systèmes de copolymères à blocs amphiphiles sont des micelles sphériques de quelques dizaines de nanomètres de diamètre, caractérisées par une structure unique de type cœur-couronne (où le cœur se compose des segments hydrophobes et la couronne des segments hydrophiles). En comparaison avec les micelles de tensio-actifs, les micelles de polymères possèdent une stabilité thermodynamique beaucoup plus importante et peuvent retenir les principes actifs incorporés durant des périodes prolongées, même dans des conditions de forte dilution lors de l'introduction *in vivo* puisqu'elles possèdent une concentration micellaire critique (CMC) autour de  $10^{-6}$ - $10^{-7}$  M (au-dessous de laquelle sont uniquement présents des unimères), mille fois plus faible que celle des micelles de tensio-actifs ( $10^{-3}$ - $10^{-4}$  M). La formation des micelles a lieu grâce à la combinaison de plusieurs forces intermoléculaires comme les interactions électrostatiques (liaisons de Van der Waals) ou les liaisons hydrogène.

Jusqu'à présent les systèmes de micelles de polymères préparés en vue d'applications biomédicales dans le domaine du transport de médicaments l'ont été à partir de divers copolymères à blocs amphiphiles tels que du POE-*b*-poly(L-aspartate de  $\beta$ -benzyle),<sup>11-14</sup> du POE-*b*-poly(D,L-lactide),<sup>15-18</sup> du POE-*b*-PCL<sup>19</sup>, du POE-*b*-poly(lactide-*co*-glycolide)<sup>20</sup> sans oublier les systèmes POE-*b*-poly(oxyde de propylène)-*b*-POE (Pluronic)<sup>21</sup> et plus récemment du POE-*b*-PBLG<sup>22</sup> et du POE-*b*-PTMC.<sup>23,24</sup>

Il existe deux voies principales de préparation pour ce type de micelles : la méthode directe et la méthode faisant intervenir un co-solvant (Fig. 4-2). Dans le premier cas, un traitement en température ou par ultrasonication est souvent nécessaire pour atteindre un état thermodynamiquement stable. La seconde méthode concerne les systèmes moins facilement solubles dans l'eau et permet un bon contrôle de la cinétique de micellisation ; dans ce cas précis, l'incorporation de principes actifs hydrophobes se fait directement grâce à l'ajout des molécules dans la solution organique de départ.

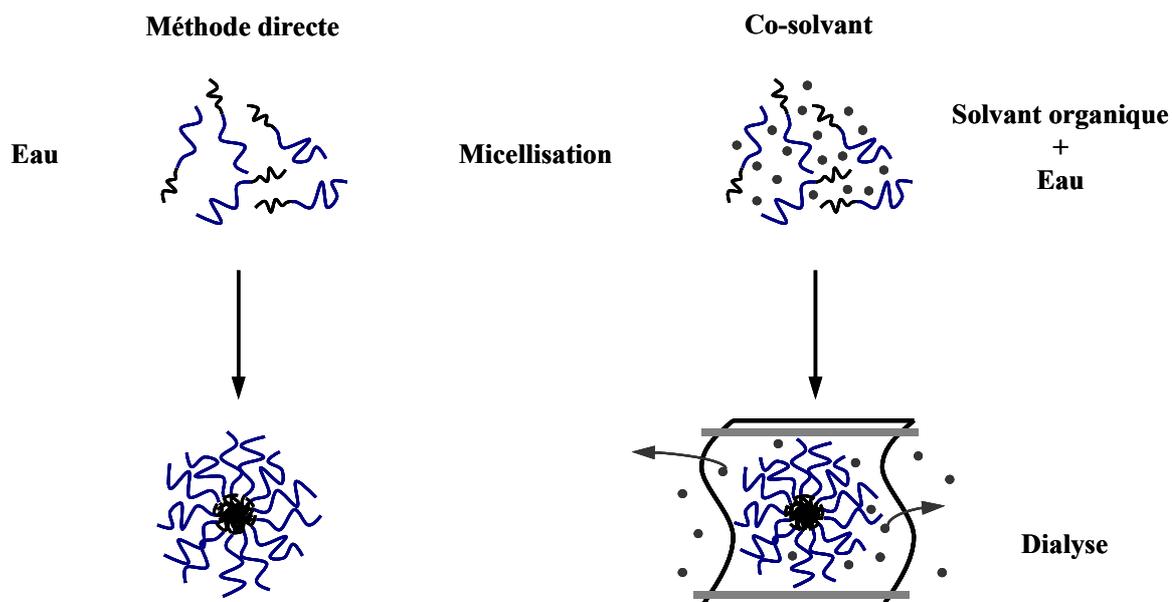


Fig. 4-2 : Différentes méthodes de préparation de micelles de copolymères à blocs amphiphiles et d'incorporation de principes actifs hydrophobes

La structure des copolymères à blocs influence de façon significative l'aptitude des micelles pour le transport de médicaments. Celle-ci affecte notamment des paramètres tels que la stabilité des micelles, leur taille, leur distribution en taille, leur capacité d'encapsulation ou encore la cinétique de libération des principes actifs. La compatibilité entre le coeur de la micelle et le principe actif ou médicament à encapsuler est également un paramètre important à prendre en compte lors de la conception des copolymères à blocs.

Par ailleurs, des études ont montré que l'efficacité d'encapsulation de molécules de principes actifs libres (encapsulation physique) augmentait si des mêmes molécules étaient liées chimiquement au coeur de la micelle.<sup>25,26</sup> Il apparaît donc important de disposer de systèmes dont le coeur est formé par un polymère fonctionnel qui permet de lier de façon covalente des molécules de principe actif. De manière analogue, il est également important de disposer de systèmes dont la couronne est formée par un polymère qui permet de fonctionnaliser la surface des micelles afin d'accéder à des propriétés de reconnaissance et de ciblage.

En outre, Kissel et coll. ont récemment montré que la réticulation de micelles de POE-*b*-PCL permettait, non seulement d'améliorer la stabilité thermodynamique des micelles face à la dilution, mais également d'augmenter l'efficacité d'incorporation de molécules de paclitaxel.<sup>27</sup>

Enfin, la libération des principes actifs ou médicaments incorporés dans des micelles de polymères peut être déclenchée par différents stimuli physiques comme la température ou le pH lorsque les polymères utilisés y sont sensibles.

## **I.2. Complexes micellaires de polyions ou micelles PIC (PolyIon Complex)**

Il s'agit de micelles de copolymères à blocs, cette fois-ci formées par des interactions électrostatiques.<sup>5</sup> De manière analogue aux polyplexes (voir partie 1) obtenus grâce à la combinaison de polymères chargés et de molécules biologiquement actives de charge opposée comme des protéines ou des acides nucléiques,<sup>28</sup> les micelles PIC sont obtenues grâce à la combinaison de copolymères à blocs de charges opposées ou d'un copolymère à bloc et d'une macromolécule de charges opposées. Par exemple, le mélange en milieu aqueux de POE-*b*-PAsp chargés négativement et POE-*b*-PLys (ou PLys seul) chargés positivement en proportions stoechiométriques (au niveau des charges) conduit à la formation spontanée de micelles PIC de taille comprise entre 30 et 50 nm.<sup>29,30</sup> La structure de micelles PIC dans lesquelles le cœur est entouré par une couronne de segments hydrophiles de POE permet de prévenir toute précipitation ou agrégation dans une large gamme de concentration. Les propriétés physico-chimiques de tels objets sont affectées par les masses molaires, les densités de charge et la flexibilité des segments chargés, ainsi que les valeurs des  $pK_a$ .

Ce type de micelles peut également être obtenu grâce à la combinaison de copolymères à blocs chargés et de molécules biologiquement actives de charge opposée comme des protéines ou des acides nucléiques. Ces systèmes font partie, comme les polyplexes, des vecteurs non viraux récemment étudiés pour le transfert de gènes dans les cellules.<sup>10,31</sup>

## **I.3. Vésicules de polymères**

En dehors des micelles de polymères à structure cœur-couronne classiques, certains copolymères à blocs peuvent également s'auto-organiser en solution selon une morphologie membranaire et former ainsi des vésicules.<sup>32,33</sup> Ces systèmes ont récemment été étudiés dans le cadre d'une utilisation pour le transport de médicaments. Comme dans le cas des liposomes (vésicules lipidiques artificielles) qui sont utilisés à l'heure actuelle comme vecteurs ou transporteurs en pharmacologie (vectorisation de principes actifs) et en génétique (transfert de gènes), les vésicules de polymères sont capables d'encapsuler efficacement des molécules de faible masse molaire ou des macromolécules hydrophiles. En principe, la libération des principes actifs encapsulés qui est généralement déclenchée par des stimuli externes (tels que des changements de pH ou de température) ou par une dégradation hydrolytique et enzymatique des polymères, peut être accomplie grâce à une ingénierie chimique appropriée

qui peut permettre, comme dans le cas des micelles, d'ajuster les propriétés physico-chimiques et biologiques des vésicules formées par les copolymères à blocs.

Une caractéristique importante des vésicules de polymères, qui les différencie des liposomes dont les propriétés telles que la stabilité ou la dégradation ne sont pas particulièrement bien contrôlées, est leur remarquable stabilité face à la dissociation ainsi qu'une diminution de perméabilité, ce qui engendre une libération plus lente des molécules encapsulées. L'approche « polymère » de la formation de vésicules élargit l'éventail des propriétés possibles à travers un choix plus grand de systèmes amphiphiles amené par la chimie.

Ainsi, les vésicules de polymères ont des propriétés très intéressantes qui ne peuvent être obtenues avec les micelles de polymères ou les liposomes, ce qui en fait des systèmes potentiellement très utiles pour le transport de médicaments.

## **II. NANOPARTICULES DE COPOLYMERES HYDROPHOBES PCL-*b*-PBLG et PTMC-*b*-PBLG**

En dehors des méthodes de préparation classiques de micelles de copolymères à blocs amphiphiles, il existe une méthode de préparation de nanoparticules en milieu aqueux applicable aussi bien aux systèmes amphiphiles qu'aux systèmes (polymères ou copolymères) complètement hydrophobes et qui fait intervenir un co-solvant. Cette méthode, développée en 1988 par Fessi *et al.*,<sup>34</sup> puis reprise par plusieurs groupes de recherche, est la nanoprécipitation. Elle requiert deux solvants miscibles dont l'un des deux est un bon solvant du polymère ou copolymère et l'autre un non-solvant (ici l'eau). Elle consiste à précipiter le polymère ou copolymère en ajoutant progressivement la solution le contenant à la solution aqueuse (le solvant résiduel est éliminé par dialyse ou par évaporation). Cette technique présente de nombreux avantages : elle est directe, rapide, facile à mettre en œuvre, généralement reproductible et ne nécessite pas un grand apport d'énergie. La formation des nanoparticules est instantanée et se produit dès que le solvant contenant le polymère diffuse dans le milieu dispersant et que le polymère précipite. Lorsqu'un principe actif hydrophobe est incorporé dans la solution contenant le polymère ou copolymère, celui-ci est directement piégé dans les nanoparticules lors de la précipitation du polymère. La nanoprécipitation permet en général la préparation de nanoparticules sphériques de faible taille (100-300 nm de diamètre) avec une faible distribution, et elle est applicable à de nombreux systèmes polymères ou copolymères. L'influence de la température et du pH est limitée dans ce procédé, de sorte qu'il n'est

généralement pas nécessaire d'opérer dans des conditions particulières qui par ailleurs pourraient être susceptibles d'endommager la structure de certaines molécules à encapsuler. Fessi *et al.* ont montré que l'ajout d'une faible proportion de non-solvant (par exemple environ 10% en volume) au solvant permettait d'obtenir des nanoparticules plus petites, notamment de diamètre inférieur à 100 nm.<sup>34</sup> En outre, il est souhaitable mais pas nécessaire, pour obtenir une suspension plus stable, d'ajouter un ou plusieurs tensio-actifs (anioniques, cationiques ou non ioniques). La nature du polymère est également importante puisque les groupes fonctionnels de la chaîne et les groupes terminaux vont contribuer à la stabilité des nanoparticules selon leur nature.

Cette méthode a été utilisée avec succès dans le cas de divers polymères biodégradables hydrophobes comme le poly(D,L-lactide),<sup>34,35</sup> le poly(L-lactide-co-glycolide)<sup>36</sup> et la PCL.<sup>37,38</sup> Concernant la préparation de nanoparticules de copolymères à blocs amphiphiles par cette méthode, plusieurs travaux ont été effectués sur des systèmes de PLA-*b*-POE<sup>39</sup> et POE-*b*-PCL-*b*-POE<sup>40</sup> ou PCL-*b*-POE-*b*-PCL.<sup>41</sup> Les auteurs ont notamment montré que la composition des copolymères utilisés avait un effet important sur la taille et la distribution en taille des nanoparticules formées et sur les profils de diffusion des principes actifs. En effet, une diminution de la taille est observée avec l'augmentation de la proportion de POE dans le copolymère. Ainsi la taille des nanoparticules, la quantité de principe actif incorporée et les profils de diffusion peuvent être contrôlés en optimisant la composition des copolymères.

La principale limitation de cette technique réside dans la difficulté d'incorporation de principes actifs hydrophiles. C'est pourquoi de nombreux groupes se sont attachés, ces dernières années, à remédier à cet inconvénient. Bilati *et al.*<sup>42</sup> ont notamment déterminé, en 2005, les paramètres de la procédure de nanopréciipitation qui pouvaient être modifiés de façon à étendre le système classique principe actif hydrophobe/polymère/acétone ou éthanol (solvant)/eau (non-solvant) à un système plus versatile selon le schéma plus général principe actif/polymère/solvant/non-solvant. Pour cela, ils ont étudié l'effet de la nature du solvant et du non-solvant, du rapport entre les deux et de la concentration du polymère sur la taille, la morphologie et la stabilité des particules. Dans le cadre de l'encapsulation de principes actifs hydrophile par des systèmes de PLA et PLGA, la taille des nanoparticules dépend du non-solvant choisi, l'utilisation d'un surfactant n'est pas nécessaire pour la stabilisation de la suspension finale et le rapport solvant/non-solvant n'est pas déterminant pour la formation des nanoparticules et leurs caractéristiques finales.

Govender *et al.*, quelques années auparavant, avaient étudié de la même façon la possibilité d'incorporer des principes actifs hydrophiles à des nanoparticules préparées selon le procédé

de nanoprécipitation, en étudiant notamment l'effet du pH de la solution aqueuse sur l'efficacité d'incorporation des principes actifs.<sup>43</sup> Les auteurs ont principalement montré que les différentes variables de la formulation des nanoparticules pouvaient être exploitées afin d'améliorer l'incorporation de principes actifs hydrophiles dans des nanoparticules de PLGA par la technique de la nanoprécipitation.

