



HAL
open science

**COPOLYMÈRES À BLOCS “ HYBRIDES ” À BASE
DE XYLOGLUCANE ET DE POLYMÈRE
VINYLIQUE EN COMBINANT MODIFICATION
CHIMIO-ENZYMATIQUE ET POLYMÉRISATION
RADICALAIRE CONTRÔLÉE**

Jérôme Lohmann

► **To cite this version:**

Jérôme Lohmann. COPOLYMÈRES À BLOCS “ HYBRIDES ” À BASE DE XYLOGLUCANE ET DE POLYMÈRE VINYLIQUE EN COMBINANT MODIFICATION CHIMIO-ENZYMATIQUE ET POLYMÉRISATION RADICALAIRE CONTRÔLÉE. Chimie. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2009. Français. NNT : . tel-00495724

HAL Id: tel-00495724

<https://theses.hal.science/tel-00495724>

Submitted on 28 Jun 2010

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

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

UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER – GRENOBLE 1

THÈSE

Pour obtenir le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER
(Arrêtés ministériels du 5 juillet 1984 et du 30 mars 1992)

Spécialité : CHIMIE BIOLOGIE

Présentée par

Jérôme LOHMANN

Soutenue le 11 juin 2009

**COPOLYMÈRES À BLOCS « HYBRIDES » À BASE DE
XYLOGLUCANE ET DE POLYMÈRE VINYLIQUE EN
COMBINANT MODIFICATION CHIMIO-ENZYMATIQUE ET
POLYMÉRISATION RADICALAIRE CONTRÔLÉE**

Thèse dirigée par Hugues DRIGUEZ et Daniel TATON

Jury :

M. Jean-Yves SANCHEZ	Professeur, Université Grenoble F	Président
M. Thierry BENVENU	Professeur, ENSCR	Rapporteur
Mme. Christelle DELAITE	Professeur, ENSCMu	Rapporteur
M. Hugues DRIGUEZ	Directeur de Recherche, CNRS	Examineur
M. Daniel TATON	Professeur, Université Bordeaux	Examineur
M. James WILSON	Ingénieur, Rhodia	Examineur
M. Sébastien FORT	Chargé de Recherche, CNRS	Invité
M. Yves GNANOU	Directeur de Recherche, CNRS	Invité

*Centre de Recherches sur les MAcromolécules Végétales (CERMAV) - CNRS
Laboratoire de Chimie des Polymères (LCPO) – CNRS*

A Audrey
A toute ma famille

*« Rien, ce n'est pas rien ! La preuve, c'est que l'on peut le soustraire. Exemple : rien moins
rien = moins que rien ! »*

Raymond Devos

« ... On étouffe ici! Permettez que j'ouvre une parenthèse. »

Alphonse Allais

Remerciements

Voici l'étape au cours de laquelle je me dois de remercier justement les personnes sans qui je ne serais pas arrivé au résultat de ces trois ans de thèse. Je m'attarde donc sur ce qui est pour moi plus qu'une accumulation de noms gravitant autour des deux laboratoires (CERMAV et LCPO) dans lesquels je suis passé.

En tout premier lieu, je souhaite remercier les membres du jury de m'avoir fait l'honneur de juger mon travail : le président Jean-Yves Sanchez ainsi que les examinateurs Christelle Delaite et Thierry Benvegna.

Je suis reconnaissant envers Rhodia pour m'avoir donné l'opportunité d'effectuer ce travail de thèse dans un environnement industriel. Merci à Mathias Destarac et James Wilson qui se sont succédé afin de suivre mes travaux et intervenir quand il le fallait.

Mon travail s'est effectué au sein du CERMAV de Grenoble et du LCPO de Bordeaux. A ce titre, je remercie les directeurs des différents laboratoires : Serge Pérez puis Redouane Borsali pour Grenoble, Yves Gnanou puis Henri Cramail pour Bordeaux.

Un immense merci à mes deux directeurs de thèse Hugues Driguez et Daniel Taton auxquels je rajoute Sébastien Fort. J'ai eu la chance de tomber sur trois personnes qui avaient toujours et presque à toute heure une porte ouverte pour partager une discussion, même si celle-ci n'avait rien de scientifique ! J'ai conscience d'avoir énormément appris auprès d'eux, tant au niveau de mes compétences scientifiques qu'au niveau de l'humain. Je n'oublie pas non plus tout ce qui a été fait pour m'aider lorsque je cherchais du travail.

Je remercie les membres des deux équipes dans lesquelles j'ai eu le bonheur et la joie de travailler. En commençant par l'équipe de Grenoble : Hugues (whisky & cigares), Sébastien F., Jean-Pierre Uille, Sylvain Cottaz, Sylvie Armand, Sami Halila (d'abord en tant que post-doc puis en tant que permanent) qui m'a pris sous son aile au début, Laurence (alias Zézette ou Miss catastrophe, allez savoir pourquoi – j'ai confiance en toi pour l'avenir), Sébastien P. (avec qui je faisais des analyses...foot et à qui nous avons essayé d'enseigner l'art de faire de fort jolis capillaires), Marie (qui m'a permis de commencer en me donnant de ce précieux mélange de xyloglucanes), Lémonia qui savait apporter la bonne humeur grecque), Carole, Martin, Emilie et Marie-Pierre

S'ensuit l'équipe de Bordeaux avec Yves Gnanou (pour nos discussions scientifiques mais aussi son sens de l'humour), le seul, l'unique Daniel Taton (à l'abattage de travail impressionnant). Un grand merci à Jean Raynaud (j'ai jamais été sûr de la façon dont ça s'écrivait...alors disons Jeangewandte). Jean, c'est l'homme indispensable dans un labo. Toujours prêt à aider, toujours une idée à soumettre (quelques fois, il ferait mieux de s'abstenir, pour qu'on ait l'air un peu moins bête). Bref, un homme au savoir impressionnant et en continuelle expansion (jusqu'où s'arrêtera-t-il ?), l'homme qui en met plein la vue (prière de s'en approcher avec des lunettes de soleil). Je le remercie aussi d'en avoir bavé à cause de Fred et moi (vive les confettis dans le bureau ou la colle dans les poches) sans s'être (presque) jamais énervé. Merci à Julien Poly confrère de thèse Rhodia (on sait ce que cela signifie) et lui aussi très brillant. J'ajouterai Vijayakrishna dit Kari (très généreux et avec qui j'ai apprécié discuté), Julien Pinaud (si vous voulez 50kg de fraises, faites appel à lui), Feng (le dinosaure), Jian, Gopakumar. Une bonne équipe de mecs, de vrais au final (tu pourrais penser aux autres Daniel, heureusement que les autres permanents le font pour toi).

Pour me compléter, je remercie l'ensemble des personnes que j'ai pu rencontrer au cours de ces trois années et avec qui j'ai pu nouer des relations qui dureront, je l'espère, le plus longtemps possible (n'étant pas mon fort, il faudra que je m'active !). Merci à Aurélie R. (nos petites virées au ski et ses fameux cookies façon ASCII art – bonne chance pour le Japon). Merci beaucoup aux doctorants et post-doctorants du LCPO qui ont su m'offrir un excellent accueil alors que j'arrivais en plein milieu d'année. Merci d'abord à mes collègues de bureau à savoir Fumi (celle qui sait mettre le bleu de chauffe au karting), Clément (la classe) puis José Antonio (cho cho cho chorizo !) et Sébastien M. (qui a résisté à l'Allemagne). Merci à Willy (l'autre clickman mais aussi quelqu'un qui sait mettre l'ambiance), Cédric (alias Platoche et compagnon de visite à Philadelphie), Mathieu (Monsieur Nintendo), Charles (il peut t'encapsuler n'importe quoi), Antoine et Marie-Hélène (slip et string kangourou), Bertrand (avec Jean, c'est Dupont et Dupond), Maryline (tu y arriveras), Anne-Claire (Polo style et organisatrice de bonnes soirées), Mumtaz (il fait tomber les filles plus vite que son ombre), Romain, Géraldine, Benjamin, Olivier, Gilles. Un très grand merci à Chantal (la maghrébine du Moyen-Orient) pour sa bonne humeur, pour toutes ses tenues (no comment), pour son trafic de photos de cousine, parce qu'elle apprécie quand Jean lui montre une PSP, mais surtout pour sa très grande hospitalité et son goût prononcé pour la cuisine orientale (vive la pistache) et d'ailleurs. Mention toute spéciale à Fred (ou

Friedrich pour ton nouveau nom d'adoption), mon collègue de tuyau de paillasse (il n'y a pas de fumet sans feu). Je pense que c'est la personne avec qui j'ai partagé le plus de choses que ce soit le challenge du jeu de mot le plus pourri (il court toujours) ou pour de longues discussions politiques et de société, plus sérieuses. Je pense que là où tu vas, le PU a trouvé un de ses maître et toi, ta place (même si c'est en Allemagne et pas aux Etats-Unis). Je te suis à la trace en allant dans l'antichambre jaune (et son mystère) de BASF. Il est sûr qu'on arrivera à faire quelque chose ensemble là-bas (espérons que ce n'est pas couler la boîte...). Je remercie également ceux qui sont arrivés en cours de thèse à Bordeaux avec Stéphanie (encore un dernier petit effort), Aurélie B. (ou Malaurie Fanoute il me semble), Anne-Laure (vas jusqu'au bout, ne lâche pas cette fois), Dakshinamoorthy et Harikrishna (Tic et Tac), Stéphane D, Célia. Pour ma part, cette liste ne serait pas complète si je ne couchais pas le nom de Nicolas Guidolin. Je pense que c'est la perle du labo pour les doctorants (et pas que pour eux). Il met l'ambiance, il s'occupe de tout le monde et fait le lien entre anciens et nouveaux arrivants. Quelques fois il fait même le taxi et à toute heure (tout comme Fred d'ailleurs) !! Guy, merci et n'oublie pas de manger de la pistache matin et soir...

Je remercie également les permanents du LCPO qui participent à la bonne ambiance du labo entre permanents et non permanents et entre les différentes équipes. Merci à Eric Cloutet toujours là pour faire une petite blague (mais il a trop fréquenté Roger malheureusement) et également souvent dans le bureau de Daniel (quand je n'y étais pas). Je lui souhaite de réussir enfin son HDR (l'arlésienne du girondin). Merci à son compère de bureau Roger (pas tout à fait un permanent mais tout comme, avec son humour anglo-saxon propre aux...anglo-saxons), Alain Deffieux et Stéphane Carlotti (merci pour l'opportunité que vous m'avez donnée en me « vendant » auprès de BASF). Merci à Frédéric Peruch (Monsieur Deuté), Christophe Schatz, Sébastien Lecommandoux (le matériau qui excite le Daniel Taton qui n'émet alors pas que dans l'UV), Alain Soum. Leur niveau scientifique permet au labo de Bordeaux d'être un labo d'excellence.

Je remercie les personnes qui ont contribué à l'avancement de mes travaux par leur aide dans mes nombreuses analyses : Nicolas Guidolin (l'homme qui s'occupe de beaucoup de chose au LCPO, le Toni Micelli), Bernadette Guillabert, Mich et Michter Schappacher, Stéphanie Boullanger et Claude Bosso pour la spectrométrie de masse, Isabelle Jeacomine pour la RMN et Isabelle Paintrand pour les clichés de TEM du xyloglucane.

Je n'oublie pas non plus ceux sans qui les laboratoires ne tourneraient pas aussi rond :
Martine et Magali pour le CERMAV, Catherine et Corinne pour le LCPO.

Je remercie enfin l'ensemble de ma famille et mes proches notamment mes parents et ma sœur qui ont toujours su me soutenir. Une attention toute particulière à Audrey qui m'a soutenu, supporté et a essayé de comprendre (en vain ?) ce que je faisais et comment je faisais lors de ces trois années. Malheureusement, le bout du tunnel n'est pas encore pour tout de suite...mais on s'en rapproche !!

En ajoutant tout ceux que j'ai oublié (désolé, mais je n'ai vraiment pas la mémoire des prénoms...), je me répète encore une fois en vous disant MERCI !!

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	1
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	7
1. Présentation du xyloglucane de graines de tamarin	11
1.1. Introduction.....	11
1.2. Origine et préparation	13
1.3. Nomenclature et structure	15
1.4. Applications	19
1.4.1. Alimentaires.....	19
1.4.2. Textiles	21
1.4.3. Papier	21
1.4.4. Cosmétiques.....	22
1.4.5. Biologiques	23
1.5. Conclusion	24
2. Synthèse chimio-enzymatique d'oligosaccharides.....	24
2.1. Les glycosyltransférases	26
2.2. Les glycoside-hydrolases	30
2.3. Les glycosynthases.....	33
2.4. Conclusion	35
3. Synthèse de copolymères à partir de glucides.....	36
3.1. Introduction.....	36
3.2. Synthèse de copolymères glucidiques greffés	37
3.2.1. Synthèse par la méthode « grafting from ».....	37
3.2.2. Synthèse par la méthode « grafting onto »	39
3.3. Synthèse de glycopolymères.....	41

3.4.	Synthèse de copolymères à blocs « hybrides » contenant une partie glucidique...	43
3.4.1.	Synthèse par « couplage »	43
3.4.1.1.	Couplage <i>via</i> une fonction lactone terminale	43
3.4.1.2.	Couplage par amination réductrice	44
3.4.1.3.	Couplage par addition de Michael	48
3.4.1.4.	Couplage par cycloaddition 1,3 dipolaire de Huisgen catalysée par le cuivre I (« chimie click »)	49
3.4.1.5.	Couplage par réaction radicalaire	50
3.4.2.	Synthèse par la méthode « à partir de »	51
3.4.2.1.	A partir du bloc synthétique	51
3.4.2.2.	A partir du bloc glucidique	54
4.	Conclusion	59

MODIFICATIONS CHIMIO-ENZYMATIQUES DU XYLOGLUCANE ET ELABORATION D'AGENTS DE TRANSFERT DE CHAÎNE MADIX..... 71

1.	Introduction à la réaction de couplage par « chimie click »	75
2.	Méthode « starting from » : modification chimio-enzymatique de xyloglucane et synthèse de l'agent de transfert de chaîne monofonctionnel	76
2.1.	Synthèse de l'agent de couplage α -azido, ω -bromé	77
2.2.	Synthèse des oligoxyloglucanes par hydrolyse du polysaccharide natif	83
2.3.	Introduction de la fonction alcyne par modification du carbone anomère des oligoxyloglucanes	87
2.4.	Chimie « click » et transformation en macro-agent de transfert de chaîne	92
2.5.	Conclusion	99
3.	Méthode « starting from » : modification chimio-enzymatique de xyloglucane et synthèse de l'agent de transfert de chaîne α,ω -difonctionnel	100
3.1.	Synthèse de l'oligoxyloglucane par hydrolyse du polysaccharide : obtention de l'heptasaccharide et introduction de la fonction alcyne	105
3.2.	« Chimie click »	107

3.3.	Modification chimio-enzymatique du lactose et glycosylation	108
3.4.	Transformation en macro-agent de transfert de chaîne réversible.....	113
3.5.	Conclusion	117
4.	Méthode « coupling onto » : modification chimio-enzymatique de xyloglucane et synthèse de macro-agent de transfert de chaîne.....	118
5.	Conclusion.....	120

SYNTHESE DE COPOLYMERES A BLOCS « HYBRIDES » XYLOGLUCANE /POLYMERE VINYLIQUE PAR LA VOIE « STARTING FROM ».....

1.	Introduction.....	128
2.	Présentation de la polymérisation MADIX.....	130
3.	Synthèse de copolymères à blocs xyloglucane- <i>b</i> -polymère vinylique à partir du macro-agent de transfert de chaîne oligoxyloglucane ω -monofonctionnel 11	135
3.1.	Synthèse de copolymères à blocs XG- <i>b</i> -PAm par polymérisation MADIX de l'acrylamide.....	135
3.2.	Synthèse de copolymères à blocs XG- <i>b</i> -PAcV par polymérisation MADIX de l'acétate de vinyle.....	146
3.3.	Synthèse de copolymères à blocs XG- <i>b</i> -PNVP par polymérisation MADIX de la <i>N</i> -vinyl-2-pyrrolidone	151
4.	Synthèse de copolymères à blocs PAm- <i>b</i> -XG- <i>b</i> -PAm à partir du macro-agent de transfert de chaîne oligoxyloglucane α,ω -difonctionnel.....	155
5.	Conclusion.....	160

SYNTHESE DE COPOLYMERES A BLOCS « HYBRIDES » XYLOGLUCANE/ POLYMERE VINYLIQUE PAR LA VOIE « COUPLING ONTO ».....

1.	Introduction.....	168
2.	Synthèse de copolymères à blocs xyloglucane- <i>b</i> -PAm par « chimie click ».....	169
2.1.	Synthèse des homopolymères α -azido-PAm par polymérisation MADIX	169
2.2.	Réaction de couplage par « chimie click »	173

3.	Synthèse de copolymères à blocs xyloglucane- <i>b</i> -PACV par « chimie click »	176
3.1.	Synthèse des homopolymères α -azido-PACV par polymérisation MADIX.....	177
3.2.	Réaction de couplage par « chimie click »	180
3.3.	Etude en solution aqueuse d'un copolymère à blocs XG- <i>b</i> -PACV	183
4.	Synthèse de copolymères à blocs xyloglucane- <i>b</i> -PNVP par « chimie click ».....	189
4.1.	Synthèse des homopolymères α -azido-PNVP par polymérisation MADIX	189
4.2.	Réaction de couplage par « chimie click »	192
4.3.	Etude en solution hydro-organique d'un copolymère à blocs XG- <i>b</i> -PNVP	196
5.	Conclusion.....	198
	CONCLUSION GENERALE.....	203
	PARTIE EXPERIMENTALE.....	209
1.	Méthodes générales	213
1.1.	Solvants et réactifs	213
1.2.	Chromatographies sur silice.....	213
1.3.	Caractérisation moléculaire et propriétés physico-chimiques	213
1.3.1.	Spectrométrie par résonance magnétique nucléaire (RMN).....	213
1.3.2.	Spectrométrie de masse	214
1.3.3.	Spectrométrie infrarouge (IR)	214
1.3.4.	Chromatographie d'exclusion stérique (CES).....	214
1.3.4.1.	CES dans l'eau.....	214
1.3.4.2.	CES dans le DMF	215
1.3.5.	Diffusion dynamique de la lumière	215
1.3.6.	Microscopie électronique en transmission	215
2.	Modifications chimio-enzymatiques du xyloglucane et élaboration d'agents de transfert MADIX.....	216
	<i>N</i> -(2-Bromopropanoyl)succinimide (5).....	216

2-Azidoéthanamine (6).....	216
N-(2-Azidoéthyl)-2-bromopropanamide (7)	217
Mélange de XXXG, XXLG et XLXG, XLLG (8).....	218
Mélange de <i>N</i> -propargyle oligoxyloglucanes (9).....	219
Mélange de ω -bromo-oligoxyloglucanes (10)	220
Mélange de ω -xanthate-oligoxyloglucanes (11)	221
Oligoxyloglucane XXXG (12).....	222
<i>N</i> -propargyle XXXG (13)	222
ω -Bromo-XXXG (14).....	223
α -Fluorure de lactosyle (15).....	224
(2,2,2-Trifluoroéthyl)-2-bromopropionate (16)	225
α -Fluorure de 6II-2-bromopropionyle-lactosyle (17)	225
α,ω -Dibromo-xyloglucane (18)	226
α,ω -Dixanthate-xyloglucane (19)	227
Xanthate de <i>O</i> -éthyle- <i>S</i> -(<i>N</i> -(2-azidoéthyle)-propanamide) (20).....	228
3. Synthèse de copolymères à blocs « hybrides » xyloglucane/polymère vinylique par la voie « starting from »	229
Copolymères à blocs XG- <i>b</i> -PAm par la méthode « starting from » (21)	229
Copolymères à blocs XG- <i>b</i> -PAcV par la méthode « starting from » (22).....	231
Copolymères à blocs XG- <i>b</i> -PNVP par la méthode « starting from » (23)	232
Copolymères à blocs PAm- <i>b</i> -XG- <i>b</i> -PAm par la méthode « starting from » (24).....	233
4. Synthèse de copolymères à blocs « hybrides » xyloglucane/polymère vinylique par la voie « coupling onto »	234
Homopolymères α -azido-PAm (25)	234
Copolymères à blocs XG- <i>b</i> -PAm par la méthode « coupling onto » (26).....	235
Homopolymères α -azido-PVAc (27).....	236
Copolymères à blocs XG- <i>b</i> -PAcV par la méthode « coupling onto » (28).....	237

Homopolymères α -azido-PNVP (29)	238
Copolymères à blocs XG- <i>b</i> -PNVP par la méthode « coupling onto » (30)	239

Liste des abréviations

Réactifs

ACP	Acide 4,4'-Azobis(4-cyanopentanoïque)
APTS	Acide paratoluènesulfonique
AIBN	Azobisisobutyronitrile
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimide
DMAP	4-(Diméthylamino)pyridine
PMDETA	<i>N,N,N',N'',N'''</i> -Pentaméthyl-diéthylène-triamine
NHS	<i>N</i> ,Hydroxy succinimide
TEMPO	2,2,6,6-Tétraméthyl-1-OxyPipéridinyle
VA-086	2,2'-Azobis[2-méthyl- <i>N</i> -(2-hydroxyéthyl)propionamide]

Solvants

ACN	Acétonitrile
DMF	<i>N,N</i> -Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
EtOH	Ethanol
MeOH	Méthanol
THF	Tétrahydrofurane

Monomères

AcV	Acétate de vinyle
Am	Acrylamide
MAIpGlc	3-O-méthacryloyl-1,2 : 5,6-di-O-isopropylidene-D-glucofuranose
MMA	Méthacrylate de méthyle
NVP	<i>N</i> -vinyl-2-pyrrolidone
St	Styrène

Polymères

PAcV	Poly(acétate de vinyle)
PAm	Poly(acrylamide)
PCL	Poly-(ϵ -caprolactone)
PDMAEMA	Poly(méthacrylate de 2-diméthylaminoéthyl)
PE	Poly(éthylène)
PEG	Poly(éthylène glycol)
PEGMA	Méthacrylate de poly(éthylène glycol)
PEO	poly(ethylene oxyde) (poly(oxyde d'éthylène))
PEOtz	Poly(2-éthyl-2-oxazoline)
PLA	Poly(lactic acid) (poly(acide lactique))
PMMA	Poly(méthacrylate de méthyle)
PNVP	Poly(<i>N</i> -vinyl-2-pyrrolidone)
PPO	Poly(propylene oxyde) (poly(oxyde de propylène))
PS	Poly(styrène)
PVA	Poly(vinyl alcohol) (poly (alcool vinylique))

Produits synthétisés

XG	xyloglucane
Xa	Xanthate

Techniques de polymérisation

ATRP	Atom Transfer Radical Polymerization (polymérisation radicalaire par
------	----------------------------------------------------------------------

Liste des abréviations

	transfert d'atome)
MADIX	Macromolecular Design by Interchange of Xanthate (design macromoléculaire par échange de xanthate)
NMP	Nitroxide Mediated Polymerization (polymérisation <i>via</i> les nitroxydes)
PRC	Polymérisation Radicalaire Contrôlée
RAFT	Reversible Addition-Fragmentation Transfer (transfert par addition-fragmentation réversible)
ROMP	Ring opening metathesis polymerization (polymérisation par ouverture de cycle par métathèse)
ROP	Ring opening polymerization (polymérisation par ouverture de cycle)

Polymérisation

C_{tr}	Constante de transfert
k_a	Constante de vitesse de formation des radicaux
k_{add}	Constante de vitesse d'addition
k_β	Constante de vitesse de fragmentation
k_d	Constante de vitesse de décomposition de l'amorceur
k_p	Constante de vitesse de polymérisation
k_t	Constante de vitesse de terminaison

Chimie des glucides

CAZy	Carbohydrate-Active enZymes
CGTase	Cyclodextrine glycosyltransférase
CMP	Cytidine monophosphate
EC	Enzyme Commission
Fuc	Fucose
Fucp	Fucose sous forme pyranosyle
Gal	Galactose
Galp	Galactose sous forme pyranosyle
Glc	Glucose
Glc p	Glucose sous forme pyranosyle
IUBMB	International Union of Biochemistry and Molecular Biology
TDP	Thymidine diphosphate
UDP	Uridine diphosphate
XEH	Xyloglucane endohydrolase
XET	Xyloglucane endotransglycosylase
Xyl	Xylose
Xylp	Xylose sous forme pyranosyle

Techniques de caractérisation

CES	Chromatographie d'Exclusion Stérique
DLS	Dynamic Light Scattering (diffusion dynamique de la lumière)
FSC	Fluorescence Spectroscopy Correlation (spectroscopie à corrélation de fluorescence)
FTIR	Fourier Transform InfraRed (Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier)
IR	Spectroscopie infrarouge
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption and Ionization - time of flight (source d'ionisation laser assistée par une matrice - analyseur à temps de vol)

Liste des abréviations

MET	Microscopie Electronique en Transmission
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
RMN 2D	Résonance Magnétique Nucléaire à deux dimensions
SAXS	Small-Angle X rays (diffusion des rayons X aux petits angles)
UV	Ultraviolet

Caractérisation des polymères

DP	Degré de polymérisation
\overline{DP}_n	Degré de polymérisation moyen en nombre
ES	Extrait Sec
I_p	Indice de polymolécularité
M_n	Masse molaire moyenne en nombre
M_w	Masse molaire moyenne en poids
M_p	Masse molaire moyenne au pic
R_g	Rayon de giration
R_h	Rayon hydrodynamique

Divers

ADN	Acide désoxyribonucléique
BSA	Sérum albumine bovine
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CMC	Concentration micellaire critique
CTA	Chain transfer agent (agent de transfert de chaîne)
CuAAC	Copper (I) Azide Alkyne Cycloaddition (cycloaddition entre fonctions azoture et alcyne, catalysée par le cuivre (I))
HLB	Hydrophilic-Lipophilic Balance (Balance hydrophile-lipophile)
L_k	Longueur de Kuhn
pH	Potentiel hydrogène
REACH	Registration, evaluation, authorisation and restriction of chemical substances (enregistrement, évaluation et autorisation des substances chimiques)
RT	Room temperature (température ambiante)

INTRODUCTION GENERALE

Les produits issus de ressources naturelles constituent depuis très longtemps une source de matériaux, avec par exemple le coton, la laine, la soie, le caoutchouc lors de la vulcanisation (en 1840) ou le cuir par le tannage. Au cours du XX^{ème} siècle, la révolution pétrochimique et l'utilisation quasi exclusive des ressources fossiles ont réduit au minimum l'usage des ressources renouvelables. Cet état de fait est aujourd'hui remis en cause par l'inexorable diminution des ressources fossiles dont le corollaire est l'augmentation du prix du baril de pétrole. Par ailleurs, l'industrie chimique a pris conscience de l'empreinte écologique qu'induit l'utilisation abusive de ces ressources fossiles non inépuisables (introduction en 2009 du protocole REACH, pour enregistrement, évaluation et autorisation des substances chimiques, qui vise à couvrir le contrôle de la fabrication, de l'importation, de la mise sur le marché et de l'utilisation des substances chimiques).

Rhodia est une entreprise de l'industrie chimique qui souhaite se positionner durablement dans le domaine des matériaux issus de matières renouvelables. Rhodia possède déjà aux Etats-Unis des activités tournées sur la modification de la gomme de guar (polysaccharide composé essentiellement de galactomannane).*

Dans le cadre de ce travail de thèse mené en partenariat avec Rhodia et les laboratoires du CERMAV de Grenoble et du LCPO de Bordeaux, il s'est agi de démontrer la possibilité d'associer un polymère naturel avec toute une gamme de polymères synthétiques, dans une architecture de type copolymère à blocs. La stratégie de synthèse adoptée a consisté à modifier de façon chimio-enzymatique le xyloglucane, polysaccharide issu de la graine de tamarin, et à former un bloc vinylique par polymérisation radicalaire contrôlée suivant la méthodologie appelée « MADIX », brevetée par Rhodia (MADIX pour Macromolecular Design by Interchange of Xanthate).¹ L'utilisation du xyloglucane comme modèle de polymère naturel est liée à l'expertise que possède le CERMAV sur la modification de ce polysaccharide tandis que la polymérisation MADIX permet de contrôler la polymérisation d'un certain nombre de monomères vinyliques comme l'acrylamide, l'acétate de vinyle ou la *N*-vinyl-2-pyrrolidone.

La plupart des polysaccharides possèdent des caractéristiques d'hydrophilie, de biocompatibilité et de biodégradabilité. Leur association à une partie vinylique dans une architecture de copolymères à blocs est encore peu étudiée et permet d'introduire une incompatibilité entre les deux blocs. Il est alors possible de tirer les bénéfices de leur auto-

* <http://www.rhodia.com>

assemblage, en particulier en solution aqueuse, afin de les utiliser dans des domaines aussi variés que la détergence en cosmétologie, l'alimentaire (agent texturant, stabilisant), ou la médecine (en tant qu'agent de libération contrôlée de principes actifs).

Ce manuscrit est donc consacré à la synthèse de tels copolymères « hybrides », à travers la description détaillée des stratégies de synthèse élaborées. Celles-ci nécessitent l'utilisation d'outils efficaces pour la modification du polysaccharide (chimie et hydrolyse enzymatique, glycochimie, « chimie click ») en vue de son association à un bloc vinylique (polymérisation MADIX) (Figure 1).

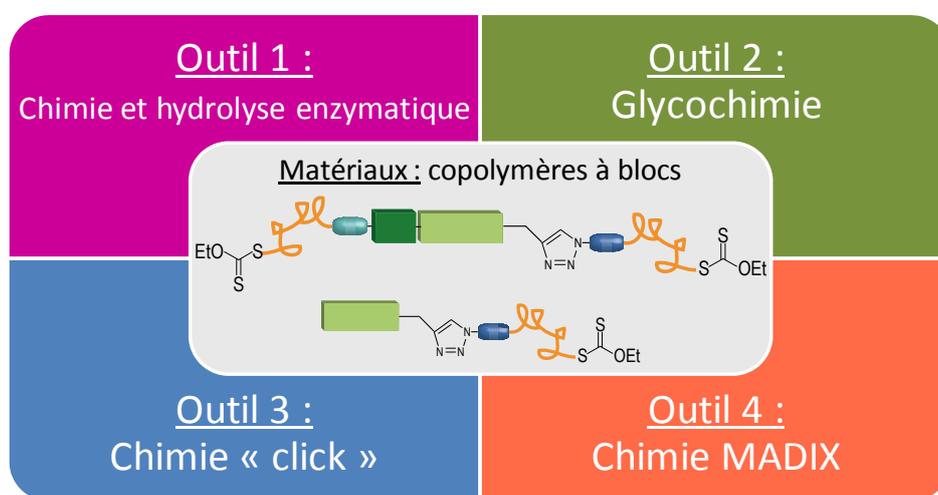


Figure 1 : Outils de synthèse pour la préparation de copolymères à blocs « hybrides » naturel/vinylique.

Dans le premier chapitre, nous présenterons les outils utilisés au cours de ce travail. Ainsi, nous décrirons les caractéristiques principales du xyloglucane, plus particulièrement ses origines, ses propriétés et ses applications potentielles. Les principes de la chimie enzymatique pour la synthèse glycosidique seront préalablement décrits.

Le deuxième chapitre traitera de la modification du polysaccharide permettant l'obtention du premier bloc oligosaccharidique et de la polymérisation subséquente du bloc vinylique.

Les troisième et quatrième chapitres seront consacrés à l'obtention des copolymères à blocs hybrides oligosaccharide-*b*-vinylique selon deux voies de synthèse, en l'occurrence

- 1) la méthode appelée « starting from » où le polymère vinylique est généré directement à partir de l'oligosaccharide préalablement modifié, et
- 2) la méthode « couplage onto » pour laquelle deux homopolymères sont couplés entre eux par « chimie click ».

Références bibliographiques

1. Corpart, P.; Charmot, D.; Biadatti, T.; Zard, S.; Michelet, D. WO9858974, **1998**.

ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

1.	Présentation du xyloglucane de graines de tamarin	11
1.1.	Introduction.....	11
1.2.	Origine et préparation	13
1.3.	Nomenclature et structure	15
1.4.	Applications	19
1.4.1.	Alimentaires.....	19
1.4.2.	Textiles	21
1.4.3.	Papier.....	21
1.4.4.	Cosmétiques.....	22
1.4.5.	Biologiques.....	23
1.5.	Conclusion	24
2.	Synthèse chimio-enzymatique d'oligosaccharides.....	24
2.1.	Les glycosyltransférases	26
2.2.	Les glycoside-hydrolases.....	30
2.3.	Les glycosynthases.....	33
2.4.	Conclusion	35
3.	Synthèse de copolymères à partir de glucides.....	36
3.1.	Introduction.....	36
3.2.	Synthèse de copolymères glucidiques greffés	37
3.2.1.	Synthèse par la méthode « grafting from ».....	37
3.2.2.	Synthèse par la méthode « grafting onto ».....	39
3.3.	Synthèse de glycopolymères.....	41
3.4.	Synthèse de copolymères à blocs « hybrides » contenant une partie glucidique... 43	
3.4.1.	Synthèse par « couplage »	43
3.4.1.1.	Couplage <i>via</i> une fonction lactone terminale	43

3.4.1.2.	Couplage par amination réductrice.....	44
3.4.1.3.	Couplage par addition de Michael.....	48
3.4.1.4.	Couplage par cycloaddition 1,3 dipolaire de Huisgen catalysée par le cuivre I (« chimie click »)	49
3.4.1.5.	Couplage par réaction radicalaire	50
3.4.2.	Synthèse par la méthode « à partir de ».....	51
3.4.2.1.	A partir du bloc synthétique	51
3.4.2.2.	A partir du bloc glucidique	54
4.	Conclusion.....	59

Dans une première partie, cette étude bibliographique présente le polysaccharide qui sera utilisé par la suite, à savoir le xyloglucane de graines de tamarin. La deuxième partie introduit des notions de chimie enzymatique utilisée dans notre cas pour modifier, de manière spécifique et contrôlée les polysaccharides. La troisième partie fait l'état de l'art des copolymères séquencés comprenant au moins une partie glucidique.

1. Présentation du xyloglucane de graines de tamarin

1.1. Introduction

Chez les végétaux, la paroi cellulaire est généralement présentée sous la forme de trois éléments : la lamelle moyenne, riche en substances pectiques, la paroi primaire et la paroi secondaire (Figure I-2).

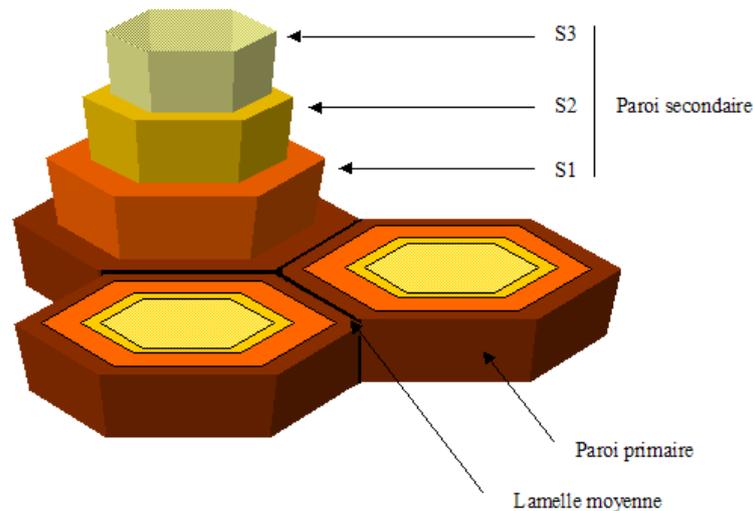


Figure I-2 : Représentation schématique de la paroi cellulaire des végétaux.