## **II.1. Préparation par des particules par nanoprécipitation**

Les nanoparticules de copolymères PCL-*b*-PBLG et PTMC-*b*-PBLG ont été préparés par nanoprécipitation avec l'utilisation du THF comme solvant des copolymères et des homopolymères de PBLG, PCL et PTMC et de l'eau comme non-solvant. Aucun tensio-actif n'a été utilisé. L'ajout de la solution de polymère ou copolymère à la solution aqueuse a été réalisé goutte à goutte, sous agitation modérée. Les nanoparticules se forment pratiquement instantanément et l'apparition d'une suspension colloïdale de nanoparticules de polymère ou copolymère se traduit par l'obtention d'une solution turbide. Le THF est ensuite éliminé sous courant d'azote.

Les nanoparticules ont été préparées selon les deux protocoles suivants qui diffèrent en particulier par l'introduction d'eau dans le solvant :

- (A) *Dissolution du copolymère dans le THF (1 g/L), puis addition goutte à goutte dans un volume équivalent d'eau (débit de 30 mL/min). Elimination du THF résiduel par évaporation sous courant d'azote.*
- (B) *Dissolution du copolymère dans un mélange THF/eau (90/10 – 1 g/L), puis addition au goutte à goutte dans un volume équivalent d'eau (débit de 30 mL/min). Elimination du THF résiduel par évaporation sous courant d'azote.*

Dans le cas des systèmes de PTMC-*b*-PBLG, un travail avec des concentrations beaucoup plus faibles (0,1 g/L) a été nécessaire pour préparer des nanoparticules. Selon le mécanisme de formation des nanoparticules proposé dans la littérature,<sup>36,37</sup> lorsque les gouttes de solvant entrent en contact avec l'eau, celles-ci se divisent en entités plus petites puis la diffusion de celui-ci dans la phase aqueuse entraîne l'agrégation des chaînes polymères et leur précipitation de façon quasi-instantanée. Tant que le polymère n'a pas précipité, les gouttelettes se divisent en entités toujours plus petites. En conséquence, quand la solubilité du polymère dans le mélange de solvants qui se forme au cours de la division des gouttes augmente, la taille des particules diminue. Dans le cas des copolymères de PTMC-*b*-PBLG, on peut supposer que le

caractère amorphe et « mou » du PTMC entraîne, pour une concentration trop importante, l'agrégation des nanoparticules et leur précipitation à l'échelle macroscopique.

Les tailles des nanoparticules préparées à partir des différents systèmes et les caractéristiques des échantillons utilisés sont répertoriées dans le Tableau 4-1.

Echantillon	$\overline{M}_n$ (exp) <sup>a</sup> (g.mol <sup>-1</sup> )	$\phi_{\text{PBLG}}$ (% masse)	Concentration (g/L)	Rayon hydrodynamique (nm)			
				(A)		(B)	
				t=0	t=5j	t=0	t=5j
PCL <sub>16</sub>	1 900	0	0,1	222	-	250	-
PCL <sub>62</sub> - <i>b</i> -PBLG <sub>36</sub>	15 050	52	1	96	102	117	119
PCL <sub>16</sub> - <i>b</i> -PBLG <sub>25</sub>	7 400	74	1	90	96	71	73
PCL <sub>16</sub> - <i>b</i> -PBLG <sub>42</sub>	11 100	83	1	73	76	68	70
PCL <sub>16</sub> - <i>b</i> -PBLG <sub>74</sub>	18 100	90	1	66	58	56	53
PBLG <sub>23</sub>	5 000	100	0,1	86	-	72	-
PTMC <sub>30</sub>	3 100	0	0,1	322	-	-	-
PTMC <sub>20</sub> - <i>b</i> -PBLG <sub>38</sub>	10 400	80	0,1	92	-	-	-

<sup>a</sup> Masse molaire totale du copolymère déterminée par RMN <sup>1</sup>H.

**Tableau 4-1 : Taille des nanoparticules obtenues par nanoprécipitation en fonction de la composition, du mode de préparation et leur évolution au cours du temps**

Alors que les nanoparticules de copolymères PCL-*b*-PBLG et PTMC-*b*-PBLG et celles de PBLG seul sont caractérisées par un diamètre inférieur à 200 nm, les nanoparticules des homopolymères PCL et PTMC sont beaucoup plus grandes avec des tailles variant de 450 à 650 nm.

On remarque que la composition des systèmes a un effet relativement important sur la taille des nano-objets obtenus, comme rapporté dans la littérature. En effet, alors que les nanoparticules de PBLG seul sont beaucoup plus petites que celles de PCL et de PTMC, l'évolution des tailles en fonction de la composition suit cette tendance puisque plus la fraction molaire en PBLG augmente au sein du copolymère, plus la taille des nanoparticules diminue. La compacité apportée par les segments de PBLG contribue très certainement à la diminution de la taille des nanoparticules. Dans le cas du PTMC, comme nous l'avons évoqué précédemment, on peut supposer que son caractère amorphe et « mou » augmente sa mobilité dans le THF et retarde sa précipitation en présence d'eau ce qui conduit à des particules de faible taille mais qui interagissent et s'agrègent pour donner des objets de taille relativement importante. Dans le cas de la PCL, la taille plus importante des particules observées pourrait être due à une précipitation plus rapide en présence d'eau, notamment en raison de la cristallisation possible dans l'homopolymère et plus difficile dans le copolymère.

Concernant l'effet de l'ajout de 10% d'eau dans la solution de polymère ou copolymère dans le THF (protocole B), contrairement aux observations publiées dans la littérature qui indiquent que les tailles des nanoparticules sont souvent réduites de moitié quels que soient les systèmes

étudiés, la taille des nanoparticules diminue mais pas de façon aussi significative. Plus particulièrement, dans le cas du copolymère contenant une fraction molaire en PCL élevée, l'évolution de la taille suit la tendance inverse, comme dans le cas de la PCL seule, ce que nous n'avons pas réussi à expliquer. Cependant, étant donné que la majorité des études rapportées dans la littérature ont été réalisées avec de l'éthanol ou de l'acétone comme solvant et qu'il a été montré que la nature de celui avait une influence sur la taille des nanoparticules, on peut supposer que l'utilisation du THF comme solvant conduise à des résultats différents.

Comme rapporté dans la littérature, le rapport non-solvant/solvant utilisé n'a pas d'effet notable sur la taille des nano-objets préparés (Fig. 4-3).

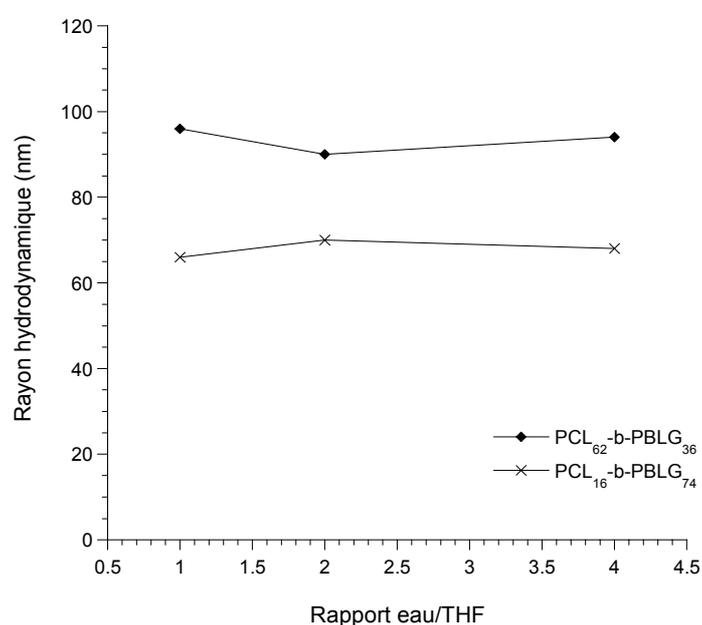


Fig. 4-3 : Influence du rapport eau/THF sur la taille des nanoparticules de deux échantillons de PCL-*b*-PBLG

Enfin, tandis que dans le cas du copolymère PCL<sub>62</sub>-*b*-PBLG<sub>36</sub> on observe que la diminution de la concentration entraîne une diminution de la taille des nanoparticules, dans tous les autres cas, celle-ci n'a pas d'effet significatif sur la taille des objets obtenus (Tableau 4-2 & Fig. 4-4)

Echantillon	$\overline{M}_n$ (exp) <sup>a</sup> (g.mol <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	Rayon hydrodynamique (nm)					
		(A)			(B)		
		1g/L	0,1g/L	0,01g/L	1g/L	0,1g/L	0,01g/L
PCL <sub>62</sub> - <i>b</i> -PBLG <sub>36</sub>	15 050	102	91	83	119	100	92
PCL <sub>16</sub> - <i>b</i> -PBLG <sub>25</sub>	7 400	96	95	94	73	65	66
PCL <sub>16</sub> - <i>b</i> -PBLG <sub>42</sub>	11 100	76	79	72	70	64	70
PCL <sub>16</sub> - <i>b</i> -PBLG <sub>74</sub>	18 100	58	-	-	53	57	52

Tableau 4-2 : Effet de la concentration sur la taille des nanoparticules de copolymères PCL-*b*-PBLG, en fonction du mode de préparation

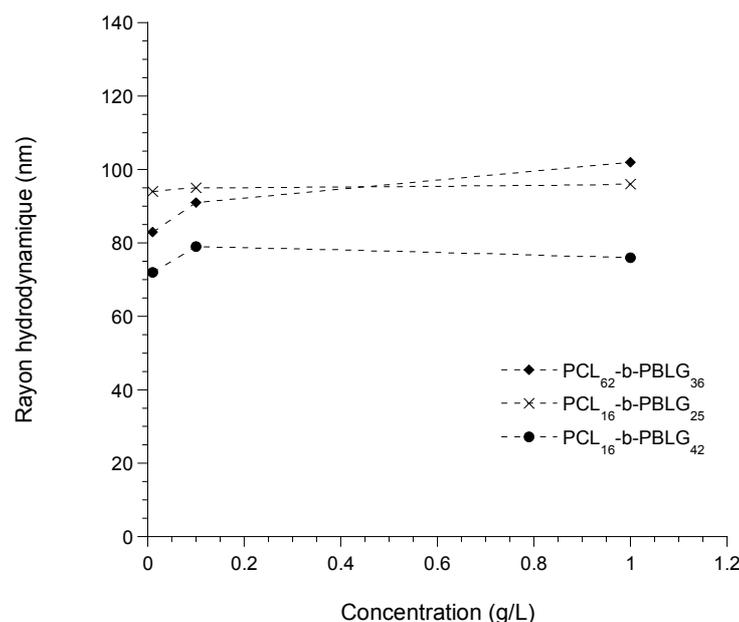


Fig. 4-4 : Effet de la concentration sur la taille des nanoparticules de PCL-*b*-PBLG préparées selon le protocole (A)

## II.2. Analyse structurale des nanoparticules

Les nanoparticules obtenues précédemment ont fait l'objet d'une étude en AFM (mode tapping) qui nous a permis de mettre en évidence la morphologie sphérique des nanoparticules préparées et leur structure cœur-couronne (seulement dans le cas du protocole B) avec un cœur dense formé par les segments de PBLG et une couronne formée par les segments de PCL, certainement en raison d'une moins grande mobilité des segments PBLG (très rigides et cristallins en raison des liaisons hydrogène) qui les pousse à s'agréger au cœur de la particule alors que la PCL plus mobile car moins rigide (interactions dipolaires plus faibles) se retrouve à l'extérieur.

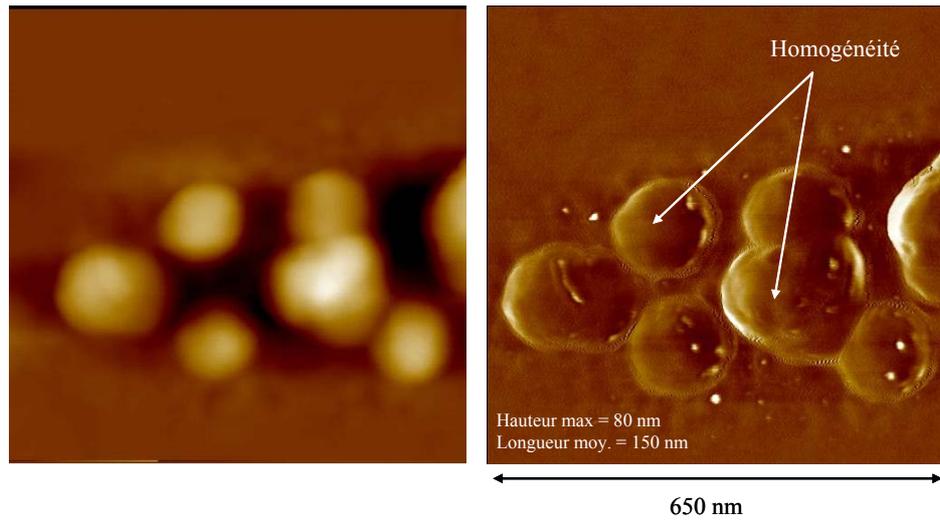


Fig. 4-5 : Images AFM des nanoparticules de PCL<sub>62</sub>-*b*-PBLG<sub>36</sub> préparées selon le protocole (A)