La paroi primaire se présente comme un réseau lâche de microfibrilles de cellulose englobées dans une matrice amorphe fortement hydratée de pectines et d'hémicelluloses. La paroi secondaire, quant à elle, est une structure inextensible et faiblement hydrophobe, constituée de cellulose et de lignines. Elle présente trois couches successives, S1, S2 et S3, se

distinguant par l'orientation de leurs fibres de cellulose et conférant une grande résistance à la paroi.

Les hémicelluloses sont des polysaccharides amorphes, constitués d'un squelette d'unités pyranosyle neutres (ex. glucose, mannose, et xylose), substituées par d'autres unités pyranosyle ou furanosyle et par des acides uroniques (ex. acide glucuronique, acide 4-*O*-méthylglucuronique). Les hémicelluloses sont classées en quatre groupes de polysaccharides :

- Les xylanes
- Les mannanes
- Les β -glucanes
- Les xyloglucanes (ou XG)

Les xyloglucanes de la paroi primaire (structure de ce polysaccharide présentée dans le paragraphe 1.3 de ce chapitre) sont les composants majeurs des hémicelluloses. Ils lient les microfibrilles de cellulose entre elles par des liaisons hydrogène (Figure I-3) et octroient ainsi à ces dernières la souplesse nécessaire à leur mouvement.

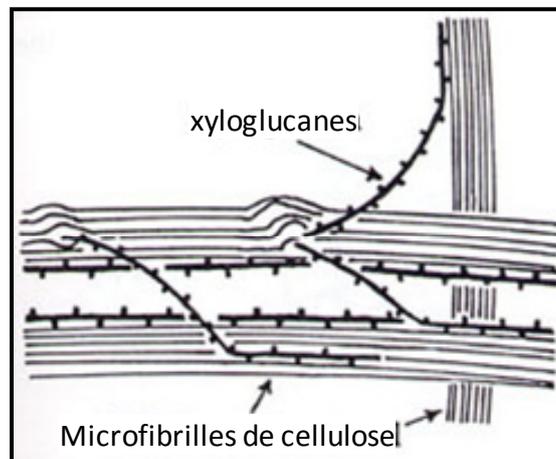


Figure I-3 : Interactions potentielles entre xyloglucanes et cellulose.²

Il a été suggéré que, pendant la croissance de la plante, l'hydrolyse des fibres de xyloglucanes par des enzymes endolytiques est nécessaire au développement des cellules.² Certains oligosaccharides de xyloglucanes libérés par les β -glucanases (enzymes hydrolysant

les xyloglucanes) ont des fonctions biologiques et sont capables de promouvoir la croissance cellulaire.³

1.2. Origine et préparation

Les xyloglucanes se trouvent dans la paroi primaire des plantes supérieures (regroupant les plantes vascularisées).² Ils ont été caractérisés parmi les Dicotylédons (ex. hypocotyle de *Phaseolus*, fruits d'*Olea*, *Malus* et *Phaseolus*, fibres de *Lactula*, cultures cellulaires d'*Acer*, *Rosa*, *Glycine* et *Populus*), les Monocotylédons (ex. bulbes d'*Allium*, endosperme d'*Oryzae*, jeunes plants d'*Oryzae* et d'*Hordeum*, pousses de bambous et cultures cellulaires d'*Oryzae*) et les Gymnospermes (ex. cultures cellulaires de *Pseudotsuga*).⁴ Les xyloglucanes constituent 20 à 30% de la matière sèche de la paroi cellulaire. Cette proportion est cependant réduite (5 à 10%) dans le cas des Graminées. Seules les graines de quelques plantes (ex. *Tamarindus*, *Impatiens*, *Annona*, *Tropaeolum*, *Hymenaea*, *Detarium*) possèdent une quantité importante de xyloglucanes autour de leur cotylédon.

Bien avant notre ère, les graines de tamarin étaient une ressource déjà recherchée pour les sucres, les protéines et les huiles qui en étaient extraits. En Inde, en Asie du Sud-est, aux Antilles et au Brésil, les tamariniers (arbres produisant le tamarin) sont cultivés pour leurs fruits et leur bois. Ils poussent rapidement et peuvent atteindre une hauteur de 25-30 mètres à leur maturité. Ils produisent des fruits (Figure I-4) à partir de 12 ou 13 ans et ce, jusqu'à plus de 60 ans, donnant 200 à 250 kg de tamarin par an. Leur durée de vie peut dépasser les 120 ans.



Figure I-4 : Fruits du tamarinier et graines de tamarins.

La graine de tamarin existe sous différentes formes : elle peut être ronde, ovale voire cubique.⁵ La longueur d'un côté est d'environ 1,5 cm tandis que l'épaisseur est de 0,75 cm. Les graines sont de couleur brune et sont composées d'une cosse (30 % du poids total) qui recouvre un noyau blanchâtre (70 % du poids total). Celui-ci renferme les composants suivant :

- Protéines (15 à 23 %)
- Huiles (4 à 7 %)
- Fibres brutes (1 à 8 %)
- Fibres alimentaires (65 à 72 %)
- Cendres (2 à 3 %)

La gomme de tamarin (ou poudre de noyau de tamarin : xyloglucane non purifié) a été découverte durant la seconde guerre mondiale lors d'une recherche sur de nouveaux matériaux d'encollage.⁶ Sa production commerciale débuta en 1943, en remplacement de l'amidon dans le textile. Aux Etats-Unis, elle a été utilisée en tant qu'additif dans l'industrie papetière en remplacement de l'amidon ou des galactomannanes. La gomme de graine de tamarin purifiée a été industrialisée pour la première fois en 1964 par le groupe japonais Dainippon Pharmaceuticals Co., Ltd.

La préparation du xyloglucane de la graine de tamarin est effectuée selon un procédé spécifique. La première étape consiste à laver les graines avec de l'eau et à les chauffer afin

que leur enveloppe devienne friable.⁶ Les graines sont décortiquées dans le but d'enlever l'endosperme qui, moulu, conduit à une poudre de noyau de tamarin. Cette dernière contient au minimum 50 % de xyloglucane. Afin d'obtenir un degré de purification supérieur, la poudre est portée à ébullition et agitée dans 30 à 40 fois sa masse en eau pendant 40 minutes, puis on la laisse revenir à température ambiante et elle est décantée toute une nuit. Ce procédé permet aux protéines et aux fibres de précipiter et de se déposer. Le surnageant est, quant à lui, concentré à la moitié de son volume et filtré avant d'être séché et moulu.

A ce jour, seules les graines provenant du tamarinier sont exploitées commercialement.⁶ Elles se trouvent sous trois formes, la nomenclature provenant de la société Dainippon Pharmaceuticals :

- Préparation 3A : insoluble dans l'eau froide et demandant donc un chauffage à 75°C pendant au moins 15 minutes pour obtenir une solution
- Préparation 3S : solution visqueuse mais soluble dans l'eau froide
- Préparation 6C : soluble dans l'eau froide et d'une grande limpidité

Dans la littérature, le xyloglucane est généralement hydrolysé de la manière suivante : au xyloglucane de tamarin (concentration finale 20 %) sont ajoutés 2 % d'endo- β -(1 \rightarrow 4)-glucanase du champignon *Trichoderma viride*. La suspension à pH 5 est chauffée à 40°C pendant 12 heures. A la suite de cette réaction qui hydrolyse la chaîne principale du polysaccharide, le mélange réactionnel est chauffé à 100°C pendant 30 minutes pour désactiver l'enzyme. Le mélange est ensuite centrifugé à 8000 tr/min pendant 15 minutes pour éliminer les produits insolubles puis il est filtré. Le filtrat est enfin concentré, neutralisé et séché pour obtenir les oligosaccharides de xyloglucane (ou oligoxyloglucanes).^{7,8}

1.3. Nomenclature et structure

Le xyloglucane est un polysaccharide constitué d'unités D-glucopyranosyle liées en β -(1 \rightarrow 4). Celles-ci peuvent être jusqu'à 75 % substituées en position 6 par des mono-, di- ou trisaccharides.

Afin de simplifier la dénomination des chaînes latérales de xyloglucane, Fry et al. ont proposé un système simple basé sur un code de lettres permettant de préciser la nature des substituants (Tableau I-1).⁹ Ainsi, la lettre « G » représente une unité glucose non ramifiée

tandis que la lettre « X » représente une unité glucose substituée en position 6 par une unité xylose. De même, la lettre « L » représente une unité glucose substituée en position 6 par une unité xylose elle-même substituée en position 2 par une unité galactose. Le code « Gol » est indiqué pour le glucose réducteur qui est converti en alditol (produit issu de la réduction de la fonction carbonyle de l'aldol). L'annotation se fait à partir de l'unité terminale non réductrice.

Tableau I-1 : Code à une lettre des sous-structures de xyloglucane.

	α -L-Fucp 1 ↓ 2			α -L-Galp 1 ↓ 2		β -L-Araf 1 ↓ 3					
	β -D-Galp 1 ↓ 2	β -D-Galp 1 ↓ 2		β -D-Galp 1 ↓ 2	α -L-Araf 1 ↓ 2	α -L-Araf 1 ↓ 2					
	α -D-Xylp 1 ↓ 6										
β -D-Glcp	β -D-Glcp	β -D-Glcp	β -D-Glcp	β -D-Glcp	β -D-Glcp	β -D-Glcp	β -D-Glcp	β -D-Glcp	β -D-Glcp	β -D-Glcp	D-Glcol
							2 ↑ 1 α -L-Araf	2 ↑ 1 β -D-Xylp	2 ↑ 1 β -D-Xylp		
									3 ↑ 1 α -L-Araf		
G	F	L	X	J	S	T	A	B	C	Gol	

Sur la chaîne principale, la position des substituants est régulière. Cependant, leur distribution ou leur arrangement est aléatoire. Il a également été montré que la distribution des substituants entre deux espèces de plantes n'est pas identique, de même qu'elle diffère légèrement entre deux mêmes espèces ayant évolué dans deux milieux distincts.¹⁰

Dans le cas particulier du xyloglucane issu de graines de tamarin, la chaîne principale est constituée d'unités **D-glucopyranosyle** (Glc ou Glc) qui sont partiellement substituées en position 6 par des unités **α -D-xylopyranosyle** (Xylp ou Xyl). Certaines de ces unités xylopyranosyle sont elles-mêmes substituées en position 2 par des **β -D-galactopyranosyle** (Galp ou Gal) (Schéma I-1).

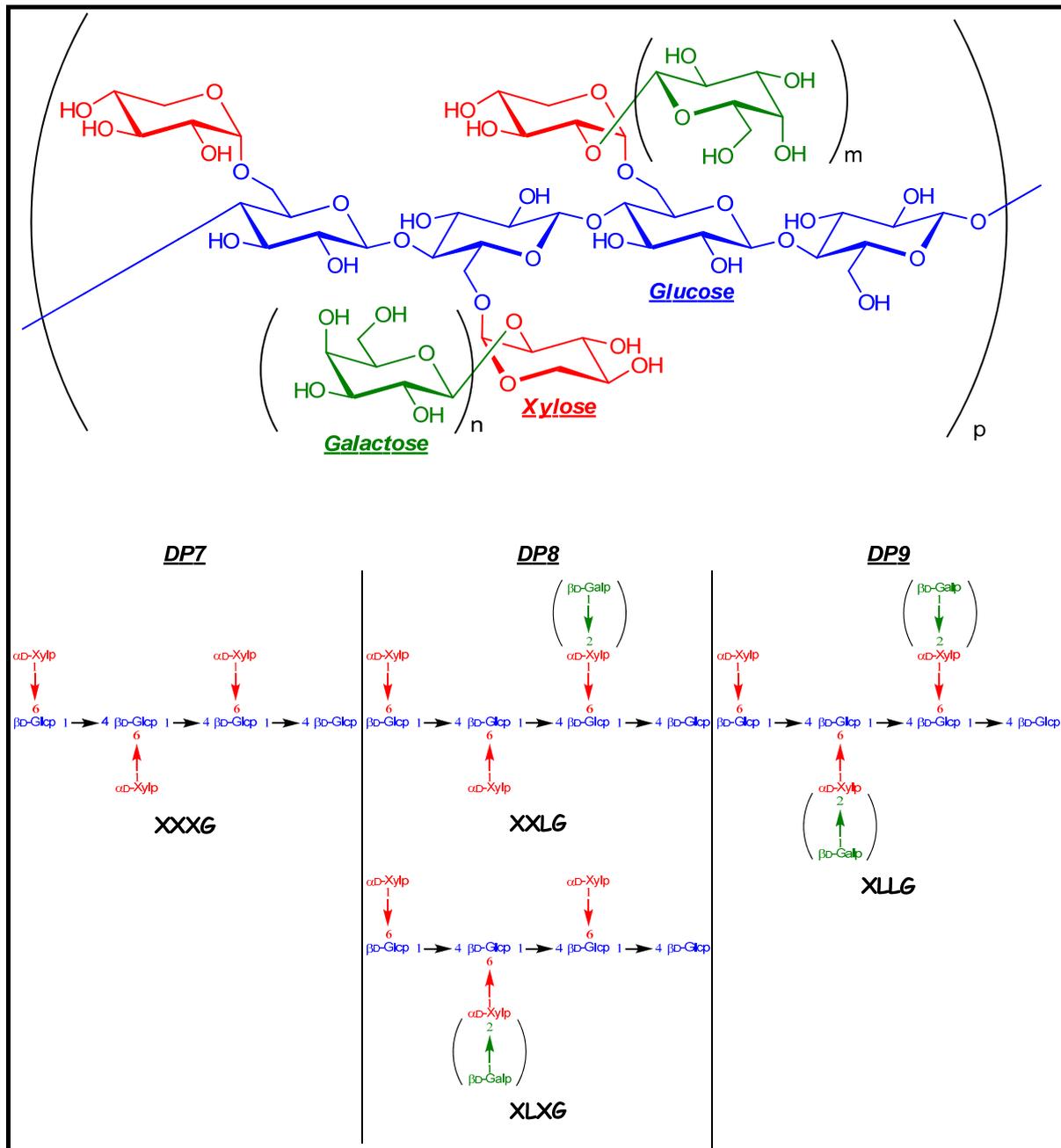


Schéma I-1 : Unité répétitive du xyloglucane issu de graines de tamarin

(m = 0 ou 1 ; n = 0 ou 1).

Ainsi, les unités répétitives du xyloglucane de tamarin sont l'heptasaccharide (XXXG), l'octasaccharide (XXLG ou XLXG selon que l'unité galactose est sur la première unité xylose ou la seconde) et le nonasaccharide (XLLG).

Les rapports galactose/xylose/glucose sont généralement égaux à 1/2,25/2,8¹¹ tandis que le rapport entre les trois formes des oligosaccharides, heptasaccharide/octasaccharide/nonasaccharide est égale à 13/39/48.¹²

La masse molaire du xyloglucane issu de graines de tamarin varie selon les méthodes d'analyse : de 115 000 g/mol⁵ à 880 000 g/mol¹¹ calculée par diffusion de la lumière, en passant par 650 000 g/mol déterminée par chromatographie d'exclusion stérique (CES).¹³

La structure du xyloglucane a été examinée par diffusion de la lumière, diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS) et par diffusion par les neutrons.¹⁴ Les résultats montrent qu'en solution aqueuse, le xyloglucane de graines de tamarin forme des agrégats de tailles différentes. La longueur de Kuhn (équivalente à la longueur de l'unité répétitive) L_K est de 110 nm tandis que le rayon de giration de la coupe transversale est estimé à $R_{gc} = 0,6 \pm 0,05$ nm. La conformation des oligosaccharides de xyloglucane a été simulée par la méthode de Monte-Carlo. Les résultats obtenus par la technique SAXS montrent que les oligomères de DP 7, 8 et 9 adoptent une conformation ellipsoïdale. Le rayon de giration du nonasaccharide est estimé à 0,77 nm tandis que celui de l'octasaccharide et de l'heptasaccharide est estimé respectivement à 0,62 nm et 0,86 nm. La plus grande valeur du rayon de giration de l'heptasaccharide indique que l'absence de substituants Gal ou Xyl-Gal favorise l'importance des liaisons hydrogène entre chaînes de xyloglucane et favorise ainsi l'agrégation.

Levy et al. ont évalué qu'en solution aqueuse, des oligomères seuls comportant également des résidus fucosyle (le fucose est présent dans d'autres espèces que le xyloglucane de tamarin), adoptent une conformation hélicoïdale. Cependant ils se distinguent par une conformation en ruban plat en présence de cellulose ; il y a rotation des substituants afin d'être complémentaires de la chaîne cellulosique (Figure I-5).¹⁵

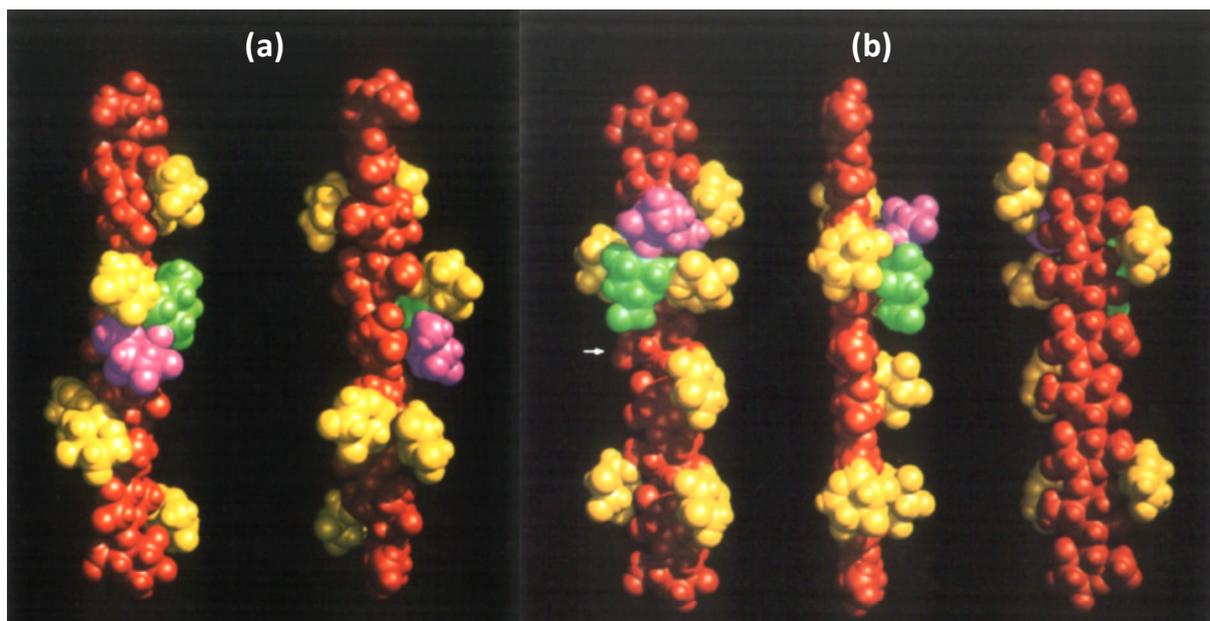


Figure I-5 : Conformation hélicoïdale (a) et ruban (b) d'oligosaccharides de xyloglucane – code couleur : Glc, rouge ; Xyl, jaune ; Gal, vert ; Fuc, violet.¹⁶

1.4. Applications

Le xyloglucane de graines de tamarin a, dans un premier temps, trouvé de nombreuses applications dans le domaine alimentaire avant d'être utilisé dans des domaines tels que les industries cosmétiques et textiles ou encore biologiques.

1.4.1. Alimentaires

Le xyloglucane de graines de tamarin est utilisé comme additif au Japon et dans les pays asiatiques du Sud-est tandis que les autorités européennes et américaines n'autorisent pas encore son utilisation à ce jour. Des tests effectués pendant deux ans sur des rats ayant un régime comportant 4, 8 et 12 % de xyloglucane de graines de tamarin n'ont pas révélé de changements significatifs sur l'animal.^{13, 17}

La quantité de xyloglucane introduit dans l'aliment dépend de la propriété recherchée mais une proportion de 0,1 % à 0,5 % représente une moyenne. La mise en solution du xyloglucane constitue le point important pour une utilisation optimale de celui-ci. Les facteurs favorisant la dissolution sont :

- l'utilisation d'une quantité d'eau suffisante
- une très forte agitation et un ajout lent lors de la mise en solution
- une faible température de mise en solution
- l'ajout éventuel d'alcool ou d'huile en tant que dispersant pour prévenir la formation de grumeaux.

La propriété la plus importante d'un point de vue alimentaire est l'hydrophilie du xyloglucane de par ses nombreuses fonctions hydroxyle le long des chaînes. L'hydrophilie garantit une teneur en eau maximale dans l'ensemble des aliments.¹²

En tant qu'épaississant, le xyloglucane fournit un caractère visqueux sans pour autant apporter de caractère pâteux ni filandreux. De plus, d'un point de vue gastronomique, il fournit du corps et de la densité aux aliments. La consistance apportée introduit une stabilité des petites particules dans les boissons telles que les jus de fruits. De même, le xyloglucane assure des émulsions stables : il induit des gouttelettes d'huile plus fines qu'avec l'utilisation de gomme de xanthane ou de carragenane ; le polysaccharide est ainsi utilisé dans les sauces pour salades et la mayonnaise.

Le xyloglucane seul ou en combinaison avec d'autres polysaccharides (guar, carragenane, etc.)¹² stabilise très efficacement les desserts glacés en leur conférant une excellente stabilité aux chocs thermiques et en évitant la séparation des cristaux de glace et du sucre sur de longues périodes de conservation.

Le xyloglucane de tamarin forme un gel élastique en présence d'autres polysaccharides ou d'alcool. Dans ce sens, il est similaire aux pectines. Il forme un gel en présence de 40-65 % de saccharose sur une large gamme de pH. Cette quantité peut être réduite en ajoutant de l'alcool (jusqu'à 20 %). La texture du gel n'est pas affectée par une augmentation de température, grâce à une bonne stabilité à chaud ; ainsi, on utilise le xyloglucane dans la gelée ou la confiture.¹² Ce gel résiste également à des cycles de congélation-décongélation.

Comme d'autres polysaccharides, le xyloglucane de tamarin est utilisé en tant que substitut de graisses. En effet, ses solutions procurent une excellente sensation en bouche ainsi que des propriétés se rapprochant des graisses ou des huiles (excepté dans le cas des aliments frits). De ce fait, les sauces et les mayonnaises allégées constituent des applications importantes du xyloglucane.¹²

Le xyloglucane permet également de supprimer le vieillissement de l'amidon sous certaines conditions en apportant une meilleure stabilité lors du chauffage, une meilleure

résistance mécanique et une meilleure texture, notamment dans la farine de froment. En combinaison avec l'amidon ou en remplacement de celui-ci, le xyloglucane de graines de tamarin a été utilisé dans les crèmes anglaises, les ragoûts, les nouilles ou les confiseries traditionnelles japonaises.

1.4.2. Textiles

Le xyloglucane de graines de tamarin a longtemps été utilisé, particulièrement en Asie, comme agent d'encollage pour le textile. En comparaison avec l'amidon, l'encollage du coton et du jute en sa présence, améliore la force de la fibre pendant le tissage et apporte de la douceur et de la rigidité au textile.^{18, 19} Ces effets sont probablement dus à l'enchevêtrement amélioré des fibres par les interactions xyloglucane-cellulose. L'encollage des fibres suivi de l'utilisation d'une enzyme (la β -glucanases qui hydrolyse le squelette glucosique du xyloglucane)²⁰⁻²² rompt une partie des interactions mettant en jeu le xyloglucane et permet ainsi d'atténuer la couleur et de donner une apparence usée au vêtement.²³

Le xyloglucane est également utilisé en combinaison avec une autre enzyme, la XET (« xyloglucan endotransglycosylase ») afin d'améliorer les propriétés de rétention de forme, anti-faux plis, anti-rétrécissement, d'élasticité, de tenue des couleurs et anti-peluches.

1.4.3. Papier

L'utilisation de xyloglucane de graines de tamarin pour remplacer l'amidon et les galactomannanes dans l'industrie du papier est décrite dans la littérature mais est peu mise en œuvre.¹⁹ Christiernin et al. ont étudié l'effet de mouillage du xyloglucane introduit avec la cellulose.²⁴ Le xyloglucane se lie à la pulpe de papier et améliore sa formation et sa résistance. De même, Stiernstedt et al. ont démontré la capacité du xyloglucane adsorbé sur de la cellulose à former un film lubrifiant, ce qui permet de réduire la rugosité de la cellulose.²⁵

Par ailleurs, Brumer et al. ont développé une méthode biomimétique pour modifier la cellulose (Schéma I-2).²⁶ Elle consiste dans un premier temps à modifier des oligosaccharides de xyloglucanes par amination réductrice (réaction exposée dans la partie 3.4.1.2 de ce chapitre) afin d'introduire différentes fonctions réactives (R = amines^{26, 27} thiols,^{26, 28} groupements fluorescents,²⁹ protéines,³⁰ amorceurs de polymérisation.^{31 32}). Dans un second temps, l'utilisation de l'endo-transglycosylase XET permet de coupler l'oligoxyloglucane à

une chaîne de xyloglucane (sous forme polysaccharidique). Les propriétés d'adsorption du xyloglucane sur la cellulose sont ensuite utilisées afin de conférer à cette dernière des propriétés spécifiques comme une hydrophobie élevée.

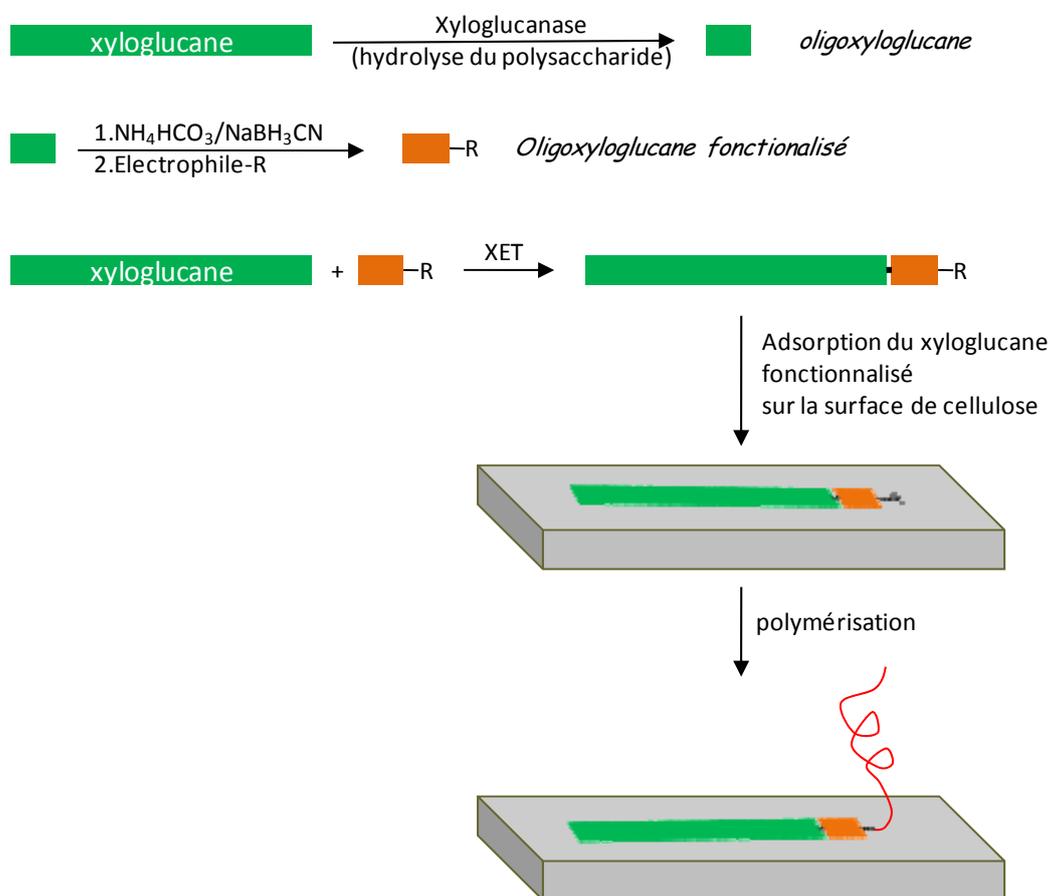


Schéma I-2 : Modification de xyloglucane et fonctionnalisation de la cellulose.²⁶

1.4.4. Cosmétiques

Comme de nombreux polysaccharides, le xyloglucane de graines de tamarin est utilisé dans le domaine cosmétique pour son caractère hydrophile. Associé à des aminoacides de type glycine, il offre une meilleure hydratation de la peau.^{33, 34} De même, le xyloglucane induit un très bon effet coiffant. Son association à un terpolymère acrylique permet d'obtenir une formule pour application capillaire, avec de bonnes propriétés de douceur et de démêlage tout en procurant de bonnes propriétés fixantes.³⁵

Par ailleurs, Kawasoe et col. ont utilisé le xyloglucane afin d'améliorer les performances fixatives des teintures pour cheveux et diminuer leurs effets irritants sur le cuir chevelu.³⁶ Par addition de xyloglucane et de silicones dans le fixateur et la teinture, une très grande stabilité et une bonne tenue de la couleur ont été obtenues ainsi qu'une douceur au toucher après application.

Tout comme pour les applications alimentaires, le xyloglucane est utilisé en tant qu'épaississant afin de donner du corps et améliorer la texture finale de la formule pour des applications sur peau et cheveu.³⁷⁻⁴¹

Enfin, Yokoyama et al. ont substitué une partie des fonctions hydroxyle du xyloglucane de graines de tamarin par des fonctions alkylamine quaternaires afin d'obtenir des tensio-actifs dans une formulation shampooing améliorant ainsi la brillance et le coiffage du cheveu.⁴²

1.4.5. Biologiques

Le xyloglucane, comme la plupart des polysaccharides complexes, a fait l'objet de nombreuses études afin de mettre en évidence ses fonctions biologiques.

Le xyloglucane est un polysaccharide non digestible qui agit comme des fibres diététiques, en régulant le taux de glucose dans le sang et en réduisant le taux de cholestérol.⁴³ Ces effets sont importants pour la prévention ou le traitement de maladies chroniques comme le diabète ou les problèmes cardiaques.

Mastromarino et al. ont réalisé des tests démontrant que du xyloglucane de graines de tamarin, porteur de fonctions sulfate, a une activité antivirale sur le virus responsable de la rubéole empêchant sa réplication.⁴⁴

Strickland et al. ont montré à travers des tests réalisés sur des souris que le xyloglucane de graines de tamarin empêche la suppression des réponses immunitaires des lymphocytes T, causées par une exposition continue aux rayonnements ultra-violets.⁴⁵ Le xyloglucane ne permet cependant pas de rejeter les tumeurs existantes ; il jouerait plutôt un rôle immunoprotecteur.^{46,47}

Sreelekha et al. ont découvert que le xyloglucane de graines de tamarin induisent des activités immunomodulatrices comme l'augmentation de l'activité phagocytaire, l'inhibition de la migration des leucocytes et l'inhibition de la prolifération cellulaire.⁴⁸

Des formulations de xyloglucane sous forme de gel ont été élaborées¹⁷ pour permettre l'administration de médicaments par voie rectale,⁴⁹ intrapéritonéale,⁵⁰ ophtalmique,^{51,52} percutanée,⁵³ et orale.⁵⁴⁻⁵⁷

Bodin et al. ont démontré l'intérêt du xyloglucane de tamarin dans l'ingénierie tissulaire.⁵⁸ Une modification homogène, en phase aqueuse, de nanofibrilles de cellulose par un mélange de polysaccharide et d'oligosaccharide modifiés par une séquence peptidique sur l'unité réductrice, permet une amélioration de l'adhésion de cellules endothéliales ; celles-ci interviennent dans l'échange de substances nutritives au sein des vaisseaux sanguins.

1.5. Conclusion

Le xyloglucane constitue la part la plus importante de l'hémicellulose des plantes et représente donc une ressource importante sur la planète. La structure du xyloglucanes issu de graines de tamarin est proche de la cellulose avec un squelette constitué d'unités β -D-glucopyranosyle substituées par des unités α -D-xylopyranosyle et β -D-galactopyranosyle. Il possède de nombreuses applications, tant dans le domaine alimentaire que médical et celui de la détergence. Des travaux de modifications chimio-enzymatiques ont déjà été effectués sur ce polysaccharide, ce qui en fait un bon candidat pour ce travail de thèse. Des notions de chimie enzymatique visant à modifier de manière spécifique et contrôlée le polysaccharide sont présentées dans la partie suivante.

2. Synthèse chimio-enzymatique d'oligosaccharides

La synthèse chimique d'oligo/polysaccharides est souvent un travail long et fastidieux, impliquant de nombreuses étapes de protection/déprotection des fonctions hydroxyle et influant considérablement sur le rendement global de la synthèse. Une alternative consiste à utiliser des enzymes afin de créer ces liaisons entre deux unités glycosidiques définies : le donneur de glycosyle et l'accepteur de glycosyle (Schéma I-3). Les principales enzymes qui seront présentées plus loin sont les glycosyltransférases, les glycoside-hydrolases et les mutants de ces dernières, les glycosynthases.

Les avantages et inconvénients de l'utilisation d'enzymes dans la synthèse d'oligosaccharides sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau I-2 : Avantages et inconvénients de l'utilisation d'enzymes dans la synthèse glucidique.

Avantages	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Réactions régio- et stéréosélectives ▪ Groupes protecteurs non nécessaires ▪ Efficacité élevée ▪ Conditions douces ▪ Biodégradabilité et non-toxicité
Inconvénients	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Spécificité trop importante (il n'existe pas d'enzyme universelle) ▪ Conditions spécifiques (utilisation des enzymes dans des gammes de pH et/ou températures précises).

Si on s'intéresse à la structure d'une enzyme, la région où se produit la réaction de glycosylation est désignée « site actif ». Celui-ci est constitué de plusieurs acides aminés qui permettent de réaliser la réaction de glycosylation. De plus, il présente une structure tridimensionnelle, formée par le repliement de la protéine enzymatique qui permet le rapprochement des acides aminés et l'immobilisation des substrats.