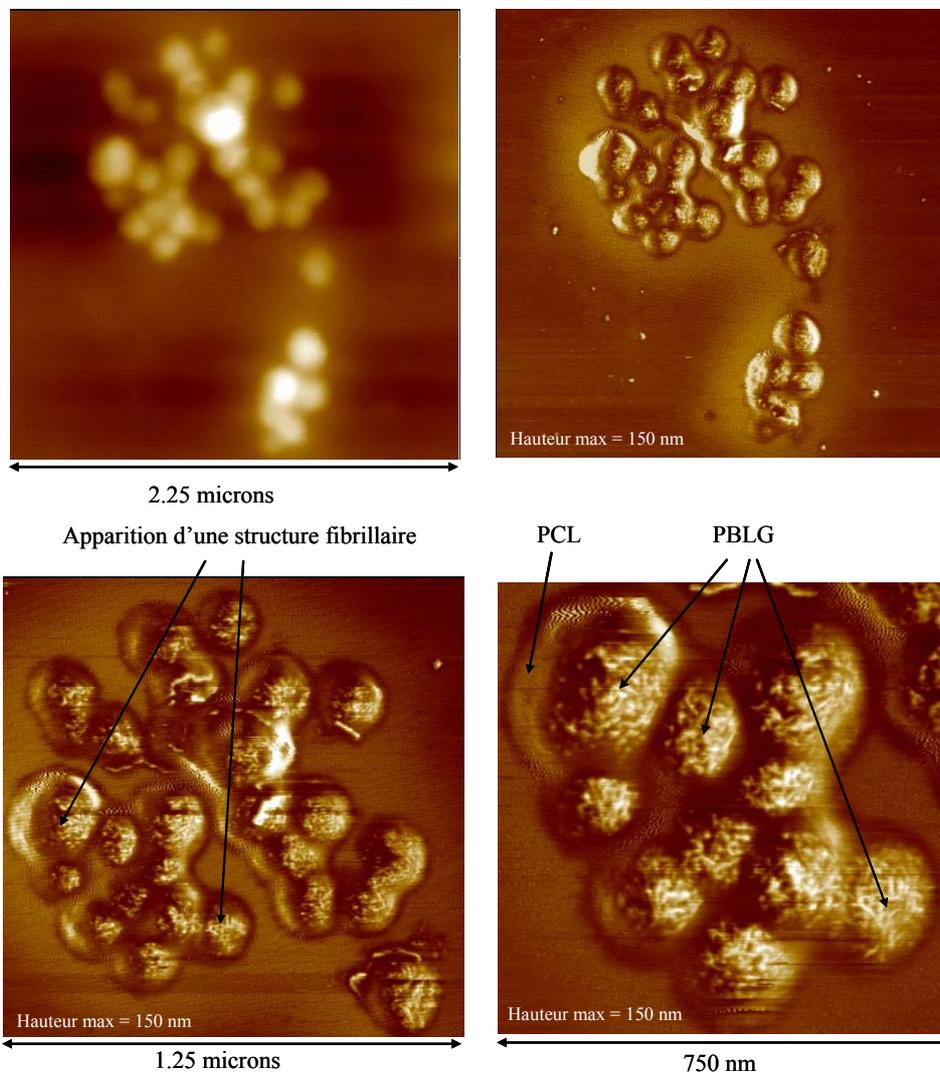


Fig. 4-6 : Images AFM des nanoparticules de PCL<sub>62</sub>-*b*-PBLG<sub>36</sub> préparées selon le protocole (B)

Les particules individualisées observées dans chacun des cas (protocole A et B) possèdent des caractéristiques complètement différentes du point de vue de leurs propriétés mécaniques et de leur hauteur (Fig. 4-5 & Fig. 4-6). On observe également une différence de structure interne des nanoparticules selon le protocole de préparation utilisé. En effet, dans le premier cas (protocole A), les nanoparticules sont homogènes, elles présentent une surface lisse, mais il est impossible de révéler une structure interne particulière. En revanche, dans le second cas (protocole B), les nanoparticules présente une structure fibrillaire du cœur de PBLG. Les mêmes observations ont été faites dans le cas du copolymère PCL<sub>16</sub>-*b*-PBLG<sub>74</sub>. Les différences observées au niveau de la structure et des caractéristiques des nanoparticules, préparées selon les protocoles A et B, sont certainement dues à des mécanismes de formation des particules relativement différents selon le protocole utilisé.

Par ailleurs, des analyses effectuées par diffusion des neutrons aux petits angles (SANS) ont mis en évidence une structure cœur-couronne des nanoparticules, qui semble être obtenue quel que soit le protocole utilisé (Fig. 4-7). Dans le cas de nanoparticules de densité homogène (ex : billes de silice), les dimensions observées dans le cadre de ces analyses correspondent au rayon de la sphère compacte  $R_S$  (avec  $R_S = \sqrt{(5/3)} R_G$  et  $R_G/R_H = 0,775$ ) qui, dans ce cas, est égale au rayon de giration  $R_G$ . Si nous supposons, dans notre cas, que les nanoparticules présentent une densité homogène, nous devrions mesurer un rayon de la sphère égal  $0,775 R_H$  (soit 45 nm dans le cas du copolymère PCL<sub>16</sub>-*b*-PBLG<sub>74</sub>). Or on mesure un rayon de la sphère compacte égal à 20 nm, ce qui montre que nos nanoparticules ne possèderaient pas une densité homogène et présenteraient bien une structure cœur-couronne.

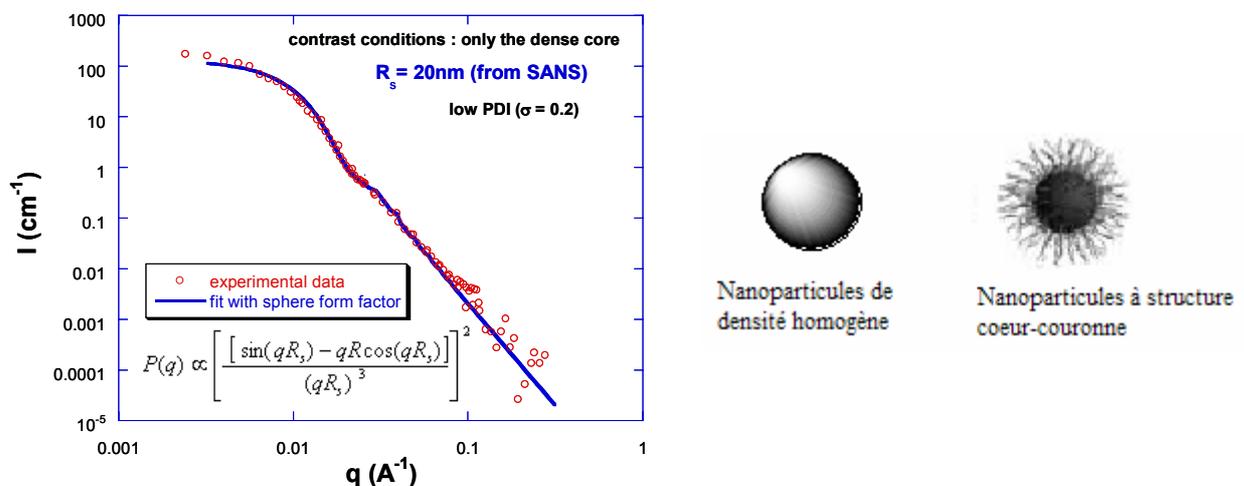


Fig. 4-7 : Analyses SANS des nanoparticules de PCL<sub>16</sub>-*b*-PBLG<sub>74</sub> préparées selon le protocole (A) et représentation des nanoparticules schématique des nanoparticules de densité homogène et à structure cœur-couronne

### III. MICELLISATION DES COPOLYMERES AMPHIPHILES PCL-*b*-PGA ET PTMC-*b*-PGA

La différence de nature du bloc polyester a eu une très grande influence dans le cas de la préparation de nanoparticules de copolymères à blocs amphiphiles PCL-*b*-PGA et PTMC-*b*-PGA. En effet, tandis que dans le premier cas, la préparation des particules n'a pas pu se faire par la mise en solution directe dans une solution aqueuse basique (nécessaire à la déprotonation des segments PGA pour une meilleure solubilité), dans le second cas, cela a été possible. Différents essais de mise en solution des copolymères amphiphiles PCL-*b*-PGA ont été effectués à des températures allant de 60 à 90°C, afin de se trouver au-dessus de la température de fusion du bloc PCL et donc d'obtenir une certaine mobilité des segments hydrophobes. Quels que soient le temps d'agitation et les concentrations utilisées (0,1 à 5 g/L), aucune de ces préparations n'a permis d'obtenir des particules de taille bien définie. Les mesures effectuées en diffusion de la lumière ont montré la présence d'agrégats de taille relativement importante et de grande distribution. Nous avons donc fait intervenir un co-solvant (l'éthanol) pour la préparation des nanoparticules de PCL-*b*-PGA. Dans ce cas, après dissolution complète du copolymère dans l'éthanol et ajout de la quantité de soude nécessaire à la déprotonation de toutes les fonctions acides des segments PGA, une quantité d'eau au moins deux fois supérieure au volume d'éthanol initial est ajoutée goutte à goutte. L'élimination de l'éthanol se fait ensuite par dialyse ce qui permet dans le même temps de revenir à pH neutre.

Dans le cas des systèmes de PTMC-*b*-PGA, le copolymère est directement « dissout » dans une solution aqueuse basique, laissée sous agitation pendant une dizaine d'heures, puis dialysée pour revenir à pH neutre.

Echantillon	$\overline{M}_n$ (exp) <sup>a</sup> (g.mol <sup>-1</sup> )	$\phi_{PGA}$ (% masse)	Concentration (g/L)	Rayon hydrodynamique (nm)
PCL <sub>16</sub> - <i>b</i> -PGA <sub>42</sub>	7 300	74	1	136
PCL <sub>16</sub> - <i>b</i> -PGA <sub>74</sub>	11 400	83	1	180
PTMC <sub>20</sub> - <i>b</i> -PGA <sub>12</sub>	3 700	42	1	65
PTMC <sub>20</sub> - <i>b</i> -PGA <sub>26</sub>	5 450	61	1	66
PTMC <sub>20</sub> - <i>b</i> -PGA <sub>38</sub>	6 950	70	1	57

Tableau 4-3 : Rayons hydrodynamiques de nanoparticules de copolymères à blocs amphiphiles PCL-*b*-PGA et PTMC-*b*-PGA

Dans le cas des copolymères PTMC-*b*-PGA, les tailles des nanoparticules obtenues sont deux fois plus faibles que dans le cas des copolymères PBLG-*b*-PGA. Globalement, dans les

deux cas, les valeurs des rayons hydrodynamiques des micelles formées sont bien supérieures à celles observées dans la littérature, par exemple pour des systèmes de copolymères amphiphiles PCL-*b*-POE préparés par dissolution directe avec chauffage à 80°C ( $R_H \sim 20$  nm).<sup>44</sup> L'étude de systèmes de copolymères à blocs amphiphiles poly(butadiène)-*b*-PGA (PB-*b*-PGA) par Chécot *et al.* a mis en évidence la formation de micelles ( $R_H \sim 35$  nm) et de vésicules ( $R_H \sim 53$  à 106 nm) selon la longueur du segment PGA.<sup>45</sup> Dans le cas de systèmes PB<sub>48</sub>-*b*-PGA<sub>n</sub> où  $n = 114$  et 145, les auteurs obtiennent des micelles tandis qu'avec  $n = 20$  et 56, les auteurs obtiennent des vésicules (cette structure a été confirmée par la détermination du rapport  $R_G/R_H$ ). La taille de nos systèmes se rapproche de celles observées dans le cas des vésicules de PB-*b*-PGA, mais n'ayant pas la possibilité d'effectuer des mesures de rayon de giration par diffusion statique de la lumière, il nous est impossible d'affirmer qu'il s'agit bien de vésicules. Néanmoins, les grandes tailles obtenues (par rapport aux dimensions moléculaires) suggèrent la formation de vésicules. Des analyses effectuées en microscopie électronique à transmission (TEM) nous ont permis d'observer des morphologies de type vésiculaire, de tailles comparables à celles mesurées par diffusion de la lumière.

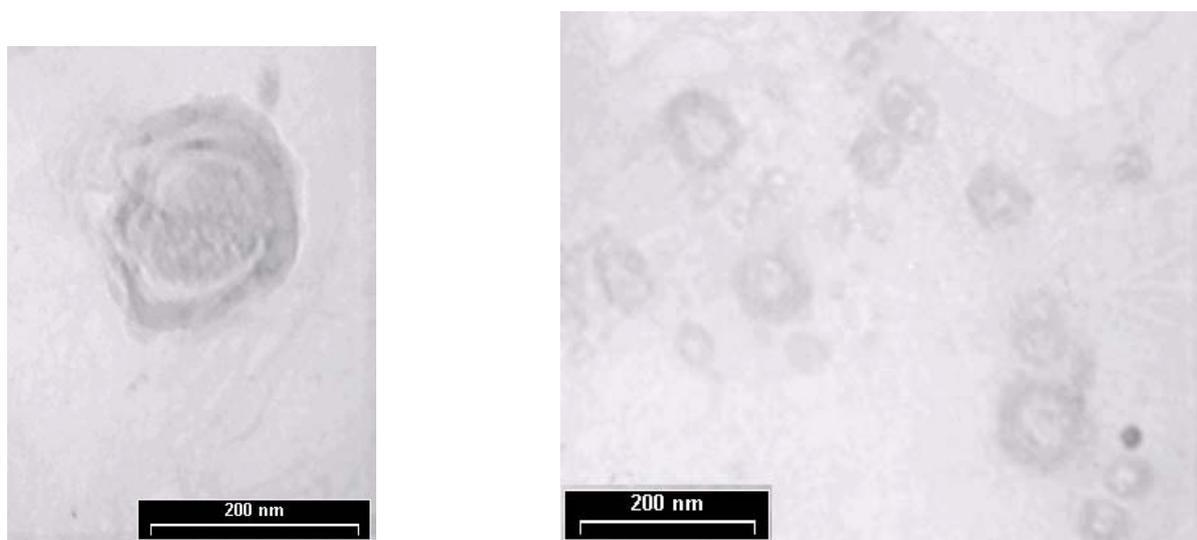


Fig. 4-8 : Images TEM des vésicules de PCL<sub>16</sub>-*b*-PGA<sub>74</sub> (à gauche) et PTMC<sub>20</sub>-*b*-PGA<sub>26</sub> (à droite)

## IV. DEGRADATION DES NANOPARTICULES DE COPOLYMERES PAR VOIE ENZYMATIQUE

Nous nous sommes attachés, dans cette dernière partie, à étudier la dégradation par voie enzymatique des systèmes de nanoparticules préparées précédemment (selon le protocole A). Pour cela, nous avons utilisé la lipase *Pseudomonas* (PS) spécifique à la dégradation de la PCL.<sup>46</sup> Celle-ci permet en effet d'accéder à des temps de dégradation de l'ordre de 4 jours, dans le cas de films de polymère, alors qu'une dégradation hydrolytique nécessite plusieurs années.<sup>47</sup> La dégradation par voie enzymatique de nos échantillons de nanoparticules dans l'eau a été effectuée à 37°C, avec une concentration en polymère ou copolymère de 0,1 g/L et une concentration en lipase de 0,02 g/L. Nous avons suivi la dégradation des systèmes par diffusion de la lumière en mesurant les variations de l'intensité diffusée par les nanoparticules au cours du temps qui sont représentées Fig. 4-9 dans le cas des copolymères PCL-*b*-PBLG.