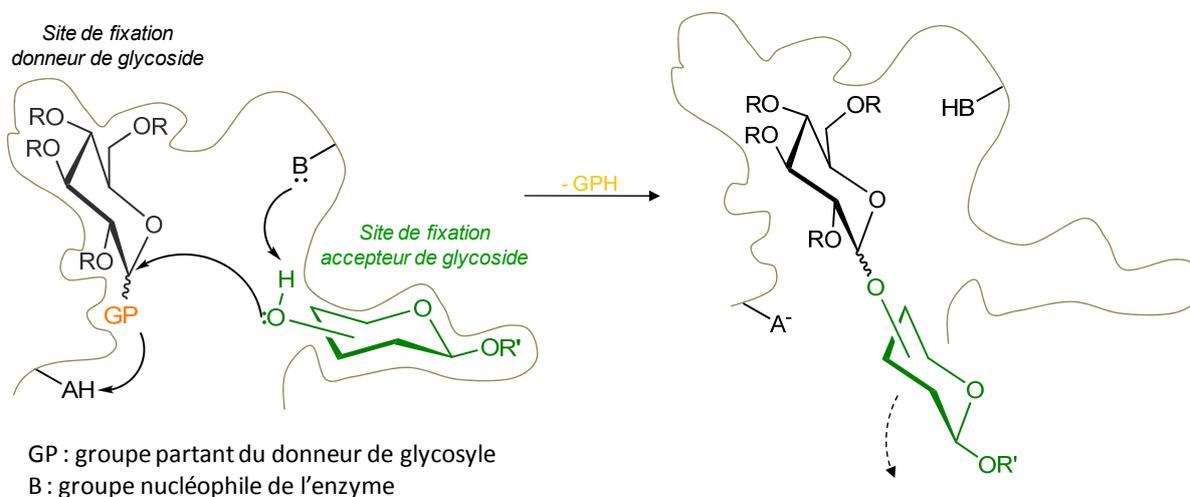


Schéma I-3 : Synthèse enzymatique d'une liaison glycosidique.

Pour différencier les enzymes, des classifications ont été proposées. On peut citer la classification de l'IUBMB (International Union of Biochemistry and Molecular Biology). Chaque enzyme reçoit un numéro EC (Enzyme Commission) de type X.X'.X''.X''' selon la réaction chimique qu'elle catalyse. Chaque code d'enzyme comporte donc les lettres majuscules « EC » suivies de quatre chiffres séparés par des points.

Henrissat et al. ont également proposé en 1991 une classification appelée CAZy (Carbohydrate-Active enZymes) portant sur les analogies des séquences protéiques.⁵⁹ La classification CAZy diffère de la classification de l'IUBMB par le fait que des enzymes de spécificités différentes peuvent appartenir à la même famille. Les enzymes répertoriées peuvent être consultées sur Internet à l'adresse suivante : www.cazy.org.

2.1. Les glycosyltransférases

Les glycosyltransférases (EC 2.4.X.X') sont les enzymes responsables de la biosynthèse des oligo- et polysaccharides dans la nature. On distingue deux groupes de glycosyltransférases en fonction du donneur de glycosyle utilisé : les enzymes de type Leloir et celles de type non-Leloir (voir des exemples dans le Schéma I-4).

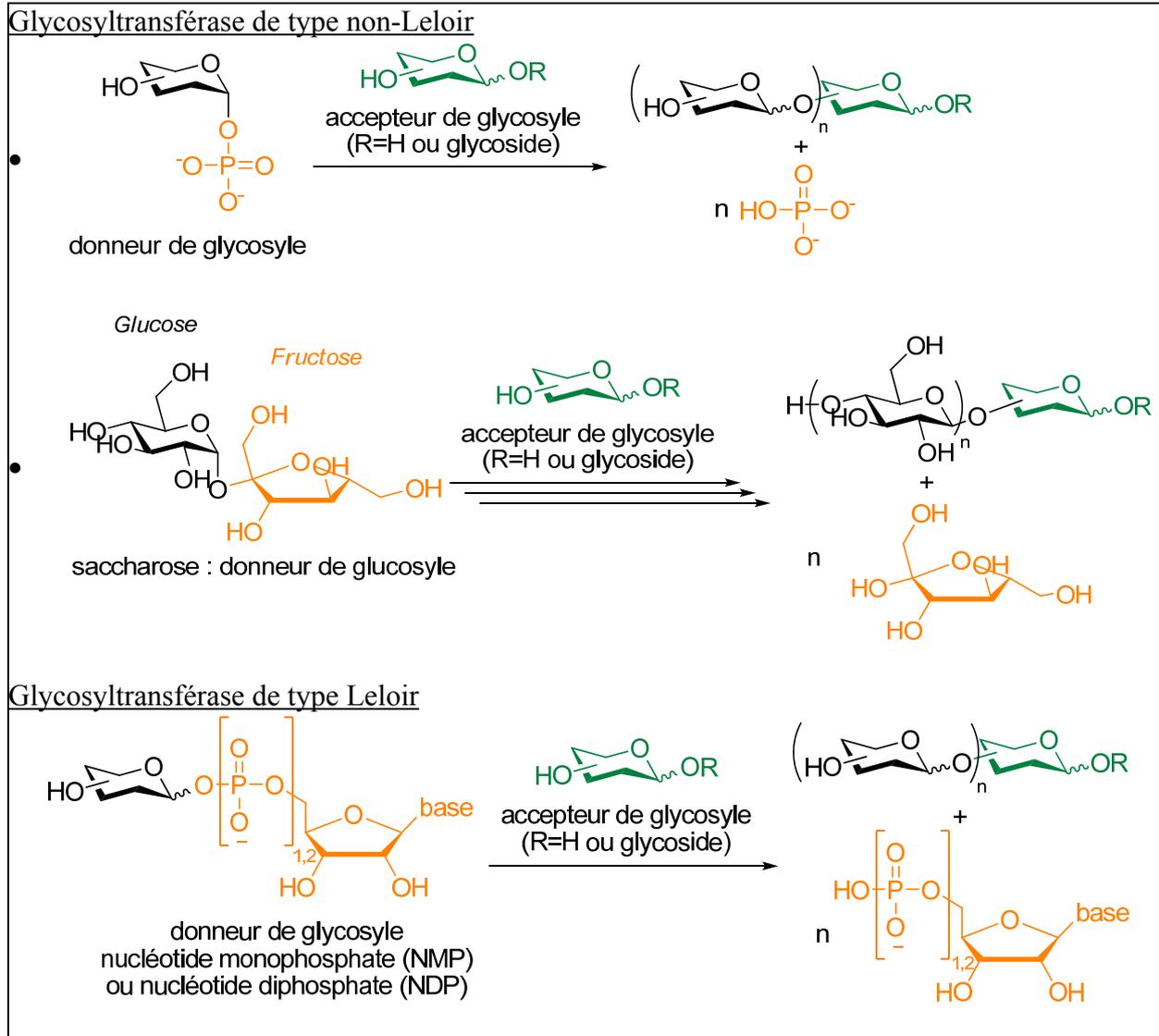


Schéma I-4 : Synthèse enzymatique via une glycosyltransférase de type non-Leloir et Leloir.

Si on considère les enzymes de type non-Leloir, deux cas se présentent. Dans un premier cas, le donneur de glycosyle est activé par un phosphate (on parle alors d'enzyme phosphorylase). Dans le deuxième cas, le donneur de glycosyle n'est pas directement activé mais possède un ou plusieurs sucres jouant le rôle de groupement partant. Ainsi, utilise-t-on le saccharose, transférant soit une unité fructosyle (on parle alors de fructosyltransférase) soit une unité glucosyle (on parle alors de glucosyltransférase).

De même des dérivés d'amidon sont utilisés en présence de cyclodextrine-glycosyltransférases (appelées communément CGTases) afin de synthétiser des α -, β - ou γ -cyclodextrines.

Les enzymes de type non-Leloir possèdent un potentiel important. En effet, elles ne nécessitent pas l'utilisation de donneur de glycosyle onéreux (110 € les 100 mg de sels de dipotassium d' α -D-Galactose 1-phosphate). Cependant, ces enzymes présentent également une activité d'hydrolyse qui constitue un frein à leur développement en synthèse.⁶⁰

Les glycosyltransférases de type Leloir sont à l'origine de la synthèse de la plupart des glycoconjugués se retrouvant à la surface des cellules chez les mammifères et dans la paroi cellulaire des plantes, des champignons et des bactéries. Ces enzymes utilisent des donneurs de glycosyle avec un nucléotide : la cytidine monophosphate (CMP), l'uridine diphosphate (UDP), la guanosine diphosphate (GDP) ou la thymidine diphosphate (TDP).

La plupart des UDP/GDP-glycosyltransférases peuvent être divisées en deux « super-familles » : GT-A et GT-B.⁶¹ La différence entre les deux se situe au niveau de la structure de l'enzyme, à savoir le repliement protéique des sites actifs mais également au niveau de leur mécanisme de catalyse. Les enzymes de type GT-A requièrent effectivement un métal (souvent Mg^{2+} ou Mn^{2+}) lors de la transglycosylation, ce qui n'est pas le cas des enzymes de type GT-B

Le mécanisme de réaction conduit à des produits avec rétention et inversion de configuration, sans aucune liaison avec l'appartenance à la famille GT-A ou GT-B de l'enzyme. Les mécanismes d'inversion et de rétention de configuration sont donnés à titre d'exemple pour les GT-A (Schéma I-5 et Schéma I-6). Les glycosyltransférases à inversion de configuration passent par un état de transition de type oxocarbenium par la suite attaqué par l'accepteur au niveau de la face opposée à la liaison sucre-nucléotide. Quant aux glycosyltransférases à rétention de configuration, elles agissent selon un mécanisme qui n'a pas encore été démontré mais qui semble mettre en jeu deux étapes (Schéma I-6). Les enzymes GT-B suivent le même mécanisme, sans l'intervention de métal.

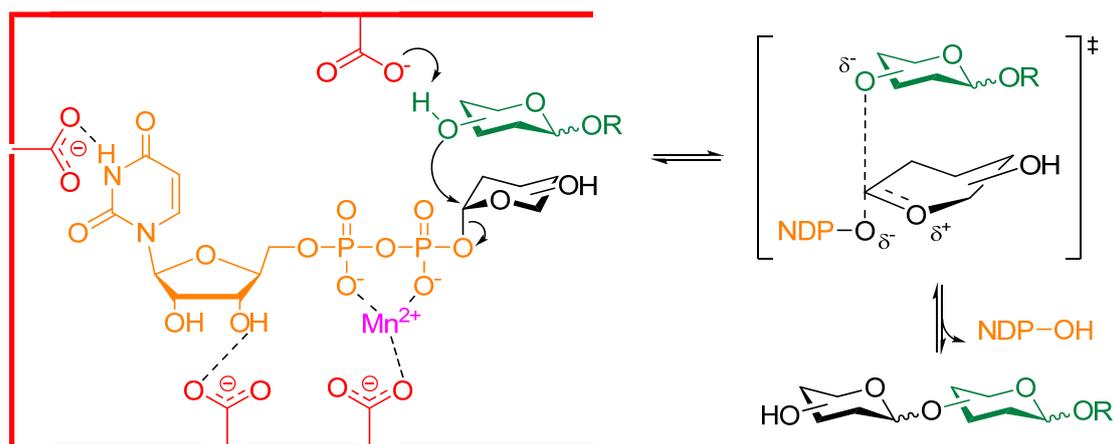


Schéma I-5 : Mécanisme d'action d'une glycosyltransférase GT-A avec inversion de configuration.

La grande variété de glycosyltransférases de type Leloir avec des spécificités différentes en terme d'accepteurs et de donneurs de glycosyle est un atout pour la synthèse d'oligosaccharides et permet la préparation de structures variées. De même, certaines glycoprotéines ou certains glycolipides peuvent fonctionner comme accepteurs offrant un accès à divers glycoconjugués.

Cependant, les glycosyltransférases sont rapidement inhibées par la présence du nucléoside libéré, ce qui limite généralement l'avancement et le rendement de la glycosylation. Afin de contourner ce problème, une méthode de régénération *in-situ* du sucre nucléotide a été développée, permettant la synthèse glucidique à grande échelle.⁶²

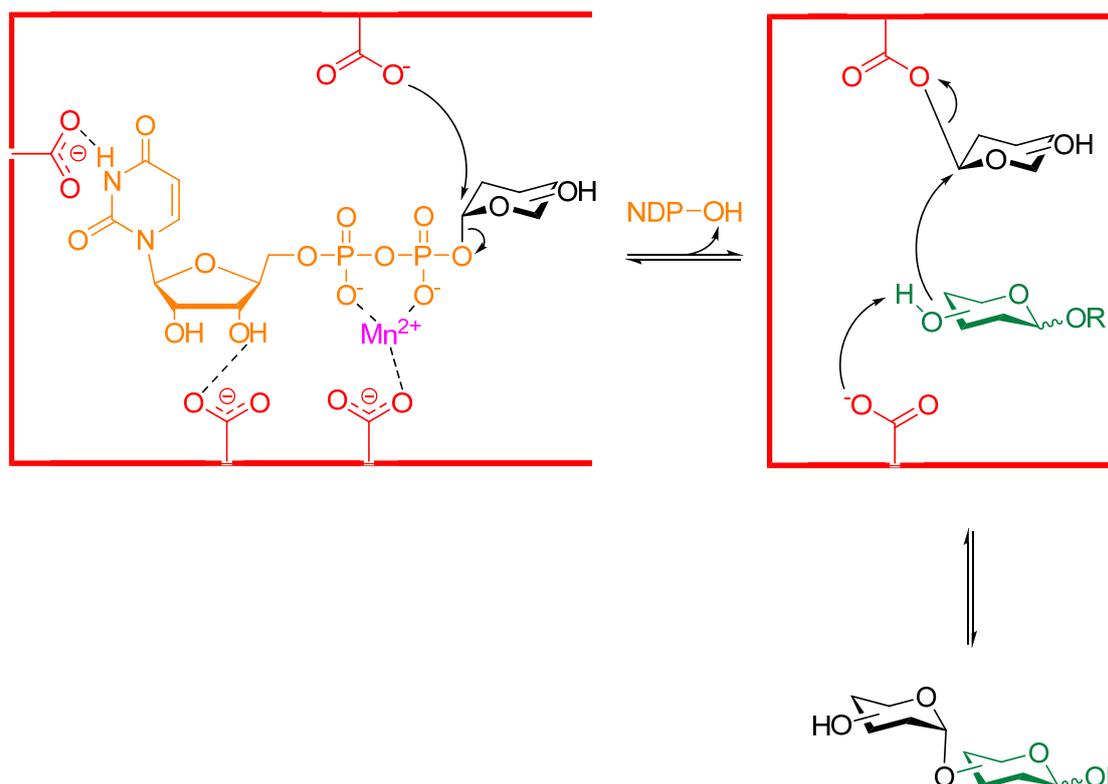


Schéma I-6 : Mécanisme d'action d'une glycosyltransférase GT-A avec rétention de configuration.

2.2. Les glycoside-hydrolases

Les glycoside-hydrolases ou glycosidases (EC 3.2.1.X) sont dans la nature les enzymes responsables de l'hydrolyse des oligo- et polysaccharides. Les *exo*-glycosidases (*exo* signifiant que l'hydrolyse se fait dans la plupart des cas sur le dernier sucre de la chaîne, conduisant le plus souvent à la libération de monosaccharides), de même que les *endo*-glycosidases (*endo* signifiant que l'hydrolyse se fait aléatoirement à l'intérieur de la chaîne glucidique) ont un rôle important dans le monde du vivant.

Mode d'action :

L'hydrolyse enzymatique des liaisons glycosidiques est une réaction acido-basique qui peut s'effectuer selon deux mécanismes décrits par Koshland.⁶³

Il existe des glycoside-hydrolases qui agissent avec rétention de configuration et d'autres agissant avec inversion de configuration. Dans les deux cas, la réaction passe par un état de transition de type oxocarbenium (Schéma I-7 à Schéma I-9) et est gouvernée par la

présence de deux acides aminés catalytiques : un donneur de proton acide/base et un nucléophile/base.⁶³ La différence entre les deux mécanismes se traduit par des modifications structurales au sein du site actif et par une différence de distance entre les acides aminés catalytiques. En effet, les acides aminés catalytiques d'une enzyme agissant avec rétention de configuration sont distants en moyenne de 5,5 Å tandis qu'elle est de 10 Å en moyenne pour une enzyme induisant une inversion de configuration. Cette distance plus importante est nécessaire dès lors que le substrat ainsi qu'une molécule d'eau doivent être présents simultanément entre les deux acides aminés pour permettre la réaction (Schéma I-7 et Schéma I-8)

Le mécanisme d'inversion de configuration s'effectue en une seule étape, comme suit :

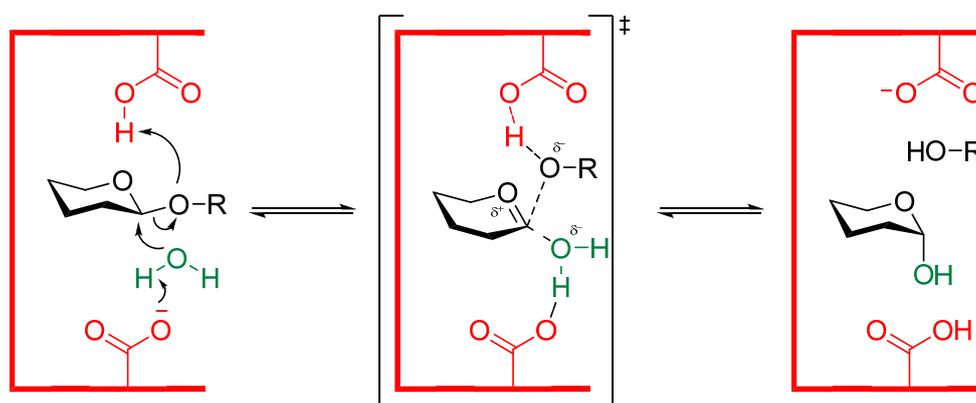


Schéma I-7 : Mécanisme d'une β-D-glycoside-hydrolase avec inversion de configuration.

L'atome d'oxygène glycosidique est protoné par le résidu acide/base et le départ de l'aglycone R s'accompagne de l'attaque d'une molécule d'eau activée par la base. Cette substitution conduit par conséquent à un produit de configuration opposée à celle du substrat de départ.

Le mécanisme de rétention de configuration implique deux inversions successives (Schéma I-8). La première étape est la protonation de l'atome d'oxygène glycosidique par le résidu acide/base et le départ de l'aglycone assisté par le nucléophile, pour conduire à la formation d'un intermédiaire glycosyl-enzyme. La deuxième étape se caractérise par l'hydrolyse de l'intermédiaire covalent par une molécule d'eau, conduisant à un produit de stéréochimie identique à celle du substrat initial.

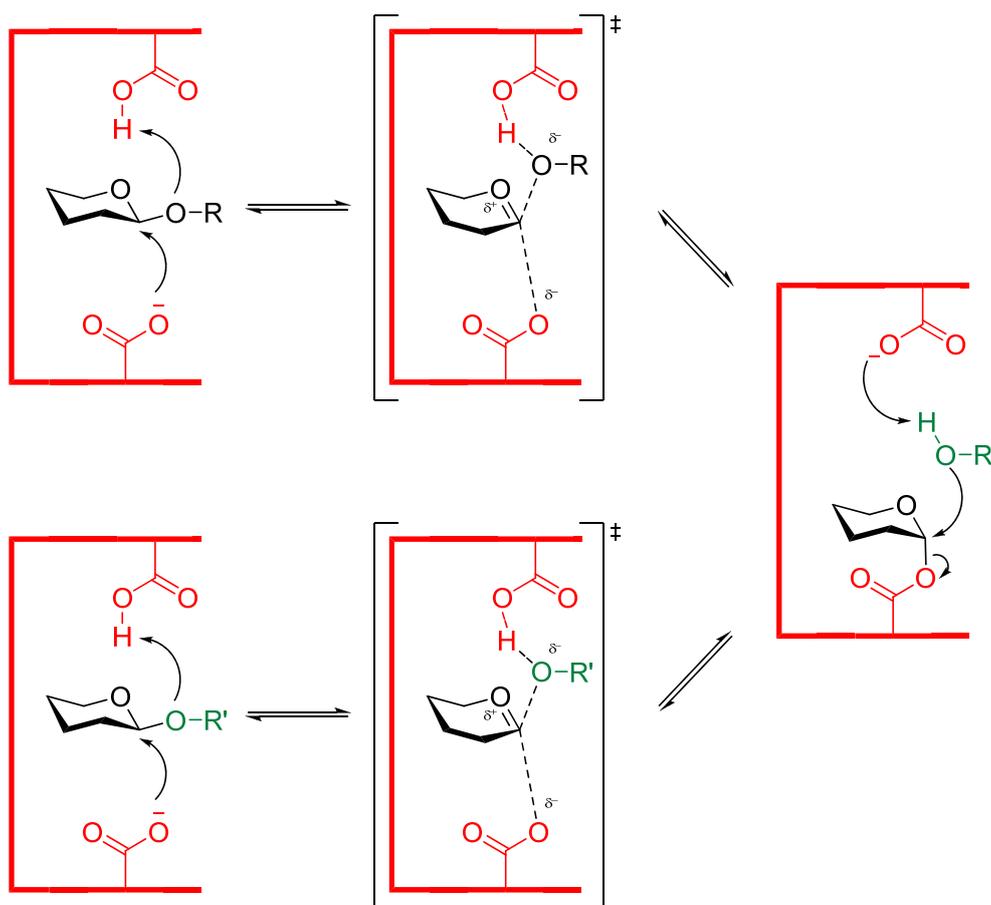


Schéma I-8 : Mécanisme d'action d'une β -D-glycoside-hydrolase avec rétention de configuration ($R' = H$, hydrolyse ; $R' = \text{sucres ou alcools}$, transglycosylation).

Si, à la place d'une molécule d'eau, un nucléophile comme un alcool ou une fonction hydroxyle d'un sucre est introduit dans le milieu, une réaction de transglycosylation se produit, conduisant à la formation d'une nouvelle liaison glycosidique. Cette activité de transglycosylation est exploitée lors de la synthèse enzymatique de glucides. La réaction est favorisée en milieu hydroorganique et en introduisant un grand excès de l'accepteur désiré. Une autre possibilité est d'utiliser un donneur possédant un bon groupement partant comme un groupement *para*-nitrophényle. Celui-ci étant mauvais nucléophile, il n'aura pas tendance à entrer en compétition avec l'accepteur désiré. Cependant, le produit obtenu est également un substrat pour l'enzyme et peut être lui-même hydrolysé. Une optimisation du procédé est souvent nécessaire pour obtenir des rendements moyens de 50 – 60 %.

Malgré ce défaut, les glycoside-hydrolases possédant une activité de transglycosylation offrent des avantages sur les glycosyltransférases. Elles sont souvent plus facilement

disponibles car plus stables et certaines sont vendues en grandes quantités pour un prix modéré (60 € les 100 mg de β -glucanase d *Aspergillus Niger*).

2.3. Les glycosynthases

Les activités de transglycosylation des glycoside-hydrolases ont conduit Withers et al., d'une part, et Planas et al., d'autre part, à proposer en 1997-1998 le concept de glycosynthase.⁶⁴⁻⁶⁶

Les glycosynthases sont des glycoside-hydrolases agissant avec rétention de configuration, et dont l'acide aminé nucléophile a été remplacé par un plus petit résidu non nucléophile *via* une mutagenèse dirigée. L'identification de l'acide aminé à modifier peut se faire de différentes manières,^{67,68} par exemple à travers l'utilisation d'inhibiteurs ou en étudiant la structure tridimensionnelle de l'enzyme. Lors de la réaction, le donneur de glycosyle, activé en position anomère par un bon groupe partant (généralement un fluorure) est convenablement positionné dans le centre actif de l'enzyme pour réagir avec l'accepteur. La configuration de son carbone anomère est opposée à ce qu'elle serait pour une enzyme non mutée (ou sauvage) et permet ainsi au sucre donneur de mimer l'intermédiaire glycosyl-enzyme. On utilise par exemple un fluorure d' α -glycosyle pour une β -glycoside hydrolase. Par la suite, l'acide aminé responsable de la catalyse acide permet d'activer l'hydroxyle du sucre accepteur. L'absence de résidu nucléophile rend ces enzymes incapables d'hydrolyser le substrat ni le produit formé qui s'accumule ainsi dans le milieu.

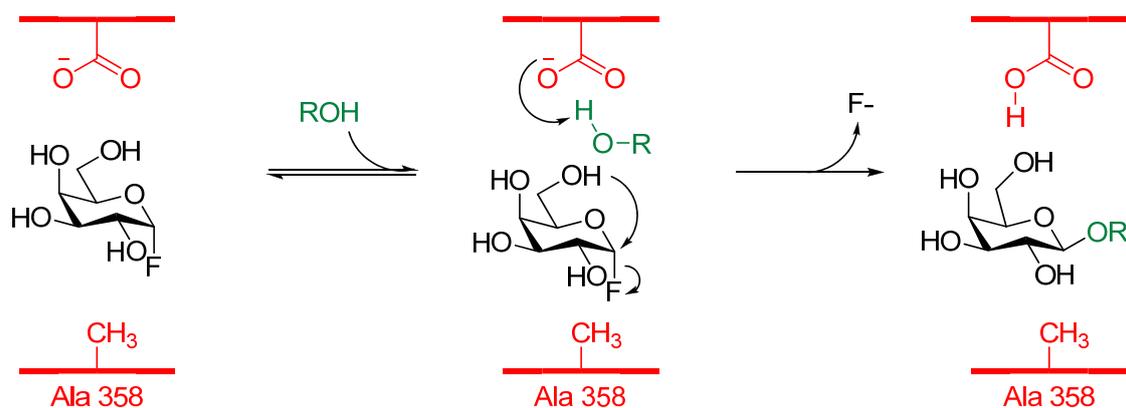


Schéma I-9 : Mécanisme d'action de la glycosynthase dérivée de la glucosidase /galactosidase d'*Agrobacterium sp.* modifiée au niveau du résidu glutamique 358 par une alanine.

C'est ainsi que Withers et al. ont utilisé en 1997 une *exo*-glycosidase d'*Agrobacterium* *sp.* possédant une forte activité de transglycosylation afin de la modifier en glycosynthase par mutation du résidu glutamique 358 (le résidu catalytique nucléophile) en alanine (sans activité nucléophile).^{64,65} L'enzyme modifiée accepte comme substrat le fluorure d' α -D-galactosyle (Schéma I-9) et le fluorure d' α -D-glucosyle.

En parallèle, Planas et al. ont obtenu une glycosynthase à partir d'une *endo*-glycosidase, la 1,3-1,4-glucanase de *B. licheniformis*. Cette enzyme utilise comme substrat le fluorure d' α -laminaribosyle et admet différents mono- et disaccharides comme accepteurs de glycosyle.⁶⁶

En 2000, Driguez et al. ont publié des travaux sur une glycosynthase dérivée de Cel7B d'*Humicola insolens*.⁶⁹⁻⁷¹ Une étude complète concernant la spécificité de substrat de cette enzyme a été effectuée et différents polysaccharides cellulosiques ainsi que de nombreux oligosaccharides incorporant des unités D-mannosyle, D-galactosyle ou encore D-xylosyle ont été obtenus, démontrant l'intérêt d'une telle enzyme pour la synthèse glucidique.^{72, 73}

Cette méthodologie a été utilisée pour d'autres *exo*- et *endo*-glycoside-hydrolases donnant ainsi accès à une large gamme de composés glucidiques et de liaisons formées (Tableau I-3). Une grande majorité concerne des enzymes créant des liaisons de configuration 1,2-*trans*. Cependant, Chiba et al. ont reporté la préparation de la première α -glycosynthase issue du mutant Asp481Gly de l' α -glycoside-hydrolase de *Schizosaccharomyces pombe* amenant à la synthèse d' α -maltosides et d' α -isomaltosides de nitrophényle.⁷⁴

Tableau I-3 : Glycosynthèses dérivées des *exo*- et *endo*-glycoside-hydrolases.

Origine de la glycosidase	Famille	Résidu muté	Liaison formée	référence
<i>Exo</i> -glycosidase				
<i>Agrobacterium sp. β-glucosidase</i>	GH1	E358	β -(1→4) β -(1→3) ^a	65
<i>Sulfolobus solfataricus β-glycosidase</i>	GH1	E387	β -(1→3/4/6)	75
<i>Thermosphaera aggregans β-glycosidase</i>	GH1	E386	β -(1→3/4/6)	76
<i>Pyrococcus furiosus β-glycosidase</i>	GH1	E372	β -(1→3)	76
<i>Thermus thermophilus β-glycosidase</i>	GH1	E338	β -(1→3) (β -(1→6))	77
<i>Streptomyces sp. β-glucosidase</i>	GH1	E383	β -(1→3) (β -(1→4)) ^a	78
<i>Oryza sativa β-glucosidase</i>	GH1	E414	β -(1→4)	79
<i>Cellulomonas fimi β-mannosidase</i>	GH2	E519	β -(1→3) β -(1→4) ^b	80
<i>Escherichia coli β-galactosidase</i>	GH2	E537	β -(1→6)	81
<i>Thermotoga maritima β-glucuronidase</i>	GH2	E476	β -(1→4)	82
<i>Schizosaccharomyces pombe α-glucosidase</i>	GH31	D481	α -(1→6/4)	74
<i>Geobacillus stearothermophilus β-xylosidase</i>	GH52	E335	β -(1→4)	83
<i>Endo</i> -glycosidase				
<i>Rhodococcus sp. glycoamidase</i>	GH5	E351	β -(1→1)	84
<i>Humicola insolens cellulase</i>	GH7	E197	β -(1→4)	69
<i>Clostridium stercorarium β(1→4)-xylanase</i>	GH10	E293	β -(1→4)	85
<i>Bacillus halodurans β(1→4)-xylanase</i>	GH10	E301	β -(1→4)	85
<i>Cellulomonas fimi Cex β(1→4)-xylanase</i>	GH10	E233	β -(1→4)	85
<i>Thermotoga maritima β(1→4)-xylanase</i>	GH10	E259	β -(1→4)	85
<i>Cellulomonas fimi CFX β(1→4)-xylanase</i>	GH10	E235	β -(1→4)	86
<i>Geobacillus stearothermophilus β(1→4)-xylanase</i>	GH10	E265	β -(1→4)	87
<i>Bacillus licheniformis β(1→3)-(1→4)-glucanase</i>	GH16	E134	β -(1→4)	66
<i>Pyrococcus furiosus β(1→3/4)-glucanase</i>	GH16	E170	β -(1→4) β -(1→3) ^b	88
<i>Hordeum vulgare β(1→3)-glucanase</i>	GH17	E231	β -(1→3)	89, 90
<i>Cellvibrio japonicus β-mannanase</i>	GH26	E320	β -(1→4)	91
<i>Populus tremula x tremuloides</i>	GH16	E85	β -(1→4)	92

^a En fonction de l'accepteur, un mélange peut être obtenu ; ^b la régiosélectivité change en fonction de l'accepteur.

2.4. Conclusion

La chimie enzymatique constitue un outil unique permettant d'obtenir des oligosaccharides de manière spécifique et contrôlée. Certaines enzymes ont pour fonction d'hydrolyser les liaisons glucidiques tandis que d'autres permettent d'en créer. Il est également possible d'utiliser des procédés enzymatiques pour introduire des fonctions qu'il serait très difficile, voire impossible d'introduire par la voie chimique classique.

La chimie enzymatique ouvre ainsi la voie à des glucides de structures et d'architectures différentes.

3. Synthèse de copolymères à partir de glucides

3.1. Introduction

Les dérivés glucidiques présentent un intérêt croissant en Science des polymères. Ils peuvent par exemple jouer un rôle biologique en participant à la reconnaissance et au ciblage de certaines cellules.⁹³ Ils présentent également des propriétés de biodégradabilité et de solubilité en phase aqueuse.^{94, 95} Leur utilisation dans un composé macromoléculaire, en association par exemple avec d'autres polymères (naturels ou non) permet d'utiliser les propriétés des polysaccharides et de les combiner à celles du polymère qui lui est associé. L'intérêt est de pouvoir moduler leur auto-assemblage en milieu aqueux sous forme de nanostructures (micelles sphériques directes ou inverses, vésicules polymères appelées polymersomes,...) tout en gardant en tête leur biocompatibilité et biodégradabilité.

Les copolymères glycosidiques peuvent être divisés en plusieurs catégories. Nous choisirons d'en définir trois (Figure I-6) :

- les copolymères greffés
- les glycopolymères issus de glycomonomères
- les copolymères à blocs

Remarque : la définition du terme glycopolymère n'est pas encore précise dans la littérature. Dans son acception classique, le terme désigne l'ensemble des polymères contenant des unités glucidiques, à savoir aussi bien les polymères naturels (cellulose, amidon,...) que les polymères « hybrides » à base d'unités synthétiques et d'unités glucidiques naturelles (en position latérale, terminale ou dans la chaîne principale).

En ce qui nous concerne, nous limiterons dans ce manuscrit la définition du terme glycopolymère aux polymères synthétiques obtenus à partir d'unités glucidiques (généralement un mono- ou disaccharide) porteuses de fonctions polymérisables (voie (b), Figure I-6).⁹⁶

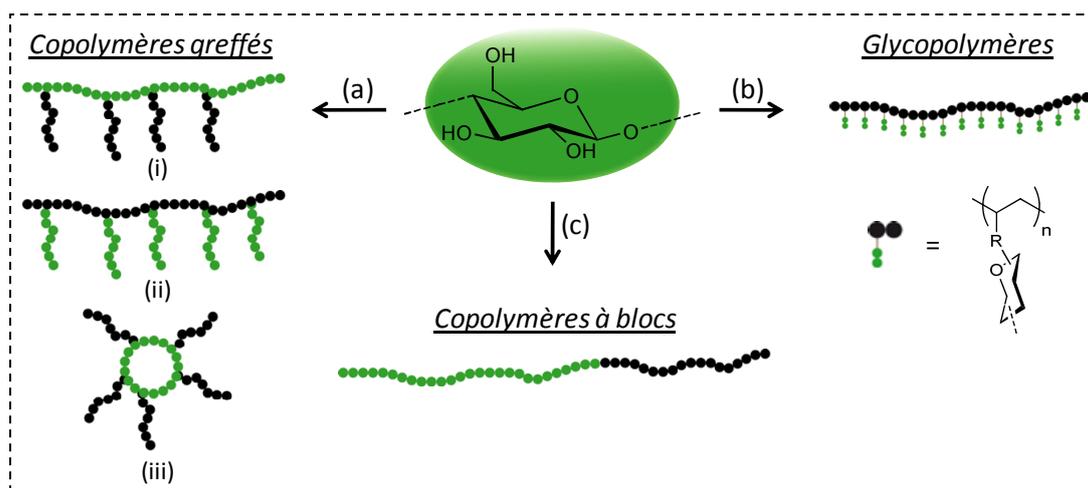


Figure I-6 : Principales architectures à base de copolymères glycosylés.

Après une brève description des méthodologies de synthèse des copolymères glucidiques greffés et des glycopolymères issus de glycomonomères, un état de l'art complet de la synthèse des copolymères à blocs renfermant au moins une fraction glucidique sera présenté.

3.2. Synthèse de copolymères glucidiques greffés

Les copolymères greffés sont constitués d'une chaîne principale (squelette ou tronc) sur laquelle sont greffés latéralement un ou plusieurs types de polymères (greffons). Deux distinctions sont faites selon la méthode de fixation des greffons sur le squelette. L'une d'elle consiste à faire croître le greffon à partir du squelette (méthode « grafting from »), tandis que l'autre consiste à coupler les greffons préalablement synthétisés sur la chaîne principale (méthode « grafting onto »).