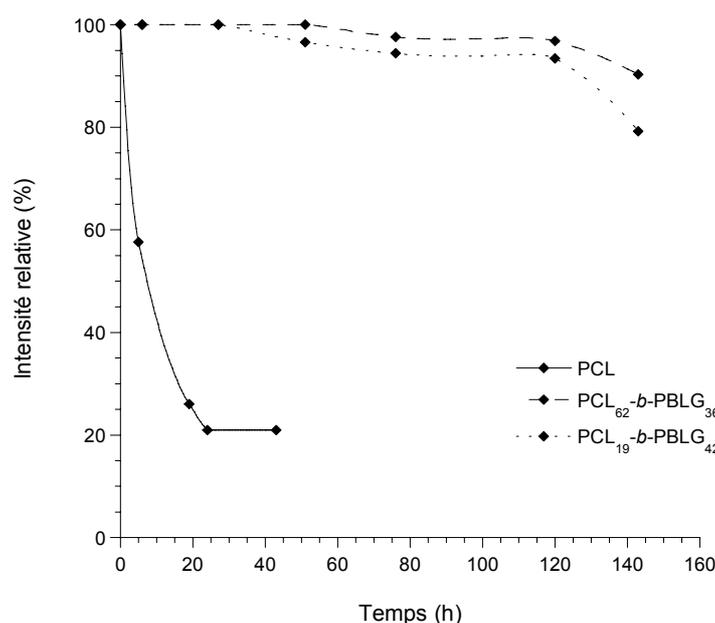


Fig. 4-9 : Profils de dégradation par voie enzymatique des nanoparticules de copolymères PCL-*b*-PBLG et des homopolymères correspondants, dans l'eau

On remarque tout d'abord que la dégradation de la PCL est effectivement très rapide en présence de la lipase PS puisque l'intensité diffusée par les nanoparticules a diminué de 80% au bout de 2 jours. On remarque également que la dégradation des copolymères est beaucoup plus lente que celle des nanoparticules de l'homopolymère PCL correspondant, même dans le cas où la fraction massique en segments PCL est proche de 50% (PCL<sub>62</sub>-*b*-PBLG<sub>36</sub>).

La dégradation des nanoparticules de copolymère PTMC-*b*-PBLG conduit à des résultats différents puisque dans ce cas les nanoparticules de copolymère semblent suivre un profil de dégradation intermédiaire entre les profils de dégradation des nanoparticules des homopolymères correspondants (Fig. 4-10). Il est à noter qu'au bout d'une trentaine d'heures les nanoparticules de PTMC ne sont plus observables en diffusion de la lumière, soit parce qu'elles se sont complètement désagrégées, soit parce que l'intensité diffusée devient trop faible.

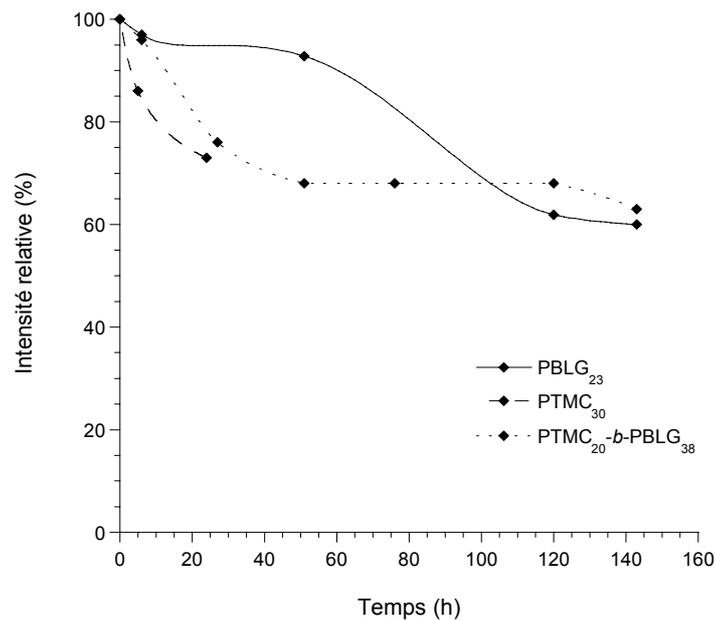


Fig. 4-10 : Profils de dégradation par voie enzymatique des nanoparticules de copolymères PTMC-*b*-PBLG et des homopolymères correspondants, dans l'eau

Il est important de souligner qu'aucune modification notable de la taille des nanoparticules n'est observée au cours de la dégradation, sauf dans le cas des nanoparticules de PCL et de PTMC (Fig. 4-11). Dans ces cas précis où les nanoparticules ne possèdent pas une morphologie de type cœur-couronne, stabilisée par un cœur compact de PBLG, la dégradation des chaînes de polymère entraîne directement la destruction des objets formés. Dans le cas des nanoparticules de PBLG, on peut penser que les liaisons ester de benzyle des groupements fonctionnels de la chaîne polymère sont hydrolysés en premier et que la chaîne polymère elle-même ne subit pas de coupures. La conservation de la taille des nanoparticules, même au bout de 140 heures lorsque l'intensité diffusée par les nanoparticules a diminué de 40%, pourrait ainsi être expliquée.

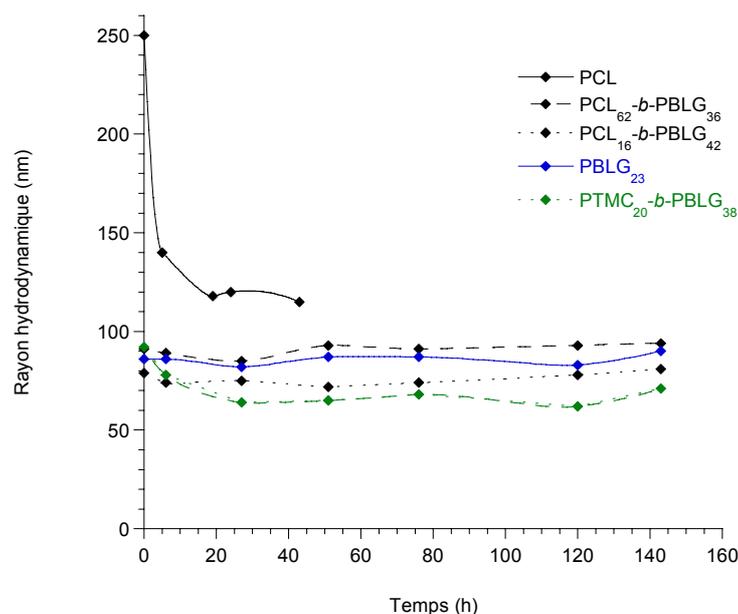


Fig. 4-11 : Evolution de la taille des nanoparticules des différents systèmes au cours de la dégradation par voie enzymatique

## CONCLUSION

L'étude des propriétés d'auto-assemblage en solution aqueuse des copolymères à blocs amphiphiles PCL-*b*-PGA et PTMC-*b*-PGA nous a permis de mettre en évidence la formation de vésicules de taille caractéristique de l'ordre de 250 à 350 nm pour les premiers et de 110 à 130 nm pour les seconds. Nous avons montré que la nature du bloc polyester avait un effet très important sur les propriétés d'auto-assemblage des systèmes puisque dans le cas du PTMC, la préparation des nanoparticules par dissolution directe a été relativement aisée, alors que dans le cas de la PCL la préparation des nanoparticules a nécessité l'utilisation d'un co-solvant. L'utilisation de copolymères à blocs amphiphiles PTMC-*b*-PGA pour la préparation de nanoparticules en solution aqueuse potentiellement utilisables pour le transport de médicaments semble être le choix le plus judicieux compte tenu de la facilité de préparation des particules et des tailles caractéristiques obtenues.

Concernant les systèmes de copolymères à blocs double hydrophobes PCL-*b*-PBLG et PTMC-*b*-PBLG, la préparation de nanoparticules en solution aqueuse a été possible grâce à l'utilisation de la nanoprécipitation. Cette technique, directe, rapide, facile à mettre en œuvre et reproductible a permis la préparation de nanoparticules de type cœur-couronne de taille caractéristique inférieure à 200 nm. L'étude de la dégradation par voie enzymatique de ces systèmes a permis de mettre en évidence des profils de dégradation très différents de ceux

obtenus dans le cas de nanoparticules des homopolymères correspondants et parfois intermédiaires. Il semble donc possible de moduler les propriétés de dégradation des nanoparticules de copolymères obtenues en fonction de la composition des copolymères. Cependant une étude plus détaillée est à envisager pour tenter de déterminer des profils de dégradation et des tendances plus précis.

- <sup>1</sup> Allen, C.; Maysinger, D.; Eisenberg, A. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **1999**, *16*, 3-27.
- <sup>2</sup> Kakizawa, Y.; Kataoka, K. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2002**, *54*, 203-222.
- <sup>3</sup> Haag, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 278-282.
- <sup>4</sup> Gaucher, G.; Dufresne, M.-H.; Sant, V. P.; Kang, N.; Maysinger, D.; Leroux, J.-C. *Journal of Controlled Release* **2005**, *109*, 169-188.
- <sup>5</sup> Nishiyama, N.; Kataoka, K. *Advances in Polymer Science* **2006**, *193*, 67-101.
- <sup>6</sup> Förster, S.; Plantenberg, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 688-714.
- <sup>7</sup> Lavasanifar, A.; Samuel, J.; Kwon, G. S. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2002**, *54*, 169-190.
- <sup>8</sup> Osada, K.; Kataoka, K. *Advances in Polymer Science* **2006**, *202*, 113-153.
- <sup>9</sup> Kataoka, K.; Kwon, G. S.; Yokoyama, M.; Okano, T.; Sakurai, Y. *Journal of Controlled Release* **1993**, *24*, 119-132.
- <sup>10</sup> Kataoka, K.; Harada, A.; Nagasaki, Y. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2001**, *47*, 113-131.
- <sup>11</sup> Kwon, G. S.; Naito, M.; Yokoyama, M.; Okano, T.; Sakurai, Y.; Kataoka, K. *Langmuir* **1993**, *9*, 945-949.
- <sup>12</sup> Kwon, G. S.; Naito, M.; Kataoka, K.; Yokoyama, M.; Sakurai, Y.; Okano, T. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **1994**, *2*, 429-434.
- <sup>13</sup> Kwon, G. S.; Naito, M.; Yokoyama, M.; Okano, T.; Sakurai, Y.; Kataoka, K. *Journal of Controlled Release* **1997**, *48*, 195-201.
- <sup>14</sup> Kataoka, K.; Matsumoto, T.; Yokoyama, M.; Okano, T.; Sakurai, Y.; Fukushima, S.; Okamoto, K.; Kwon, G. S. *Journal of Controlled Release* **2000**, *64*, 143-153.
- <sup>15</sup> Nagasaki, Y.; Okada, T.; Scholz, C.; Iijima, M.; Kato, M.; Kataoka, K. *Macromolecules* **1998**, *31*, 1473-1479.
- <sup>16</sup> Yasugi, K.; Nagasaki, Y.; Kato, M.; Kataoka, K. *Journal of Controlled Release* **1999**, *62*, 89-100.
- <sup>17</sup> Yamamoto, Y.; Nagasaki, Y.; Kato, M.; Kataoka, K. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **1999**, *16*, 135-146.
- <sup>18</sup> Yamamoto, Y.; Yasugi, K.; Harada, A.; Nagasaki, Y.; Kataoka, K. *Journal of Controlled Release* **2002**, *82*, 359-371.
- <sup>19</sup> Allen, C.; Yu, Y.; Maysinger, D.; Eisenberg, A. *Bioconjugate Chemistry* **1998**, *9*, 564-572.
- <sup>20</sup> Gref, R.; Minamitake, Y.; Peracchia, M. T.; Trubetsky, V.; Torchilin, V. P.; Langer, R. *Science* **1994**, *263*, 1600.
- <sup>21</sup> Oh, K. T.; Bronich, T. K.; Kabanov, A. V. *Journal of Controlled Release* **2004**, *94*, 411-422.
- <sup>22</sup> Jeong, Y.-I.; Seo, S.-J.; Park, I.-K.; Lee, H.-C.; Kang, I.-C.; Akaike, T.; Cho, C.-S. *International Journal of Pharmaceutics* **2005**, *296*, 151-161.
- <sup>23</sup> Zhang, Z.; Grijpma, D. W.; Feijen, J. *Journal of Controlled Release* **2006**, *111*, 263-270.
- <sup>24</sup> Zhang, Z.; Grijpma, D. W.; Feijen, J. *Journal of Controlled Release* **2006**, *112*, 57-63.
- <sup>25</sup> Yokoyama, M.; Sugiyama, T.; Okano, T.; Sakurai, Y.; Naito, M.; Kataoka, K. *Pharmaceutical Research* **1993**, *10*, 895-899.
- <sup>26</sup> Lavasanifar, A.; Samuel, J.; Kwon, G. S. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2001**, *22*, 115-126.
- <sup>27</sup> Shuai, X.; Merdan, T.; Schaper, A. K.; Xi, F.; Kissel, T. *Bioconjugate Chemistry* **2004**, *15*.
- <sup>28</sup> Wagner, E.; Kloeckner, J. *Advances in Polymer Science* **2006**, *192*, 135-173.
- <sup>29</sup> Harada, A.; Kataoka, K. *Macromolecules* **1995**, *28*, 5294-5299.
- <sup>30</sup> Harada, A.; Kataoka, K. *J. Macromol. Sci. Pure Appl. Chem.* **1997**, *A34*, 2119.
- <sup>31</sup> Kabanov, A. V.; Felgner, P. L.; Seymour, L. W. *Self-assembling complexes for gene delivery from laboratory to clinical trial*; Wiley: Chichester, **1998**.
- <sup>32</sup> Discher, D. E.; Eisenberg, A. *Science* **2002**, *297*, 967-973.
- <sup>33</sup> Antonietti, M.; Förster, S. *Adv. Mater.* **2003**, *15*, 1323-1333.
- <sup>34</sup> Fessi, H.; Devissaguet, J.-P.; Puisieux, F.; Thies, C.; C.N.R.S., FR, 2,608,988, **1988**
- <sup>35</sup> Chorny, M.; Fishbein, I.; Danenberg, H. D.; Golomb, G. *Journal of Controlled Release* **2002**, *83*, 389-400.
- <sup>36</sup> Niwa, T.; Takeuchi, H.; Hino, T.; Kunou, N.; Kawashima, Y. *Journal of Controlled Release* **1993**, *25*, 89-98.
- <sup>37</sup> Molpeceres, J.; Guzman, M.; Aberturas, M. R.; Chacon, M.; Berges, L. *Journal of Pharmaceutical Science* **1996**, *85*, 206-213.