3.2.1. Synthèse par la méthode « grafting from »

Dans le contexte qui nous intéresse, on trouvera des exemples où le polymère synthétique est lié de façon covalente sur le squelette glucidique (cas (i), Figure I-6), ou inversement (cas (ii), Figure I-6).

S'agissant du premier cas, la méthode associée consiste à modifier chimiquement les fonctions hydroxyle des glucides dans le but de moduler leurs propriétés et ainsi élargir leur domaine d'applications. Ainsi, la modification des fonctions hydroxyle de dérivés glucidiques par une fonction permettant de faire croître des greffons conduit à un copolymère greffé avec un squelette glucidique.

Une des limites de la technique « grafting from » est le contrôle difficile du nombre de greffons obtenus.

Les méthodes de polymérisation « vivante/contrôlée » constituent des outils de choix pour obtenir des copolymères bien définis avec une faible polymolécularité et capables d'amorcer une polymérisation. Ces méthodes ont été utilisées pour faire croître des greffons sur de la cellulose, du chitosane, du dextrane ou du pullulane *via* polymérisation radicalaire par transfert d'atome (ATRP),⁹⁷⁻¹⁰² *via* polymérisation par transfert réversible par addition-fragmentation (RAFT)^{103, 104} ou *via* polymérisation par ouverture de cycle (ROP).^{32, 105-119}

Dans cette méthode, nous intégrerons la synthèse de copolymères en étoile à partir d' α - ou β -cyclodextrine modifiée par des greffons sur son squelette. Ces derniers sont synthétisés *via* polymérisation par les nitroxydes (NMP), ATRP ou RAFT.¹²⁰⁻¹³⁰

Comme cela a été indiqué précédemment, la méthode « grafting from » peut être appliquée à la synthèse de copolymères greffés à greffons glucidiques. Ainsi, Kakuchi et al.¹³¹ ont par exemple préparé un macroamorceur de polystyrène (PS) partiellement fonctionnalisé par un maltohexaose et un maltopentaose, respectivement. Les auteurs ont allongé la chaîne glucidique par croissance enzymatique pour obtenir de l'amylose greffée sur du PS (Schéma I-10).

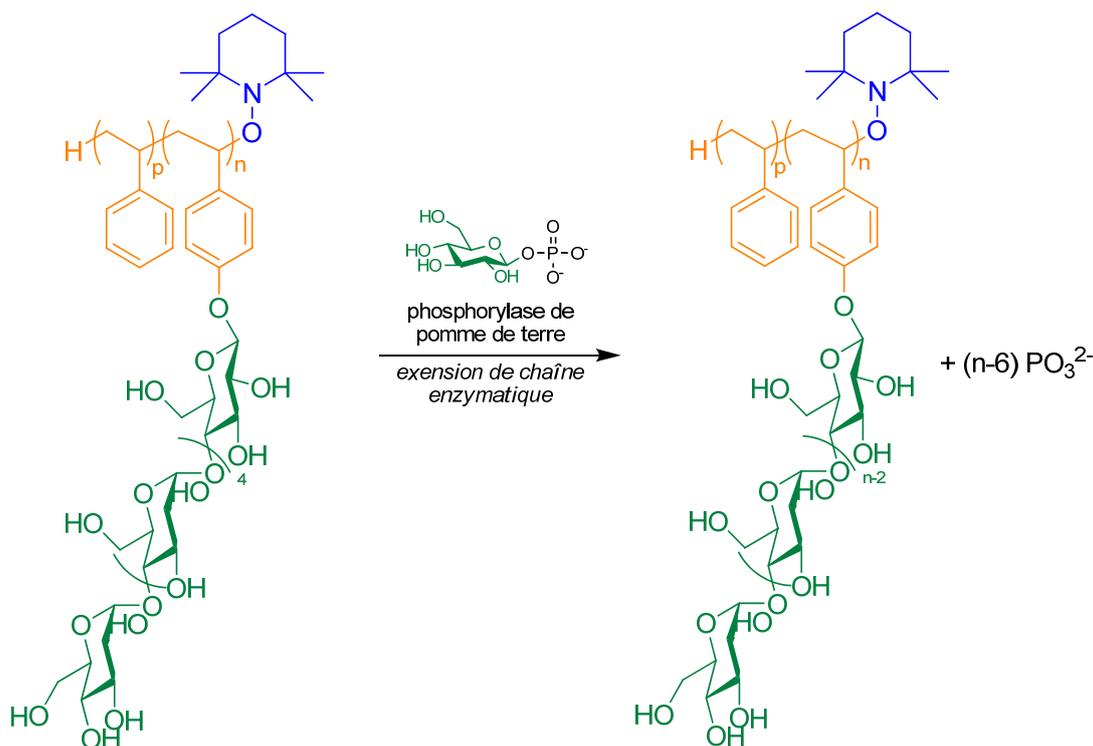


Schéma I-10 : Synthèse de copolymères PS-*b*-(PS-*g*-amylose) par extension enzymatique du vinyl-maltohexaoside.

3.2.2. Synthèse par la méthode « grafting onto »

La méthode « grafting onto » consiste à synthétiser préalablement les greffons pour les coupler subséquentement sur le tronc macromoléculaire. D'une manière générale, l'encombrement stérique lié à la longueur des greffons limite le taux de greffage et cette approche a été moins développée que la précédente ; les principaux exemples sont répertoriés dans le Tableau I-4.

Tableau I-4 : Méthodologie « grafting onto » avec un squelette glucidique.

Fonction réactive du squelette	Fonction réactive du greffon	Copolymères obtenu	Référence
Alcool	Imidazoyle	Dextrane- <i>g</i> -PNVP	132, 133
Amine	Succinimidyle	Chitosane- <i>g</i> -PCL	134
Acide	Amine	Alginate- <i>g</i> -(PEO- <i>b</i> -PPO)	135
Vinyl	Vinyle	PCL- <i>g</i> -chondroïtine	136
Alcool	Iodure	Cellulose- <i>g</i> -PEG	137

PNVP : poly(*N*-vinyl-2-pyrrolidone) ; PCL : poly(ϵ -caprolactone) ; PEO : poly-oxyde d'éthylène) ; PPO : poly(oxyde de propylène) ; PEG : poly(éthylène glycol).

Le groupe d'Hennink a récemment préparé des copolymères greffés à partir d'une méthode consistant à coupler le poly(acide lactique) activé par un groupe imidazole sur les fonctions hydroxyle du dextrane (Schéma I-11).^{138, 139}

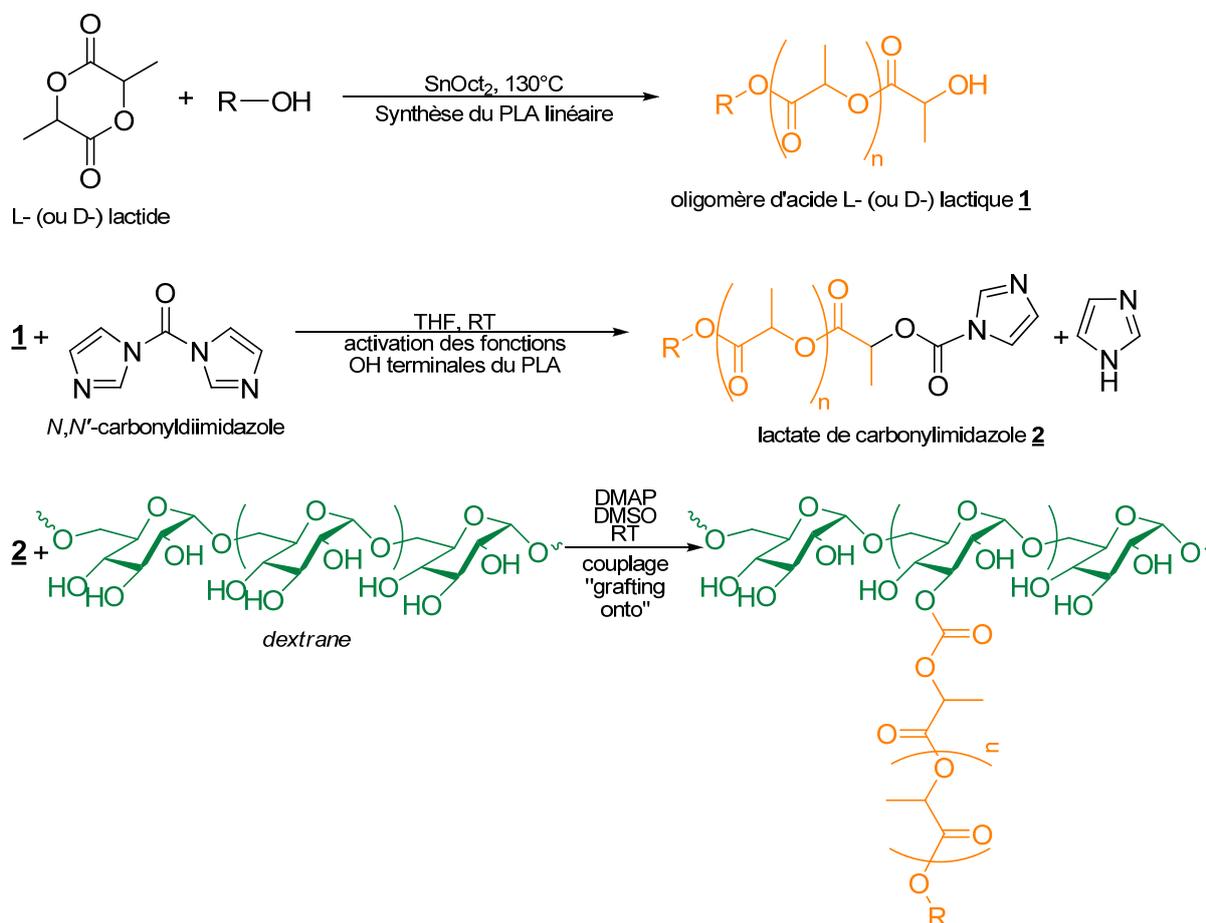


Schéma I-11 : Dextrane-g-PLA par couplage alcool-imidazole.

La méthode « grafting onto » peut aussi être mise en œuvre pour coupler des chaînes glucidiques sur des squelettes synthétiques. Ainsi, Marchant et al. ont oxydé le sucre réducteur du dextrane en lactone par action de I_2/KOH ¹⁴⁰ et ont couplé le glucide modifié avec un squelette synthétique de type poly(vinyl amine).^{141, 142}

L'équipe de Maruyama a utilisé la même méthode pour la synthèse de copolymères de type polylysine-g-polysaccharide, avec comme greffon glucidique le dextrane, l'amylose ou le maltose.¹⁴³⁻¹⁴⁵

3.3. Synthèse de glycopolymères

Les glycopolymères ont été développés afin d'obtenir des matériaux capables de mimer le manteau cellulaire. Les glycopolymères ainsi obtenus peuvent avoir des propriétés de reconnaissance biologique et interagir avec les cellules. Suivant la définition déjà évoquée, ceux-ci sont issus de la polymérisation –souvent de type « vivante/contrôlée »- de mono- ou oligosaccharides dotés d'un groupement polymérisable (on parle de glycomonomères).

Il existe un grand nombre de glycomonomères qui se différencient entre eux par la nature du glucide, par le type de fonction polymérisable et par le lien chimique entre ces deux entités. Les méthodes de polymérisation « contrôlée/vivante », par exemple NMP, ATRP, RAFT ou ROP/ROMP ont facilité ce développement. Le Schéma I-12 présente cette diversité de structures ainsi que les voies générales de synthèse permettant d'obtenir des glycopolymères.

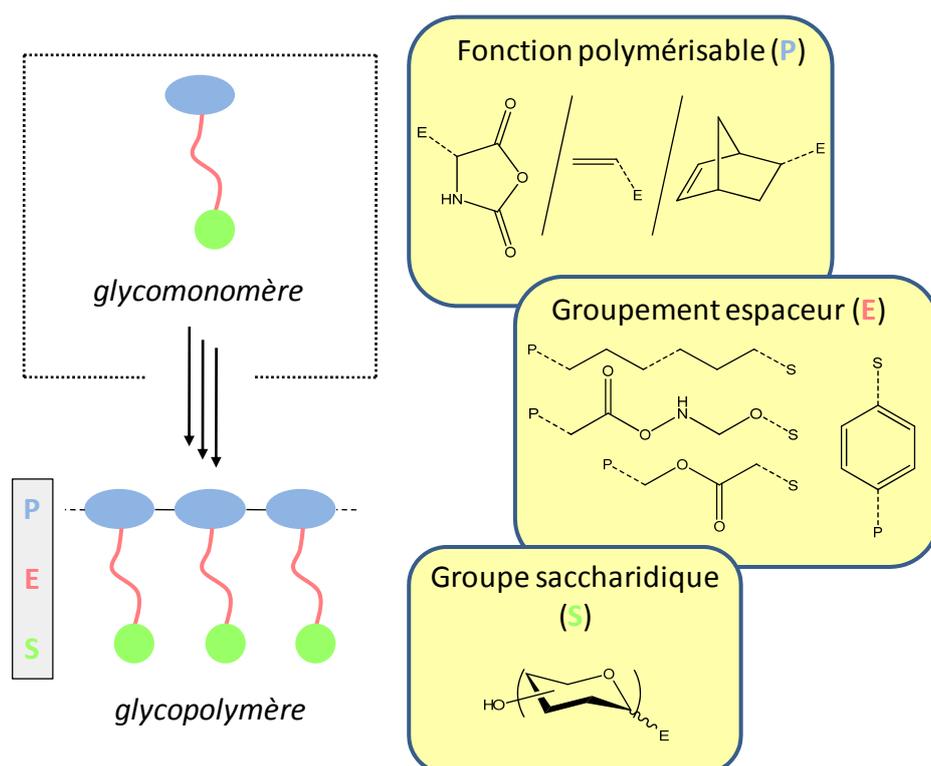


Schéma I-12 : Variation structurale des glycopolymères.

Haddleton,⁹⁶ Varma,¹⁴⁶ Okada¹⁴⁷ et Narumi¹⁴⁸ ont publié des revues sur ce sujet, incluant notamment les méthodes de polymérisation (ATRP, NMP, RAFT, ROP, ROMP) et

les architectures macromoléculaires accessibles (copolymères à blocs, polymères en étoiles, etc.).

Parmi les exemples les plus récents, on peut citer les travaux de Narain et al. qui ont étudié la synthèse et les propriétés du poly(méthacrylamide de gluconamidoalkyle).¹⁴⁹ Le glycomonomère est d'abord élaboré en couplant la D-gluconolactone avec, soit l'hydrochlorure de 3-aminopropyl méthacrylamide, soit l'hydrochlorure de 2-aminoéthyl méthacrylamide. Il est ensuite polymérisé dans un mélange H₂O/DMF par la méthode RAFT (Schéma I-13). Celle-ci autorise la croissance d'un second bloc cationique, à base d'hydrochlorure de 3-aminopropyl méthacrylamide, d'hydrochlorure de 2-aminoéthyl méthacrylamide ou de phosphorylcholine de 2-méthacryloxyéthyle. Les copolymères à blocs correspondants ont permis de complexer de l'ADN plasmidique. De même, des tests ont permis de déterminer que le bloc glycopolymère diminue la toxicité des copolymères à blocs : 80% des cellules sont vivantes avec des concentrations en glycopolymère de l'ordre de 2 à 6 μM.

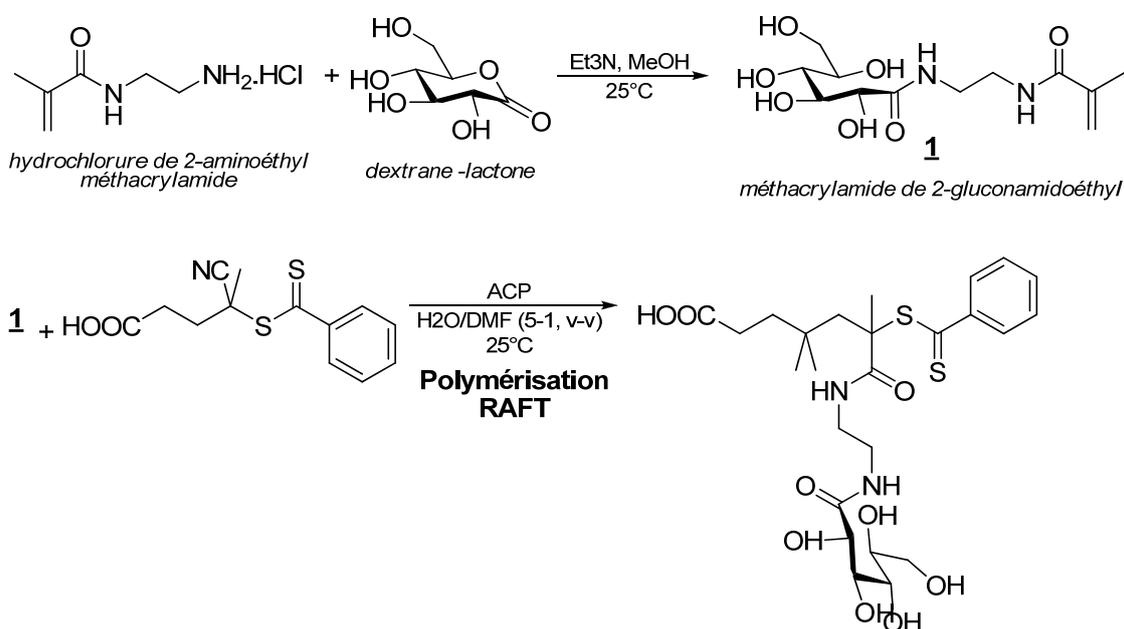


Schéma I-13 : Synthèse du glycopolymère poly(méthacrylamide de 2-gluconamidoéthyl) par polymérisation RAFT du glycomonomère correspondant.