- <sup>38</sup> Ge, H.; Hu, Y.; Yang, S.; Jiang, X.; Yang, C. *J. Appl. Polym. Sci.* **2000**, *75*, 874-882.
- <sup>39</sup> Ren, J.; Hong, H.; Song, J.; Ren, T. *J. Appl. Polym. Sci.* **2005**, *98*, 1884-1890.
- <sup>40</sup> Zhang, Y.; Zhuo, R. *Biomaterials* **2005**, *26*, 6736-6742.
- <sup>41</sup> Ge, H.; Hu, Y.; Jiang, X.; Cheng, D.; Yuan, Y.; Bi, H.; Yang, C. *J. Pharm. Sci.* **2002**, *91*, 1463-1473.
- <sup>42</sup> Bilati, U.; Allémann, E.; Doelker, E. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2005**, *24*, 67-75.
- <sup>43</sup> Govender, T.; Stolnik, S.; Garnett, M. C.; Illum, L.; Davis, S. S. *Journal of Controlled Release* **1999**, *57*, 171-185.
- <sup>44</sup> Vangeyte, P.; Leyh, B.; Heinrich, M.; Grandjean, J.; Bourgaux, C.; Jérôme, R. *Langmuir* **2004**, *20*, 8442-8451.
- <sup>45</sup> Chécot, F.; Brûlet, A.; Oberdisse, J.; Gnanou, Y.; Mondain-Monval, O.; Lecommandoux, S. *Langmuir* **2005**, *21*, 4308-4315.
- <sup>46</sup> Gan, Z.; Liang, Q.; Zhang, J.; Jing, X. *Polym. Degrad. Stab.* **1997**, *56*, 209-213.
- <sup>47</sup> Li, S.; Vert, M. In *The Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*; Mathiowitz, E., Ed.; John Wiley & Sons: New York, **1999**; pp 71-93.

---

# CONCLUSION GÉNÉRALE

---



Ce travail de thèse avait pour objectif principal de préparer des architectures de copolymères à blocs polyester-*b*-poly(acide  $\alpha$ -aminé) amphiphiles dégradables et biorésorbables, potentiellement utilisables dans le domaine du transport de médicaments, d'étudier leurs propriétés d'auto-organisation en solution aqueuse et de déterminer l'effet de la nature du bloc polyester sur les propriétés globales des systèmes.

Pour cela, la majeure partie des travaux a été consacrée à la synthèse de copolymères à blocs double hydrophobe PCL-*b*-PBLG, PTMC-*b*-PBLG et de leurs homologues amphiphiles PCL-*b*-PGA, PTMC-*b*-PGA. Nous avons pu synthétiser ce type d'architectures de manière contrôlée et bien définie en utilisant une stratégie impliquant l'utilisation de précurseurs polyesters fonctionnalisés par une amine primaire qui ont servi à amorcer la polymérisation par ouverture de cycle du L-glutamate de  $\gamma$ -benzyle NCA. Les précurseurs PCL et PTMC ont été obtenus à partir d'amorceurs fonctionnels et, même si leur préparation s'est avérée très délicate, cette méthode permet d'envisager, selon l'architecture et la nature des amorceurs fonctionnels, l'association de poly(acide  $\alpha$ -aminé)s à divers autres polymères, et selon des architectures plus élaborées. La voie de synthèse utilisée pour préparer de telles architectures qui paraissait relativement simple au départ, s'est finalement avérée beaucoup plus compliquée en raison de la nature polyester ou polycarbonate du bloc que nous avons choisi d'associer au poly(acide  $\alpha$ -aminé). Cependant, elle nous a permis de préparer des architectures à blocs amphiphiles PCL-*b*-PGA (dont la synthèse avait déjà été rapportée dans la littérature) et PTMC-*b*-PGA (dont la synthèse est décrite ici pour la première fois) « propres », bien définis et bien caractérisés, ce qui était un point essentiel pour la conduite d'études physico-chimiques fiables.

Dans la partie de ce travail consacrée à l'étude des propriétés d'organisation à l'état solide des systèmes PCL-*b*-PBLG et PTMC-*b*-PBLG, nous avons mis en évidence la présence d'une seconde structuration des segments PBLG différente d'une structuration en hélice  $\alpha$  habituellement observée pour ce type de copolymères. Nous avons également mis en évidence une séparation de phase au sein des copolymères, plus ou moins bien structurée selon la nature du bloc polyester, avec une organisation de type hexagonale dans lamellaire (composée d'une phase lamellaire constituée d'un empilement de couches des deux polymères et d'une sous-structure hexagonale des hélices  $\alpha$  de segments de PBLG), comme la plupart des systèmes « rigide-flexible » constitués d'un bloc poly(acide  $\alpha$ -aminé) PBLG ou PLys déjà étudiés, mais plus ou moins bien ordonnée selon la nature du polyester.

La dernière partie de ce travail a été consacrée à l'étude de la formation en milieu aqueux de nanoparticules de copolymères à blocs soit double hydrophobe (selon une méthode de nanoprécipitation), soit amphiphiles (par micellisation selon une méthode directe ou selon une méthode faisant intervenir un co-solvant). L'étude des propriétés d'auto-assemblage en solution aqueuse des copolymères à blocs amphiphiles PCL-*b*-PGA et PTMC-*b*-PGA nous a permis de mettre en évidence l'effet très important de la nature du bloc polyester sur la préparation et la formation de micelles de morphologie vésiculaire. Dans ce cas précis, l'utilisation de copolymères à blocs amphiphiles PTMC-*b*-PGA, pour la préparation de nanoparticules en solution aqueuse potentiellement utilisables pour le transport de médicaments, semble être le choix le plus judicieux en ce qui concerne la facilité de préparation des particules et la valeur des tailles caractéristiques obtenues. L'étude de la dégradation par voie enzymatique des différents systèmes de copolymères à blocs double hydrophobe PCL-*b*-PBLG et PTMC-*b*-PBLG a permis de mettre en évidence des profils de dégradation très différents de ceux obtenus dans le cas de nanoparticules des homopolymères correspondants et parfois intermédiaires. Il semble donc possible de moduler les propriétés de dégradation des nanoparticules de copolymères obtenues, en fonction de la composition de ces copolymères.

---

# PARTIE EXPÉRIMENTALE

---

I. Purification des réactifs	157
II. Synthèse des architectures à blocs polyester- <i>b</i> -poly(acide $\alpha$ -aminé)	157
II.1. Polymérisation de l' $\epsilon$ -CL et du PTMC	157
II.2. Déprotection de la fonction amine primaire terminale de la PCL et du PTMC	159
II.3. Synthèse des copolymères diblocs polyester- <i>b</i> -poly(L-glutamate de $\gamma$ -benzyle)	160
II.4. Synthèse des copolymères à blocs amphiphiles par hydrogénation du bloc PBLG en PGA	161
III. Techniques d'analyse et de caractérisation	163
III.1. Chromatographie d'exclusion stérique (CES)	163
III.2. Spectroscopie RMN	163
III.3. Spectroscopie IRTF	163
III.4. Spectroscopie de masse MALDI-TOF	164
III.5. Analyse enthalpique différentielle (DSC)	164
III.6. Techniques de microscopie (AFM et TEM)	164
III.7. Diffusion de la lumière	165
III.8. Diffusion des rayons-X (SAXS et WAXS)	164
III.8. Diffusion des neutrons aux petits angles (SANS)	165

---

Cette partie est entièrement dédiée à l'expérimentation. Les méthodes de purification des principaux réactifs et solvants sont présentées dans un premier temps, puis dans un deuxième temps les méthodes de synthèse mises en œuvre pour préparer les copolymères étudiés sont détaillées. Enfin, les techniques d'analyse et de caractérisation employées sont décrites.

## I. PURIFICATION DES REACTIFS

Toutes les manipulations et expériences ont été réalisées sous atmosphère inerte (< 3 ppm d'O<sub>2</sub> ; argon, azote ; vide) en boîte-à-gants (Jacomex) ou sur rampe à vide.

Les solvants ( $\chi$  Lab) ont été séchés selon les méthodes usuelles et stockés sous pression réduite sur le desséchant approprié :

- le toluène est distillé sur hydrure de calcium (CaH<sub>2</sub>), puis conservé sur miroir de sodium ;
- le dichlorométhane est distillé sur hydrure de calcium, puis stocké de nouveau sur hydrure de calcium ;
- le tétrahydrofurane est distillé sur hydrure de calcium, puis conservé sur un mélange sodium/benzophénone ;
- les solvants deutériés CDCl<sub>3</sub> et DMSO-*d*<sub>6</sub> sont séchés sur un mélange de tamis moléculaires de 3 et 4 Å.

Ils sont ensuite cryodistillés juste avant leur utilisation.

Les monomères utilisés sont disponibles commercialement :

- l' $\epsilon$ -caprolactone ( $\epsilon$ -CL) (Lancaster) est successivement séchée sur hydrure de calcium (une semaine) puis sur 4,4'-méthylène(bis-phénylisocyanate), avant d'être distillée ;  
RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz) :  $\delta$  = 4,17 (t, 2H), 2,57 (t, 2H), 1,73 (m, 6H).
- le triméthylène carbonate (TMC) (Labso Chimie Fine) est sublimé ;  
RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) :  $\delta$  = 4,39 (t, 4H), 2,09 (qt, 2H).

## II. SYNTHÈSE DES COPOLYMERES DIBLOCS PCL-*b*-PBLG et PTMC-*b*-PBLG

### II.1. Polymérisation de l' $\epsilon$ -CL et du TMC

#### **Réactifs :**

Le diéthylzinc (solution à 1,1M dans le toluène) est stocké en boîte-à-gants et utilisé sans purification préalable. Les différents alcools : 3-(Boc-amino)-1-propanol, *N*-Boc-ethanolamine, Boc-L-valinol, *N*-Boc-L-cyclohexylglycinol et 3-(Fmoc-amino)-1-propanol sont également utilisés sans purification préalable.

• Diéthylzinc (ZnEt<sub>2</sub>) :

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) : δ = 1,17 (t, 3H), 0,28 (q, 2H).

• 3-(Boc-amino)-1-propanol (1) :

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) : δ = 4,89 (sl, 1H ; NH), 3,63 (t, 2H ; CH<sub>2</sub>OH), 3,25 (q, 2H ; CH<sub>2</sub>NH), 2,75 (sl, 1H ; OH), 1,64 (qt, 2H ; CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1,42 (s, 9H ; <sup>t</sup>Bu).

• N-Boc-ethanolamine (2) :

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) : δ = 5,03 (sl, 1H ; NH), 3,67 (t, 2H ; CH<sub>2</sub>OH), 3,26 (t, 2H ; CH<sub>2</sub>NH), 2,61 (sl, 1H ; OH), 1,43 (s, 9H ; <sup>t</sup>Bu).

• Boc-L-valinol (3) :

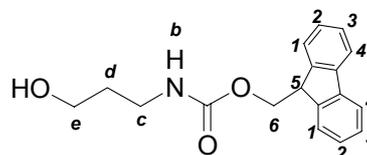
RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) : δ = 4,82 (sl, 1H ; NH), 3,58 (m, 2H ; CH<sub>2</sub>OH), 3,37 (sl, 1H ; CHNH), 2,93 (sl, 1H ; OH), 1,80 (m, 1H ; CHCH<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>), 1,41 (s, 9H ; <sup>t</sup>Bu), 0,90 (m, 6H ; CHCH<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>).

• N-Boc-L-cyclohexylglycinol (4) :

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) : δ = 4,72 (sl, 1H ; NH), 3,63 (m, 2H ; CH<sub>2</sub>OH), 3,41 (sl, 1H ; CHNH), 2,59 (sl, 1H ; OH), 2,56 (m, 5H ; CHC<sub>5</sub>H<sub>10</sub>), 1,43 (sl, 9H + 1H ; <sup>t</sup>Bu + CHC<sub>5</sub>H<sub>10</sub>), 1,10 (m, 5H ; CHC<sub>5</sub>H<sub>10</sub>).

• 3-(Fmoc-amino)-1-propanol (5) :

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) : δ = 7,76 & 7,58 (d, 4H ; 1 & 4), 7,40 & 7,32 (t, 4H ; 2 & 3), 5,06 (sl, 1H ; b), 4,43 (d, 2H ; 6), 4,21 (t, 1H ; 5), 3,64 (t, 2H ; e), 3,35 (q, 2H ; c), 2,30 (sl, 1H ; OH), 1,68 (qt, 2H ; d).



**Mode opératoire :**

Le diéthylzinc dissout dans le solvant de réaction, puis le monomère également dissout dans le solvant de réaction<sup>†</sup>, sont successivement ajoutés sur l'alcool de départ (1,2 éq. par centre actif Zn-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) préalablement placé dans le ballon réactionnel.

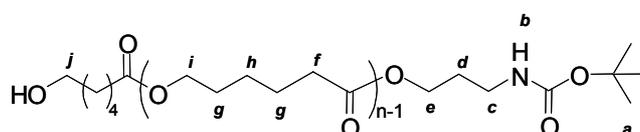
---

<sup>†</sup> Toluène dans le cas de l' $\epsilon$ -caprolactone avec les alcools (1), (2), (3) et (4). Dichlorométhane dans le cas de l' $\epsilon$ -caprolactone avec l'alcool (5). Tétrahydrofurane dans le cas du triméthylène carbonate avec l'alcool (1).

Le mélange est ensuite désactivé, au bout du temps approprié, par l'addition d'une solution d'acide acétique dans le toluène, puis séché. La RMN  $^1\text{H}$  du polymère brut obtenu permet de déterminer la conversion en monomère. Ce polymère brut est ensuite dissout dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  et précipité à froid dans le méthanol. Une centrifugation à froid permet de récupérer le polymère qui est ensuite séché avant d'être analysé par CES et RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ .

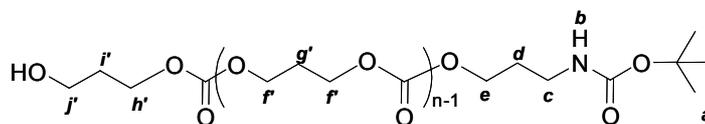
• HO-PCL-O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH'Boc :

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) :  $\delta = 4,72$  (sl, 1H ; b), 4,12 (t, 2H ; e), 4,05 (t, (2n-2)H ; i), 3,63 (t, 2H ; j), 3,17 (q, 2H ; c), 2,29 (t, 2nH ; f), 1,80 (qt, 2H ; d), 1,63 (qt, 4nH ; g), 1,42 (s, 9H ; a), 1,37 (m, 2nH ; h).



• HO-PTMC-O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH'Boc :

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) :  $\delta = 4,72$  (sl, 1H ; b), 4,27 (t, 2H ; h'), 4,21 (t, (4n-4)H ; f'), 4,17 (t, 2H ; e), 3,70 (q, 2H ; j'), 3,18 (q, 2H ; c), 2,02 (qt, (2n-2)H ; g'), 1,89 (m, 2H ; i'), 1,83 (m, 2H ; d), 1,41 (s, 9H ; a).



## II.2. Déprotection de la fonction amine primaire terminale de la PCL et du PTMC

**Réactifs :**

Les polymères fonctionnels sont utilisés tels quels après précipitation. L'acide trifluoroacétique est utilisé sous sa forme commerciale.

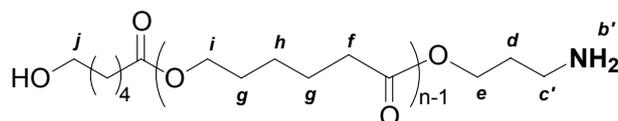
**Mode opératoire :**

1g de polymère dissout dans 10mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  est traité avec 2mL d'acide trifluoroacétique pendant 45min, sous agitation et à une température de 0°C. Après quoi, le volume du mélange réactionnel est ensuite complété à 100mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , puis traité par un volume équivalent d'une solution aqueuse de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (5% massique). Après lavage de la phase organique jusqu'à

neutralité, le solvant est évaporé et le polymère est séché sous vide primaire avant d'être analysé par CES dans le THF et RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$ .

• HO-PCL-O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sub>2</sub> :

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) :  $\delta = 4,14$  (t, 2H ; e), 4,05 (t, (2n-2)H ; i), 3,63 (t, 2H ; j), 2,75 (t, 2H ; c'), 2,29 (t, 2nH ; f), 1,77 (qt, 2H ; d), 1,63 (m, 4nH ; g), 1,37 (qt, 2nH ; h).



### II.3. Synthèse des copolymères diblocs polyester-*b*-poly(L-glutamate de $\gamma$ -benzyle)

**Réactifs :**

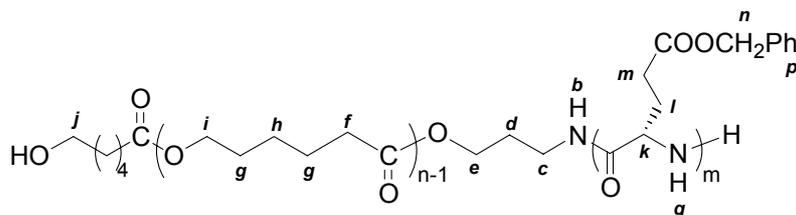
Les macroamorceurs PCL et PTMC fonctionnalisés  $\text{NH}_2$  sont utilisés tels quels sans purification supplémentaire.

**Mode opératoire :**

Une solution de monomère dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  est ajoutée sur une solution de macroamorceur dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Le mélange réactionnel est laissé, sous agitation, à température ambiante, pendant le temps approprié, avant d'être précipité directement dans un mélange éther/acétone (80/20). Une centrifugation permet de récupérer le copolymère qui est ensuite séché avant d'être analysé par CES (dans le DMF/LiBr à 60°C) et RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  (dans le  $\text{CDCl}_3/\text{TFA}$  20%).

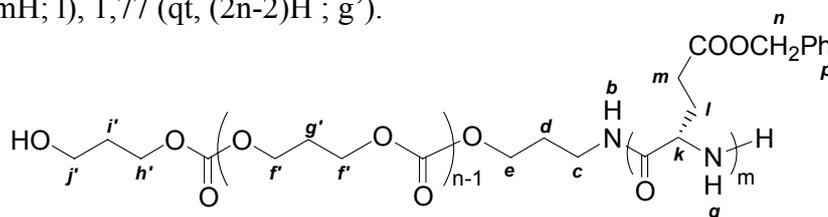
• HO-PCL-O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-NH-PBLG-NH<sub>2</sub> :

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/\text{TFA}$ , 400 MHz) :  $\delta = 7,49$  (d, (m-1)H ; q), 6,93 (m, 5mH ; p), 4,74 (m, 2mH ; n), 4,27 (sl, (m-1)H ; k), 4,05 (t, 2H ; e), 3,82 (t, (2n-2)H ; i), 3,49 (t, 2H ; j), 3,02 (sl, 2H ; c), 2,10 (2nH + 2mH ; f + m), 1,77/1,58 (m, 2mH ; l), 1,35 (m, 4nH ; g), 1,07 (qt, 2nH ; h).



• HO-PTMC-O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-NH-PBLG-NH<sub>2</sub> :

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>/TFA, 400 MHz) : δ = 7,49 (d, (m-1)H ; q), 6,93 (m, 5mH ; p), 4,74 (m, 2mH ; n), 4,27 (sl, (m-1)H ; k), 3,98 (t, (4n-4)H ; f'), 3,61 (t, 2H ; j'), 3,03 (sl, 2H ; c), 2,12 (2mH ; m), 1,77/1,58 (m, 2mH ; l), 1,77 (qt, (2n-2)H ; g').



**Remarque :**

L'ajout de TFA lors des analyses RMN <sup>1</sup>H des copolymères permet de casser les liaisons hydrogènes établies au sein du bloc polypeptidique et ainsi d'observer tous les signaux du bloc PBLG avec une très bonne résolution. En effet, certains signaux ne sont pas visibles dans le CDCl<sub>3</sub> seul, comme par exemple le signal q à 7,49 ppm correspondant à l'hydrogène du groupement amine -NH de la chaîne polypeptidique (Fig. 0-1).

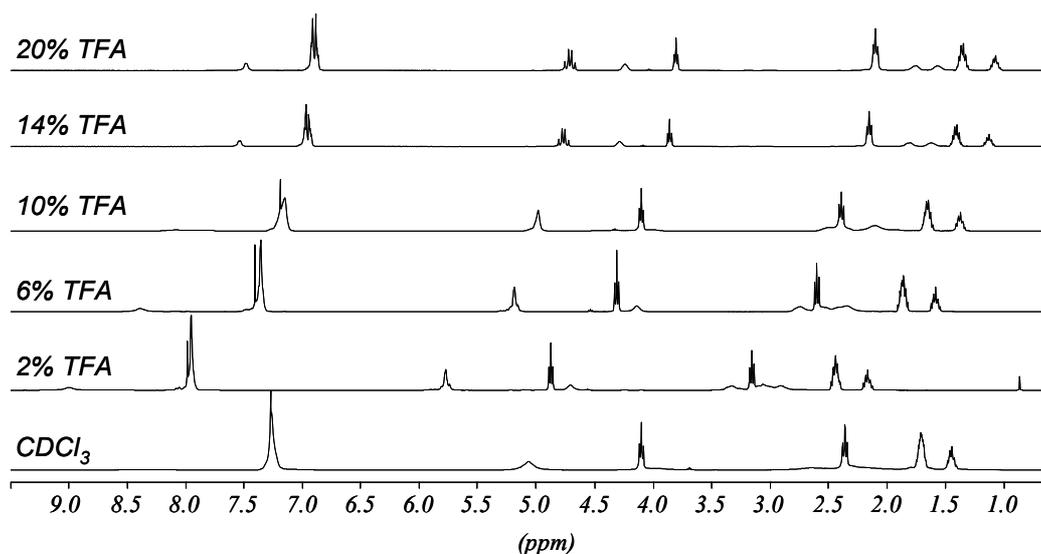


Fig. 0-1 : Spectres RMN <sup>1</sup>H (400 MHz) d'un même échantillon de PCL-*b*-PBLG dans le CDCl<sub>3</sub> seul et dans différents mélanges de CDCl<sub>3</sub>/TFA

## II.4. Synthèse des copolymères à blocs amphiphiles par hydrogénation du bloc PBLG en PGA

**Réactifs :**

Les copolymères PCL-*b*-PBLG et PTMC-*b*-PBLG sont utilisés tels sans purification supplémentaire. L'hydrogène et le Pd/C (10%) sont utilisés sous leur forme commerciale. Les solvants sont utilisés sans purification préalable.

**Mode opératoire :**

A une solution de copolymère dans un mélange THF/MeOH (3/1) est ajouté 10% (massique) de catalyseur Pd/C. Le mélange réactionnel est placé sous faible pression d'hydrogène (1-1,5 bars) et sous forte agitation, pendant 72h. Après 24h et 48h de réaction, le système est rechargé en hydrogène. Le catalyseur est ensuite complètement éliminé par centrifugation et filtrations successives et le copolymère hydrogéné est ensuite précipité dans un grand volume d'éther, avant d'être séché et analysé par RMN  $^1\text{H}$  (dans le DMSO- $d_6$ ).

**Remarque :**

Dans un premier temps, nous avons testé les conditions d'hydrogénation suivantes sur deux échantillons de copolymère PCL-*b*-PBLG (PCL<sub>18</sub>-*b*-PBLG<sub>42</sub> et PCL<sub>18</sub>-*b*-PBLG<sub>74</sub>) :

(A) THF (25 mg/mL), 20% en masse de Pd/C (10%), légère surpression d' $\text{H}_2$  dans un ballon en verre de volume 8 à 10 fois supérieur au volume d'hydrogène devant être théoriquement consommé, agitation vigoureuse, 18h à température ambiante

Dans ces conditions, l'hydrogénation des fonctions ester de benzyle n'est pas totale et il en reste environ 10% (Fig. 0-2).

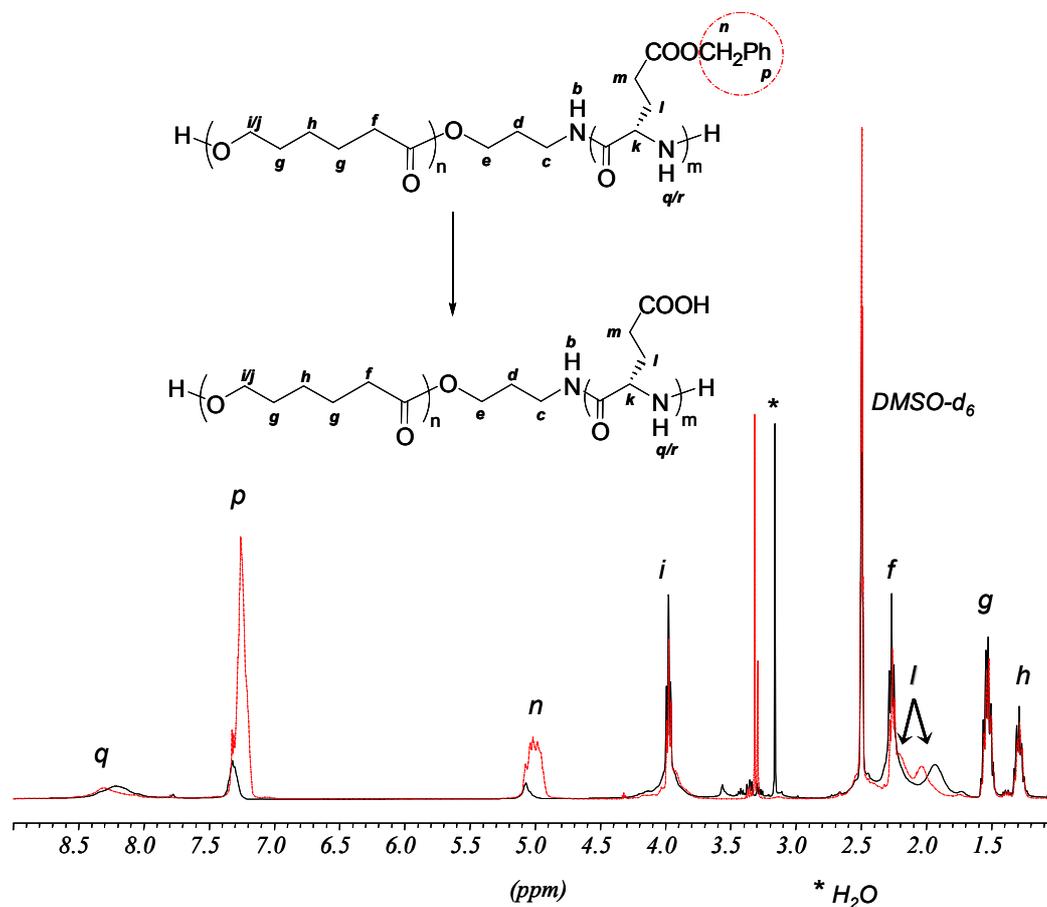


Fig. 0-2 : Spectres RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) dans le DMSO du copolymère PCL<sub>18</sub>-*b*-PBLG<sub>42</sub> avant et après hydrogénation dans les conditions (A)

Par la suite, nous avons préféré utiliser un montage avec un ballon beaucoup plus petit (1,5 à 2 fois le volume d'hydrogène devant être théoriquement consommé), en faisant régulièrement des cycles vide/H<sub>2</sub> et en laissant toujours une légère surpression d'environ 1-1,5 bars dans le ballon. Par ailleurs, nous avons également changé plusieurs paramètres de la réaction :

**(B)** THF/MeOH (3/1) (55 mg/mL), 10% en masse de Pd/C (10%), cycles vide/H<sub>2</sub> (3 à 4 cycles), légère surpression d'H<sub>2</sub>, agitation vigoureuse, 48h à température ambiante

Dans ces conditions, les fonctions ester de benzyle sont totalement hydrolysées.

### **III. TECHNIQUES D'ANALYSE ET DE CARACTERISATION**

#### **III.1. Chromatographie d'exclusion stérique (CES)**

Les analyses des homopolymères PCL et PTMC sont réalisées à température ambiante dans le THF. Le système d'analyse comporte un jeu de colonnes TOSOHAAS TSK-gel, un détecteur par réfractométrie différentielle VARIAN RI-3, un détecteur d'absorption UV-Visible ( $\lambda=254$  nm) JASCO 875 UV-Vis, et d'une pompe WATERS de type 880-PU. Les valeurs des masses molaires sont calculées grâce à une courbe d'étalonnage établie à partir d'échantillons de polystyrène. Dans le cas des échantillons de PCL, un facteur correctif de 0,56 est appliqué, tandis qu'un facteur correctif de 0,50 est appliqué dans le cas des échantillons de PTMC.

Les analyses des copolymères PCL-*b*-PBLG et PTMC-*b*-PBLG sont réalisées dans le DMF à 60°C en présence de LiBr (1g/L). Le système d'analyse de marque WATERS (Alliance GPCV2000) utilisé est constitué de trois colonnes de porosités différentes et d'une double détection : un réfractomètre différentiel couplé à un détecteur viscosimétrique.

#### **III.2. Spectroscopie RMN**

L'analyse des échantillons par résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone (RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C) a été réalisée à 400MHz sur un appareil Brüker AC400 et à température ambiante. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm par rapport au tétraméthylsilane. La concentration des solutions d'échantillons utilisées est de l'ordre de 50 mg/mL et les tubes utilisés présentent un diamètre de 5 mm.

### **III.3. Spectroscopie IRTF**

Les spectres infrarouge ont été obtenus avec un spectromètre Brüker Tensor 37 présentant un faisceau de 0,6 mm de diamètre, ne résolution de  $4 \text{ cm}^{-1}$  et un domaine spectral compris entre  $7\,400$  et  $375 \text{ cm}^{-1}$ . Les différents échantillons ont été analysés qualitativement après évaporation d'une goutte de solution à  $0,5 \text{ g/L}$  sur une cellule ATR. Les spectres obtenus ont, dans tous les cas, été corrigés en retranchant un spectre de référence.

### **III.4. Spectroscopie de masse MALDI-TOF**

La spectrométrie de masse MALDI-TOF a été réalisée sur un appareil Micromass TofSpec E équipé d'un laser azote opérant à  $337 \text{ nm}$  et pourvu d'un potentiel d'accélération de  $20 \text{ kV}$ . Les spectres obtenus représentent une moyenne de  $100$  impacts laser.

### **III.5. Analyse enthalpique différentielle (DSC)**

Les thermogrammes d'analyse enthalpique différentielle ont été obtenus avec un appareil DSC de PERKIN ELMER DSC, sous courant continu d'azote et d'argon. Les mesures ont été effectuées selon les cycles suivants :

- $100^\circ\text{C}$  à  $+160^\circ\text{C}$  avec une vitesse de chauffage de  $10^\circ\text{C}/\text{min}$
- +  $160^\circ\text{C}$  à  $-100^\circ\text{C}$  avec une vitesse de refroidissement de  $10^\circ\text{C}/\text{min}$
- $100^\circ\text{C}$  à  $+160^\circ\text{C}$  avec une vitesse de chauffage de  $10^\circ\text{C}/\text{min}$

### **III.6. Techniques de microscopie**

#### **III.6.1. Microscopie à force atomique (AFM)**

Les images de microscopie à force atomique ont été obtenues sur un microscope NanoScope IIIa Multimode de DIGITAL INSTRUMENTS en mode tapping. Les échantillons sont préparés par dépôt de quelques gouttes d'une solution de nanoparticules (de concentration  $0,01$  à  $0,1 \text{ g/L}$ ) sur un support de mica, puis évaporation de l'eau.

#### **III.6.2. Microscopie électronique à transmission (TEM)**

Les clichés de microscopie électronique en transmission ont été obtenus sur un microscope JEOL JEM100S opérant à  $100 \text{ kV}$ . Les échantillons sont préparés de la manière suivante : une goutte de solution ( $20 \mu\text{L}$ ) de concentration  $0,1 \text{ g/L}$  est placée pendant  $2$  minutes sur une grille de microscopie électronique adaptée ( $400$  mesh, grille en cuivre

recouverte successivement de carbone et d'un film hydrophile de « Formvar » ; Electron Microscopie Sciences).

### III.7. Diffusion de la lumière

Les mesures de diffusion dynamique de la lumière ont été effectuées avec le goniomètre ALV5000 Laser de ALV. La source du rayonnement est un laser hélium-néon (35mW) dont la longueur d'onde est égale à 632,8 nm. Il est équipé d'un corrélateur ALV-5000/EPP Multiple Tau Digital possédant un temps d'échantillonnage initial de 125 ns. Les mesures ont été réalisées à 25°C.

### III.8. Diffusion des rayons-X (SAXS et WAXS)

La diffusion des rayons X aux petits angles a été effectuée sur un appareil Nanostar SAXS System de Brüker équipé d'une source de rayons X (Cu-K $\alpha$ =1,54Å) travaillant à 45 kV et 30 mA. Les intensités diffusées sont collectées sur un détecteur bidimensionnel Highstar de Siemens. La distance entre l'échantillon et le détecteur peut être réglée à 23 cm ou 105 cm suivant le domaine de q que l'on veut explorer. La calibration angulaire pour chaque configuration est faite avec un échantillon de bécénate d'argent. Les profils SAXS sont corrigés en tenant compte de la transmission de l'échantillon et du porte-échantillon vide.

### III.9. Diffusion des neutrons aux petits angles (SANS)

Les expériences de SANS ont été réalisées au Laboratoire Léon Brillouin (CEA) à Saclay sur le spectromètre PACE. Ce spectromètre est caractérisé par :

- un sélecteur mécanique de longueur d'onde ( $2\text{Å} < \lambda < 40\text{Å}$  ;  $\Delta\lambda/\lambda = 10\%$ )
- la taille du faisceau de neutrons sur l'échantillon :  $0,7 \times 0,7 \text{ cm}^2$
- un détecteur multicanal au BF<sub>3</sub> formé de 30 anneaux concentriques de 1 cm d'épaisseur ( $3 \text{ cm} < r < 30 \text{ cm}$ ) qui peut être déplacé à une distance de l'échantillon variant entre 1 et 5 mètres.

Trois configurations différentes ont été utilisées de manière à obtenir une gamme de vecteur de diffusion q la plus grande possible :

- petits q :  $\lambda = 17\text{Å}$ , distance = 4,57 m ; ( $3,2 \cdot 10^{-3} \text{Å}^{-1} < q < 2,6 \cdot 10^{-2} \text{Å}^{-1}$ ) ; temps d'acquisition 3h
- moyens q :  $\lambda = 6\text{Å}$ , distance = 2,87 m ; ( $4,6 \cdot 10^{-2} \text{Å}^{-1} < q < 3,7 \cdot 10^{-1} \text{Å}^{-1}$ ) ; temps d'acquisition 20min

- grands  $q$  :  $\lambda = 5\text{\AA}$ , distance = 1,07 m ;  $(1,4 \cdot 10^{-2} \text{\AA}^{-1} < q < 1,2 \cdot 10^{-1} \text{\AA}^{-1})$  ; temps d'acquisition 15min

Les mesures ont été réalisées à température ambiante.

---

# ANNEXES

---

I. Introduction aux phénomènes de diffusion	169
I.1. La diffusion de la lumière	169
<i>I.1.1. La diffusion statique de la lumière (SLS)</i>	<i>169</i>
<i>I.1.2. La diffusion dynamique de la lumière (DLS)</i>	<i>170</i>
I.2. La diffusion des neutrons aux petits angles	173
I.3. La diffusion des rayons X	175
Références bibliographiques	176

---

# I. INTRODUCTION AUX PHENOMENES DE DIFFUSION

## I.1. La diffusion de la lumière

Le phénomène de diffusion de la lumière provient de l'interaction du champ électrique de l'onde lumineuse incidente avec les éléments constituant le matériau illuminé. Cette interaction induit localement une polarisation oscillante. Il se crée alors une multitude de sources lumineuses au sein du matériau qui vont réémettre avec une longueur d'onde proche de celle de l'éclairement incident. La diffusion de la lumière est une technique très utilisée pour étudier la dynamique et la structure des solutions macromoléculaires et colloïdales.

Selon le traitement de l'intensité diffusée, on distingue deux types d'expériences : la diffusion élastique ou statique de la lumière (SLS) et la diffusion quasi-élastique ou dynamique de la lumière (DLS).

### I.1.1. La diffusion statique de la lumière (SLS)

La diffusion statique de la lumière est basée sur la mesure de l'intensité moyenne diffusée, elle néglige les fluctuations temporelles et repose uniquement sur l'analyse de fluctuations spatiales. Elle permet d'accéder aux facteurs de structure et de forme des objets en solution et donc à leur masse, leur forme et leur taille, ainsi qu'au second coefficient du Viriel qui renseigne sur les interactions intermoléculaires. Dans le cas des macromolécules, des colloïdes ou des agrégats, la lumière diffusée par les différents dipôles d'une même particule donne lieu à des interférences constructives ou destructives non négligeables. Ainsi, l'intensité diffusée est fortement dépendante de la forme des particules et de l'angle de diffusion  $\theta$ . Pour une solution non idéale de concentration  $C$  où les objets ne sont pas en interaction, Debye a démontré la relation suivante :

$$\frac{KC}{\Delta R_\theta} = \frac{1}{\overline{M_w}P(q)} + 2A_2C$$

où  $\overline{M_w}$  est la masse molaire moyenne en masse,  $A_2$  le second coefficient du Viriel,  $P(q)$  le facteur de forme de l'objet et  $K$  la constante de diffusion définie par :

$$K = \frac{4\pi^2 n^2}{\lambda_i^4 N_A} \left( \frac{dn}{dc} \right)^2$$

avec  $n$  l'indice de réfraction du milieu,  $N_A$  le nombre d'Avogadro et  $(dn/dc)$  l'incrément d'indice de réfraction avec la concentration. Expérimentalement, on obtient le facteur de Rayleigh  $\Delta R_\theta$  de façon indirecte par la relation suivante :

$$\Delta R_\theta = \frac{I - I_{\text{solvant}}}{I_{\text{standard}}} \left( \frac{n_{\text{solvant}}}{n_{\text{standard}}} \right)^2 R_{\text{standard}}$$

où  $I$ ,  $I_{\text{solvant}}$  et  $I_{\text{standard}}$  sont respectivement l'intensité mesurée pour l'échantillon, le solvant et le standard,  $n_{\text{solvant}}$  et  $n_{\text{standard}}$  respectivement les indices de réfraction du solvant et du standard, et  $R_{\text{standard}}$  le facteur de Rayleigh du standard. Dans notre cas, le composé standard utilisé est le toluène, dont le facteur de Rayleigh est vaut  $1.3522 \times 10^{-5} \text{ cm}^{-1}$  à  $\lambda_i = 632,8 \text{ nm}$ . Dans le régime de Guinier défini pour  $qR_G \ll 1$ , le facteur de forme  $P(q)$  est relié au rayon de giration des particules  $R_G$  par la relation suivante :

$$P(q)_{q \rightarrow 0} \approx 1 - \frac{q^2}{3} \langle R_G^2 \rangle$$

Lors d'une expérience classique de diffusion statique de la lumière, on mesure l'intensité diffusée à différents angles  $\theta$  et à différentes concentrations. L'exploitation des résultats en utilisant le diagramme de Zimm qui permet de représenter sur le même graphique le produit  $KC/\Delta R_\theta$  en fonction des deux variables  $C$  et  $q$ . Cette méthode, valable en régime dilué et dans le cas où les particules sont caractérisées par une taille inférieure à 200 nm, permet grâce à une double extrapolation (à  $C=0$  et  $q=0$ ), d'obtenir simultanément la masse molaire moyenne en masse  $\overline{M}_w$ , le rayon de giration  $R_G$  et le second coefficient du Viriel  $A_2$ . Ce coefficient qui traduit les propriétés thermodynamiques de la solution est positif en bon solvant, négatif en mauvais solvant et nul en solvant thêta. Les pentes des courbes obtenues par extrapolation à angle nul et à concentration nulle sont respectivement égales à  $2A_2$  et  $\langle R_G^2 \rangle / 3 \overline{M}_w$ . Dans les deux cas, l'ordonnée à l'origine permet d'obtenir  $\overline{M}_w^{-1}$ .

### I.1.2. La diffusion dynamique de la lumière (DLS)

La diffusion de la lumière ne se limite pas à des mesures statiques de l'intensité diffusée comme celles décrites dans le paragraphe précédent. On peut également s'intéresser à la fluctuation dans le temps de la lumière diffusée par la matière. En effet, ces fluctuations diffusantes, engendrées par le mouvement brownien des particules, sont susceptibles de provoquer un élargissement de la raie spectrale incidente. Cet élargissement est certes petit, mais détectable si la source lumineuse incidente est suffisamment monochromatique. L'étude

de cet élargissement par analyse temporelle du signal diffusé permet d'avoir accès à la dynamique des systèmes étudiés et notamment aux temps de relaxation des particules et à leurs coefficients de diffusion. Cependant, en diffusion dynamique de la lumière, les informations dynamiques ne sont pas mesurées directement. C'est la fonction d'auto-corrélation temporelle normée de l'intensité diffusée  $g^2(q,t)$ , pour un angle d'observation donné, qui est accessible.

$$g^2(q,t) = \frac{\langle I(q,0)I(q,t) \rangle}{\langle I(q,0) \rangle^2}$$

Cette fonction d'auto-corrélation indique la manière dont sont dépendantes les valeurs de l'intensité diffusée à deux instants différents. Généralement,  $g^2(q,t)$  décroît lorsque  $t$  augmente. En effet, après un temps suffisamment long, la marche au hasard des particules induit une perte de mémoire du système et la corrélation avec l'instant zéro devient inexistante. Si le champ électrique obéit à une distribution gaussienne, on peut relier par la relation de Siegert les fonctions d'auto-corrélation temporelles normées du champ électrique diffusé  $g^1(q,t)$ , et de l'intensité diffusée  $g^2(q,t)$  :

$$g^2(q,t) = 1 + |g^1(q,t)|^2$$

Cette fonction  $g^1(q,t)$  est l'inverse de la transformée de Laplace du spectre des temps de relaxation. En conséquence, connaissant  $g^2(q,t)$ , le ou les temps de relaxation peuvent être déterminés pour une valeur du vecteur d'onde  $q$ . Il existe plusieurs méthodes pour analyser les fonctions d'auto-corrélation. La plus simple pour la cas de particules monodisperses consiste à décrire la fonction d'auto-corrélation par une simple exponentielle :

$$g^1(q,t) = Ae^{-\Gamma t}$$

avec  $\Gamma$  la fréquence de relaxation de la fonction d'auto-corrélation temporelle normée des fluctuations de concentration. Une autre méthode, couramment utilisée lorsqu'un seul temps caractéristique est présent, consiste à traiter l'écart à une mono-exponentielle en termes de cumulants. On développe la fonction d'auto-corrélation en puissance de  $t$  en s'arrêtant généralement au terme quadratique :

$$\ln(g^1(q,t))_{t \rightarrow 0} \approx \Gamma_0 - \Gamma_1 t + \Gamma_2 \frac{t^2}{2!} \dots$$

Les coefficients  $\Gamma_n$  sont appelés cumulants. Pour une solution idéale monodisperse, le développement s'arrête au terme linéaire du premier cumulant  $\Gamma_1$ . Pour une solution « polydisperse », le premier cumulant  $\Gamma_1$  donne la valeur moyenne de la fréquence de

relaxation tandis que le deuxième cumulant  $\Gamma_2$  donne l'écart type de la distribution des fréquences de relaxation. Le degré de dispersité est obtenu par le rapport  $\Gamma_2/\Gamma_1^2$ . Finalement, une approche plus complète pour déterminer les différents temps de relaxation est la méthode CONTIN développée par Provencher. Elle présente l'avantage de ne pas imposer initialement de contrainte sur la forme analytique de la solution éventuelle et permet d'évaluer la distribution des tailles hydrodynamiques. Ainsi, si le profil du spectre de diffusion de la lumière est décrit par une multi-lorentzienne, alors  $g^1(q,t)$  peut se mettre sous la forme :

$$g^1(q,t) = \int_0^{\infty} G(\Gamma)e^{-\Gamma t} d\Gamma$$

$G(\Gamma)$  représente la distribution des constantes de décroissance normalisées et  $\Gamma$  l'amplitude de la décroissance. Cette méthode est très bien appropriée dans le cas où l'on a un seul ou plusieurs types de particules de tailles très différentes. Dans le cas contraire, elle peut donner lieu à des difficultés (recouvrements de pics, épaulements). L'utilisation pour cette étude des deux dernières méthodes a permis d'obtenir des résultats très comparables.

La mesure de la fréquence de relaxation  $\Gamma$  n'est cependant pas une information dynamique en soi. Il faut la relier à un coefficient de diffusion d'objets. Ainsi pour un phénomène purement diffusif et à une concentration donnée en particules, chaque temps de relaxation  $\tau$  ( $1/\Gamma$ ) est associé à un coefficient de diffusion apparent  $D$  par la relation de Fick :

$$D = \frac{1}{\tau q^2} = \frac{\Gamma}{q^2}$$

La valeur du coefficient d'autodiffusion  $D_0$  est obtenue en prenant en compte la dépendance de  $D$  vis-à-vis de la concentration ( $c$ ) et du vecteur d'onde ( $q$ ) selon l'expression :

$$D = D_0(1 + Ac + \dots)(1 + Bq^2 + \dots)$$

où  $A$  et  $B$  sont des paramètres caractéristiques propres au système étudié. Le coefficient  $D_0$  est donc mesuré par extrapolation à angle nul puis à concentration nulle. C'est à partir de ce dernier que l'on peut calculer le rayon hydrodynamique réel des objets diffusants (assimilés à des sphères) en régime dilué en utilisant la relation de Stokes-Einstein :

$$R_H = \frac{k_B T}{6\pi\eta_0 D_0}$$

avec  $k_B T$  le facteur d'énergie de Boltzman et  $\eta_0$  la viscosité du solvant.

## I.2. La diffusion des neutrons aux petits angles (SANS)

La diffusion des neutrons aux petits angles constitue une sonde très fine d'analyse de la matière solide ou liquide. Elle permet notamment d'observer la forme, la taille, la structure interne et l'organisation de particules dispersées dans un milieu homogène, comme par exemple les polymères, les colloïdes et les micelles en solution. Les objets doivent avoir des tailles caractéristiques comprises entre 5 et 500 Å pour pouvoir être étudiés grâce à cette technique.

Une expérience de diffusion de neutrons consiste à envoyer sur un échantillon un faisceau de neutrons, de longueur d'onde  $\lambda$ , de faible divergence angulaire, puis à mesurer la variation de l'intensité diffusée en fonction du vecteur d'onde  $\vec{q}$ . Cette intensité brute enregistrée par le détecteur, ne correspond pas uniquement à l'intensité diffusée par les objets, mais également à la contribution d'un certain nombre de termes de diffusion parasites (solvant, cellule, bruit de fond ...). L'intensité détectée s'écrit de la manière générale :

$$I_D(q) = C(\lambda)Te\sigma(q) + B_D + TB(\theta)C(\lambda)$$

où  $T$  et  $e$  sont la transmission et l'épaisseur de l'échantillon,  $\sigma(q)$  est la section efficace différentielle de diffusion par unité de volume (c'est la paramètre contenant les caractéristiques de l'échantillon),  $B_D$  est le bruit de fond du détecteur,  $B(\theta)$  la diffusion parasite par les cellules de mesure et  $C(\lambda)$  un paramètre du spectromètre s'exprimant par :

$$C(\lambda) = I_0 A \Delta \Omega \varepsilon$$

avec  $I_0$  le flux de neutron incident,  $A$  la surface de l'échantillon analysé,  $\Delta \Omega$  l'angle solide du détecteur et  $\varepsilon$  l'efficacité du détecteur. Afin d'extraire l'intensité diffusée par les particules en unité absolue ( $I(q)$ ), il est donc nécessaire d'effectuer plusieurs mesures de références et d'appliquer la relation suivante :

$$I(q) = \frac{\frac{I_D(q)}{Te} - \frac{I_{tem}(q)}{T_{tem}e_{tem}}}{\frac{I_{eau}(q)}{T_{eau}e_{eau}} - \frac{I_{cv}(q)}{T_{cv}e_{cv}}} \left( \frac{d\sigma}{d\Omega} \right)_{eau}$$

$(d\sigma/d\Omega)_{eau}$  est la section efficace à la longueur d'onde considérée d'un échantillon référence d'eau légère.  $I_D$ ,  $I_{tem}$ ,  $I_{eau}$  et  $I_{cv}$  sont les intensités diffusées respectivement par l'échantillon, le témoin (solvant), l'eau légère et la cellule vide.  $T$ ,  $T_{tem}$ ,  $T_{eau}$ ,  $T_{cv}$  et  $e$ ,  $e_{tem}$ ,  $e_{eau}$ ,  $e_{cv}$  sont respectivement les transmissions et les épaisseurs correspondantes. Cette dernière équation est résolue à l'aide du logiciel de traitement de données développé au LLB (PASidur).

Théoriquement, l'intensité diffusée par une solution de particules diffusantes identiques de volume  $V_p$  et de fraction volumique  $\Phi$  peut être écrite en fonction du vecteur de diffusion  $q$  :

$$I_{théo}(q) = \Phi(\Delta\rho)^2 V_p P(q) S(q)$$

où  $P(q)$  est le facteur de forme de la particule,  $S(q)$  est le facteur de structure, qui correspond aux interférences causées par les interactions entre objets diffusants, et  $\Delta\rho$  est le facteur de contraste qui correspond à la différence entre la densité de longueur de diffusion de l'objet étudié et celle du reste de l'échantillon (en général le solvant). Dans le cas de particules sans interaction, le facteur de structure est égal à 1 sur tout le domaine de  $q$  et l'expression de l'intensité diffusée se simplifie :

$$I_{théo}(q) = \Phi(\Delta\rho)^2 V_p P(q)$$

Le facteur de forme  $P(q)$  joue donc un rôle très important puisqu'il contient l'essentiel des informations sur la géométrie des particules diffusantes. Sachant que  $P(q)$  n'est rien d'autre que la transformée de Fourier au carré de la forme de la particule, il est possible de calculer les facteurs de forme pour des géométries simples comme des sphères denses, des coquilles sphériques, des bâtonnets etc... Nous avons utilisé le modèle de sphère homogène monodisperse de rayon  $R_S$  pour décrire nos systèmes. Dans ce cas, Rayleigh a montré que le facteur de forme peut s'écrire :

$$P(q) = \left| \int_0^{R_S} r \frac{\sin(qr)}{qr} 4\pi r^2 dr \right|^2 = \left[ \frac{3[\sin(qR_S) - qR_S \cos(qR_S)]}{(qR_S)^3} \right]^2$$

L'intensité théorique diffusée est donc liée aux rayons des sphères par la relation :

$$I_{théo}(q) = 9\Phi(\Delta\rho)^2 V_S \left[ \frac{[\sin(qR_S) - qR_S \cos(qR_S)]}{(qR_S)^3} \right]^2$$

L'ajustement complet de l'intensité diffusée mesurée par la relation précédente sur l'ensemble du domaine de  $q$ , permet de déterminer le rayon des particules. De plus dans le domaine de Guinier, valable pour  $qR_g < 1$  nous pouvons simplifier l'expression du facteur de forme et l'intensité diffusée devient :

$$I(q) = \Phi(\Delta\rho)^2 V \exp\left(-\frac{R_g^2 q^2}{3}\right)$$

La pente de  $\ln I(q)$  en fonction de  $q^2$  permet ainsi dans la limite de Guinier d'accéder au rayon de giration des sphères. Nous observons également que le facteur de forme tend vers 1 quand

$q$  tend vers 0. La mesure de l'intensité diffusée pour  $q \rightarrow 0$  est alors directement proportionnelle à la masse des particules ( $I(q) \approx \Phi(\Delta\rho)^2 V_s$ ).

### I.3. La diffusion des rayons X

Tout comme la diffusion des neutrons aux petits angles (SANS) décrite précédemment, la diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS) et aux grands angles (WAXS) est une méthode d'analyse très fine des matériaux polymères en solution ou à l'état solide. Le principe général de la diffusion des rayons X est similaire à celui de la diffusion des neutrons aux petits angles. Ainsi, l'intensité diffusée théorique est, à un préfacteur près, dépendante du facteur de forme des objets  $P(q)$  et du facteur de structure  $S(q)$ .

$$I_{théo}(q) = AP(q)S(q)$$

En solution diluée, les corrélations entre objets sont inexistantes, le facteur de structure  $S(q)$  est donc égal à 1, et l'intensité diffusée dépend alors uniquement du facteur de forme  $P(q)$ . A l'opposé, en solution concentrée ou en masse, notre situation dans ce chapitre, les interactions entre objets sont tellement importantes que c'est généralement le facteur de structure  $S(q)$  qui contribue le plus à l'intensité diffusée. Le signal du facteur de forme  $P(q)$  est constitué d'oscillations décroissantes avec  $q$ , dont les minima sont à des positions caractéristiques suivant la forme de l'objet. Le profil du facteur de structure  $S(q)$  présente quand à lui, des pics successifs décroissants en intensité, dont les positions relatives des maxima sont fonction de la structure. Le tableau regroupe les positions caractéristiques relatives des pics de structure à partir du premier ordre pour les phases le plus couramment observées dans les systèmes de copolymères à blocs.

Morphologie	Positions des pics de structure
Lamellaire	1 : 2 : 3 : 4 : ...
Hexagonale	1 : $\sqrt{3}$ : 2 : $\sqrt{7}$ : ...
BCC (Cubique Centrée)	1 : $\sqrt{2}$ : $\sqrt{3}$ : 2 : ...
FCC (Cubique Face Centrée)	1 : $\sqrt{3}$ : 2 : $\sqrt{8}$ : $\sqrt{11}$ : ...
G (Gyroïde)	1 : $\sqrt{6}$ : $\sqrt{8}$ : $\sqrt{50}$ : ...

**Tableau 0-1 : Positions caractéristiques des pics de structure pour les morphologies les plus observées dans les systèmes de copolymères à blocs**

La principale différence entre la diffusion des rayons X aux petites angles (SAXS) et aux grands angles (WAXS) réside dans le domaine de vecteurs d'onde  $q$  accessible. En WAXS, les vecteurs d'onde accessibles sont grands, ce qui correspond à des tailles

caractéristiques très petites, entre l'atome et la molécule. A contrario, le SAXS donne accès à des vecteurs d'onde plus petits et donc à des longueurs spécifiques plus grandes, comme par exemple les distances de répétition d'assemblage macromoléculaire. Pour notre étude, nous avons utilisé un montage expérimental unique pour réaliser la diffusion des rayons X aux petits et aux grands angles. Pour la configuration WAXS, la distance entre l'échantillon et le détecteur est de  $\sim 6$  cm, ce qui impose une gamme de vecteur d'onde  $q$  allant de  $0,15 \text{ \AA}^{-1}$  à  $2 \text{ \AA}^{-1}$ . Pour la configuration SAXS, la distance entre l'échantillon et le détecteur est de  $\sim 106$  cm, ce qui impose une fenêtre de vecteur d'onde  $q$  comprise entre  $0,01 \text{ \AA}^{-1}$  et  $0,2 \text{ \AA}^{-1}$ .

---

<sup>1</sup> Leibler, L. *Macromolecules* **1980**, *13*, 1602-1617.

<sup>2</sup> Hamley, I. W. *The Physics of Block Copolymers*; Oxford University Press: Oxford, **1998**.

<sup>3</sup> Matsen, M. W.; Bates, F. S. *Macromolecules* **1996**, *29*, 1091-1098.

<sup>4</sup> Klok, H.-A.; Lecommandoux, S. *Adv. Mater.* **2001**, *13*, 1217-1229.

<sup>5</sup> Lee, M.; Cho, B.-K.; Zin, W.-C. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3869-3892.

<sup>6</sup> Matsen, M. W.; Schick, M. *Physical Review Letters* **1994**, *72*, 2660-2663.

<sup>7</sup> Gallot, B. *Prog. Polym. Sci.* **1996**, *21*, 1035-1088.

<sup>8</sup> Stupp, S. I. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **1998**, *3*, 20.

<sup>9</sup> Schlaad, H.; Antonietti, M. *Eur. Phys. J. E.* **2003**, *10*, 17-23.

<sup>10</sup> Babin, J.; Rodriguez-Hernandez, J.; Lecommandoux, S.; Klok, H.-A.; Achard, M.-F. *Faraday Discuss.* **2005**, *128*, 179-192.

<sup>11</sup> Klok, H.-A.; Langenwalter, J. F.; Lecommandoux, S. *Macromolecules* **2000**, *33*, 7819-7826.

<sup>12</sup> Lecommandoux, S.; Achard, M.-F.; Langenwalter, J. F.; Klok, H.-A. *Macromolecules* **2001**, *34*, 9100-9111.

<sup>13</sup> Chécot, F. *Thèse de doctorat*; Université Bordeaux 1: France, **2003**.

## **Résumé :**

Les recherches réalisées dans le cadre de ce travail s'inscrivent dans le contexte de l'utilisation des polymères synthétiques dégradables dans le domaine de la libération contrôlée de principes actifs et se situent à l'interface entre la chimie et la physico-chimie. L'objectif réside dans la synthèse d'architectures diblocs amphiphiles biocompatibles, dégradables et biorésorbables, polyester-*b*-poly(acide glutamique), et l'étude de leurs propriétés d'auto-assemblage en solution aqueuse. Dans un premier temps, les précurseurs polyester-*b*-poly(L-glutamate de  $\gamma$ -benzyle) de ces copolymères ont été préparés en utilisant une méthode faisant intervenir un macroamorceur fonctionnel. Ensuite, nous avons étudié l'effet de la nature du bloc polyester sur les propriétés physiques et d'organisation à l'état solide des différents systèmes de copolymères préparés. Nous avons par la suite préparé des nanoparticules en solution aqueuse à partir des copolymères à blocs double-hydrophobe et avons procédé à la micellisation des copolymères à blocs amphiphiles.

## **Summary :**

This work deals with the use of degradable synthetic polymers as controlled drug delivery systems and concerns chemistry as well as physico-chemistry. The aim is the synthesis of biocompatible, degradable and bioresorbable dibloc amphiphilic polyester-*b*-poly(glutamic acid) architectures, and the study of their self-assembly in aqueous solution. Polyester-*b*-poly(benzyl glutamate) precursors have first been prepared using functionalized macroinitiators. Then, the effect of the polyester bloc nature on both the physical properties and the solid state organization properties were studied. Nanoparticles were finally prepared in aqueous solution from nano-precipitation of the double-hydrophobic bloc copolymers and micellization of the amphiphilic ones.

**Mots-clés :** *Copolymères à blocs, amphiphile, polyesters, poly(acide  $\alpha$ -aminé)s, polypeptides, zinc, polymérisation par ouverture de cycle,  $\epsilon$ -caprolactone, triméthylène carbonate, acide glutamique, dégradable, micelles, auto-assemblage, libération contrôlée.*