3.4. Synthèse de copolymères à blocs « hybrides » contenant une partie glucidique

La synthèse de copolymères « hybrides » naturel/synthétique dans une architecture à blocs offre l'avantage d'un auto-assemblage en masse ou en solution aqueuse sous la forme d'objets nanostructurés et de morphologies bien définies.¹⁵⁰⁻¹⁵³

Les tentatives de synthèse de ces copolymères à blocs « hybrides » sont relativement récentes et assez peu relatées dans la littérature. Quelques exemples discutés ci-après ont notamment été publiés dans le courant de ces 3 années de thèse. Ce sont ces structures qui ont été ciblées dans le cadre de ce travail.

Essentiellement deux méthodologies de synthèse se distinguent. La première consiste à obtenir le bloc synthétique et glucidique séparément, chaque bloc portant une fonction antagoniste, puis à les coupler par réaction de ces extrémités antagonistes. La deuxième approche repose sur la modification chimique d'un homopolymère (le bloc glucidique ou le bloc synthétique), puis sur la croissance du second bloc par polymérisation radicalaire contrôlée dans le cas du bloc synthétique ou par croissance enzymatique dans le cas du bloc glucidique.

3.4.1. Synthèse par « couplage »

3.4.1.1. Couplage *via* une fonction lactone terminale

Cette méthodologie consiste à coupler un glucide, dont le sucre réducteur est préalablement oxydé en lactone, à une amine, *via* une réaction d'amidification. C'est ainsi que Winnik et al. ont obtenu des copolymères à blocs de type dextrane-*b*-PEO (Schéma I-14).¹⁵⁴ Une carboxyméthylation partielle des fonctions hydroxyle du dextrane permet de moduler la distribution et la taille des systèmes auto-assemblés sous forme de micelles, en fonction de l'acidité de la solution aqueuse.

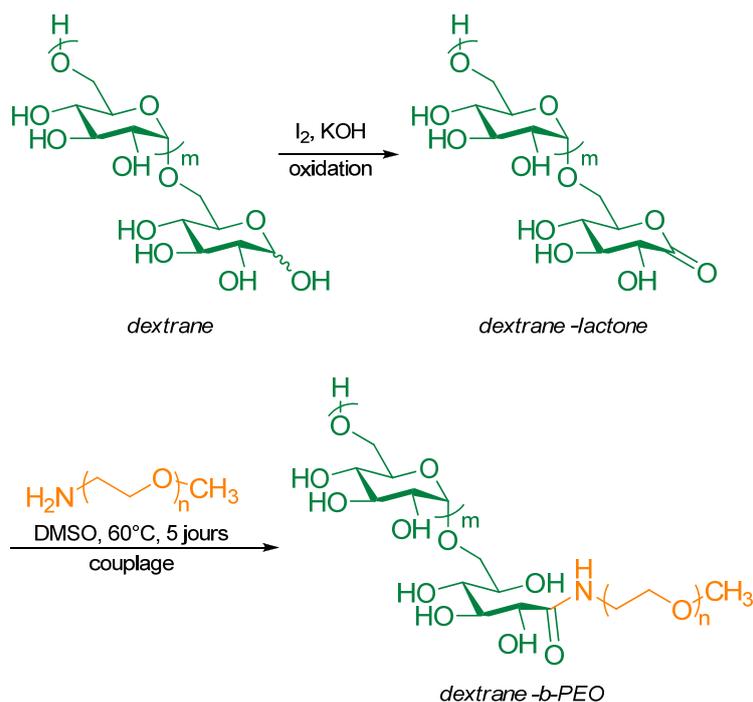


Schéma I-14 : Obtention du copolymère dextrane-*b*-PEO par couplage lactone/amine.

3.4.1.2. Couplage par amination réductrice

L'amination réductrice est une méthode de couplage très connue et utilisée en chimie organique et notamment en chimie des glucides. Le principe consiste à faire réagir l'extrémité réductrice du sucre avec une fonction amine pour conduire à la formation d'une imine, réduite par la suite en amine par l'action de cyanoborohydrure de sodium $NaBH_3CN$ (Schéma I-15).

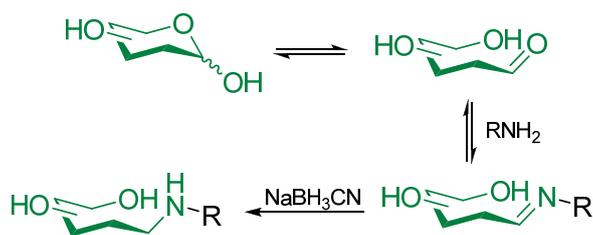


Schéma I-15 : Amination réductrice sur un dérivé glucidique.

En se servant de cette réactivité de l'unité terminale des glucides, Cohen-Stuart et al. ont élaboré des copolymères contenant un bloc polystyrène PS ($M_w = 12\,300$ g/mol) et différentes longueurs de bloc glucidique (glucose, maltodextrine et dextrane) (Schéma I-16).¹⁵⁵ Le solvant de réaction doit être adapté en fonction de la solubilité des réactifs (DMF

pour les monosaccharides et mélange DMF/H₂O pour les oligosaccharides). De bons rendements ont été obtenus (75–95 %), excepté pour le dextrane ayant une masse molaire moyenne en nombre supérieure à 6 000 g/mol. La spectroscopie IR ainsi qu'une étude de la tension interfaciale entre l'air et l'eau a permis de confirmer le couplage et de vérifier le caractère amphiphile de ces copolymères à blocs. L'hystérésis observée pour des cycles compression/décompression à l'interface air/eau est liée à la formation de liaisons hydrogènes entre les chaînes de polysaccharide. Cet effet peut être diminué en augmentant le temps de décompression ou en diminuant la pression exercée. Un copolymère dextrane-*b*-PS a ensuite été greffé à une surface de PS par la technique de déposition Langmuir-Blodgett.¹⁵⁶

Les mesures d'ellipsométrie ont confirmé ce transfert de l'interface air/eau à la surface de PS. Des mesures d'angle de contact en présence d'eau ont validé la présence de la couche dextrane à la surface de PS. Des études par réflectométrie optique ont démontré une diminution radicale de l'adsorption des protéines BSA (albumine sérique bovine) et trypsine (enzyme digestive du suc pancréatique) au-delà de 0,20 nm⁻², en raison des interactions de volume exclu entre la protéine et les greffons de dextrane.

Cette étude n'a cependant pas montré que les greffons de dextrane apportent une amélioration notable par comparaison à l'utilisation de greffons de type PEO.

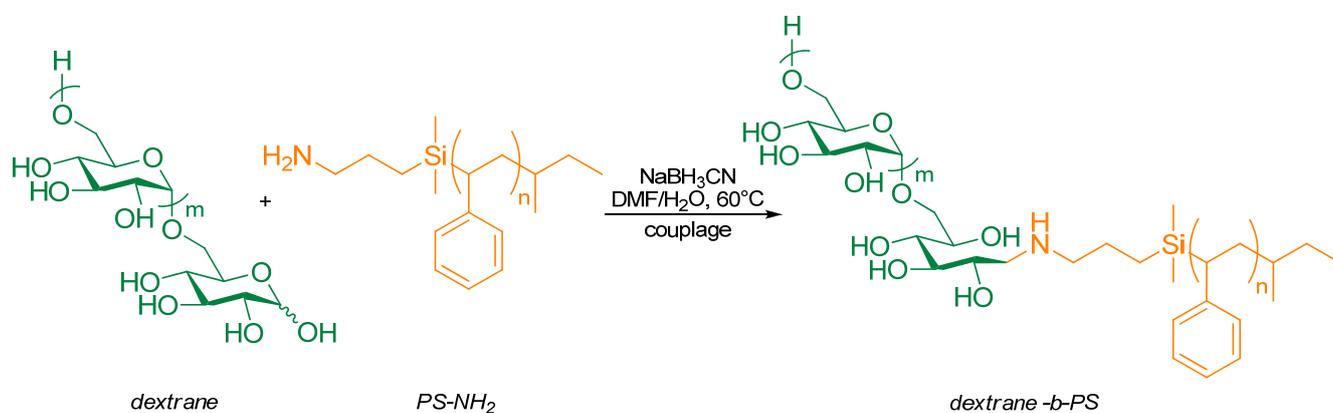


Schéma I-16 : Couplage dextrane/PS par amination réductrice.

Ohya et al ont couplé par amination réductrice un disaccharide, le lactose, fonctionnalisé en position anomère par un groupement amine à un poly(acide lactique) (PLA).¹⁵⁷ Le PLA a été préalablement synthétisé par ROP à partir du lactide et du 2-aminoéthanol protégé par un *tert*-butoxycarbonyle comme amorceur. Les auteurs ont

néanmoins noté un faible degré de fonctionnalisation (34 %). La réaction d'amidification sur la lactonolactone conduit en revanche au conjugué amphiphile avec un rendement quantitatif.

Winnik et al. ont décrit la synthèse en trois étapes de copolymères à blocs à base de poly(2-éthyl-2-oxazoline) (PEtOz) et d'acide hyaluronique commercial de masse molaire élevée ($M_w \sim 590\,000$ g/mol). Les auteurs ont partiellement hydrolysé ce polysaccharide à l'aide de l'enzyme hyaluronidase, pour obtenir un oligomère ($M_w = 2\,700$ g/mol).¹⁵⁸ En parallèle, un PEtOz fonctionnalisé en bout de chaîne par une amine primaire a été synthétisé. Il est enfin couplé à un oligomère d'acide hyaluronique par amination réductrice dans une solution tampon pH 8,5 de borate de sodium à 40°C pendant 8 jours (Schéma I-17). La caractérisation par spectrométrie de RMN ^1H et par chromatographie d'exclusion stérique a rendu compte de l'efficacité de la méthode de synthèse de ces copolymères à blocs acide hyaluronique-*b*-PEtOz.

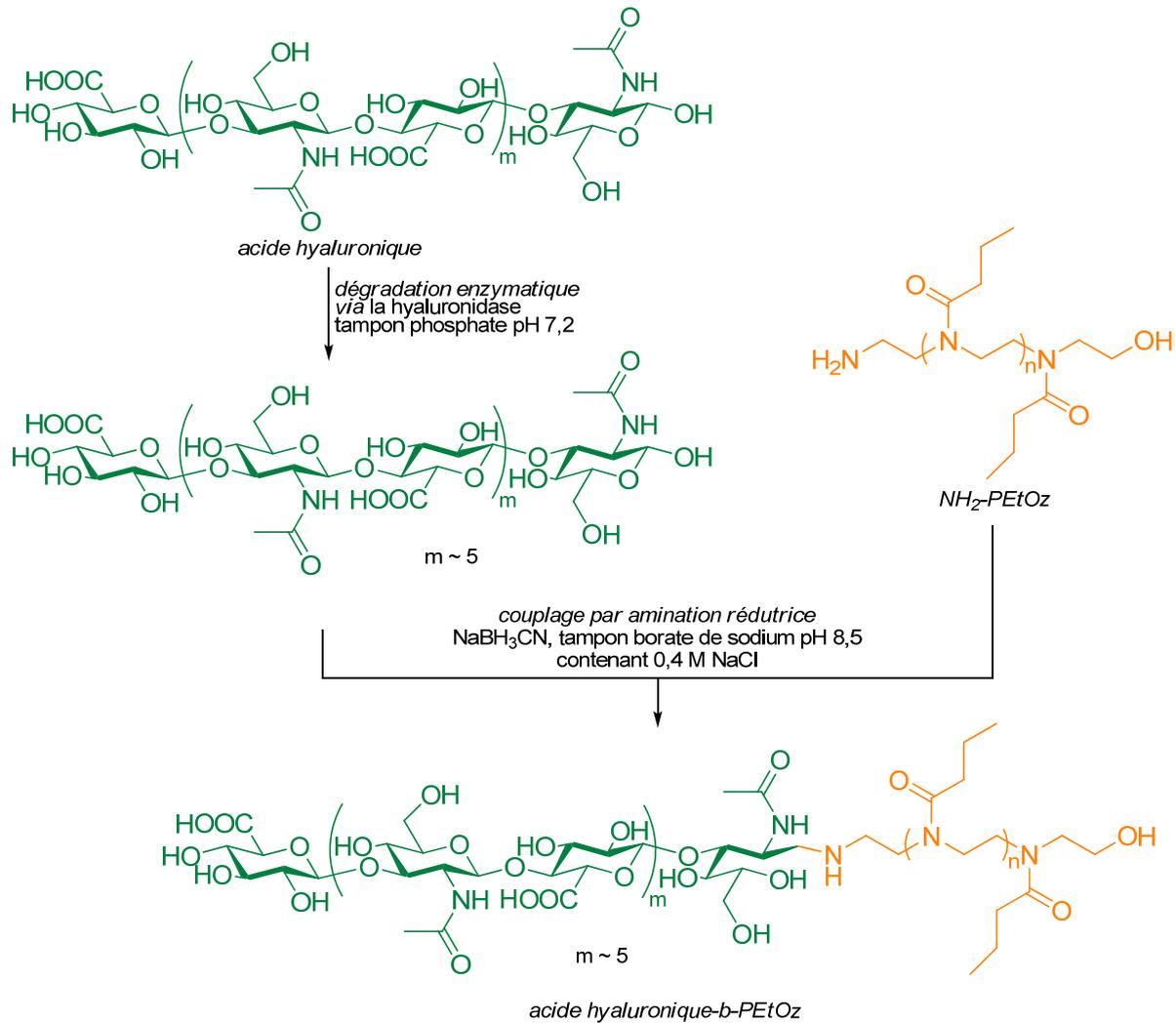


Schéma I-17 : Synthèse de copolymères acide hyaluronique-*b*-PEtOz par amination réductrice.

Récemment, Dupont et al. ont présenté le couplage du dextrane avec un lipide, une dihydroxyamine amphiphile, en transformant l'aldéhyde du sucre réducteur en oxime (Schéma I-18).¹⁵⁹

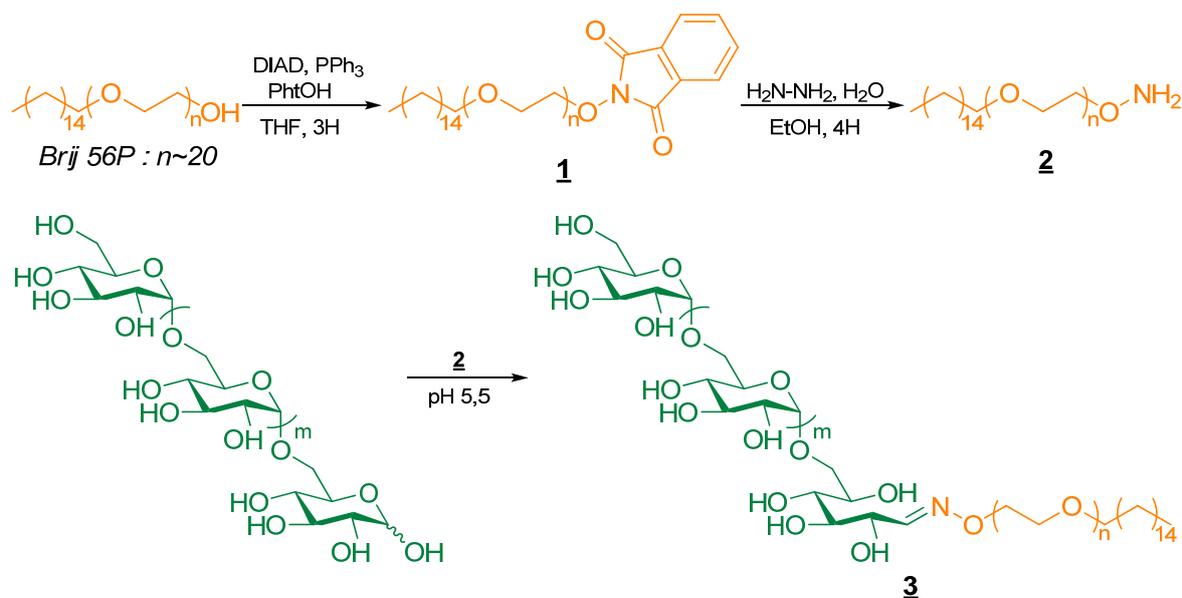


Schéma I-18 : Préparation d'un copolymère « hybride » amphiphile dextrane-*b*-Brij.

La spectroscopie de RMN ^1H a permis de confirmer le couplage et des dialyses successives ont démontré la stabilité de la liaison entre les deux blocs. Ce copolymère à blocs a ensuite servi à décorer des nanoparticules lipidiques constituées d'un cœur de triglycéride et d'une écorce amphiphile.

3.4.1.3. Couplage par addition de Michael

Par couplage d'homopolymères, Zhang et al. ont élaboré des copolymères dextrane-*b*-poly(ϵ -caprolactone).¹⁶⁰ La polymérisation par ouverture de cycle de l' ϵ -caprolactone à partir de butanol permet d'obtenir le poly(ϵ -caprolactone) (PCL) α -hydroxy, lequel est ensuite modifié avec du chlorure d'acryloyle pour conduire à un acrylate de PCL. En parallèle, la fonction anomère du dextrane est modifiée par amination réductrice avec de l'éthylène diamine permettant d'obtenir un dextrane fonctionnalisé par une amine. Les deux homopolymères ont été par la suite couplés par addition de Michael, comme l'atteste la spectroscopie de RMN ^1H . L'auto-organisation en solution aqueuse de ce copolymère à blocs a été étudiée par spectroscopie de fluorescence après encapsulation du pyrène ; la concentration micellaire critique (CMC) a été mesurée égale à 0,06 mg/ml. L'analyse par microscopie électronique en transmission (MET) a mis en évidence des agrégats sphériques avec des tailles comprises entre 20 et 50 nm, attestant les résultats obtenus par diffusion dynamique de la lumière.

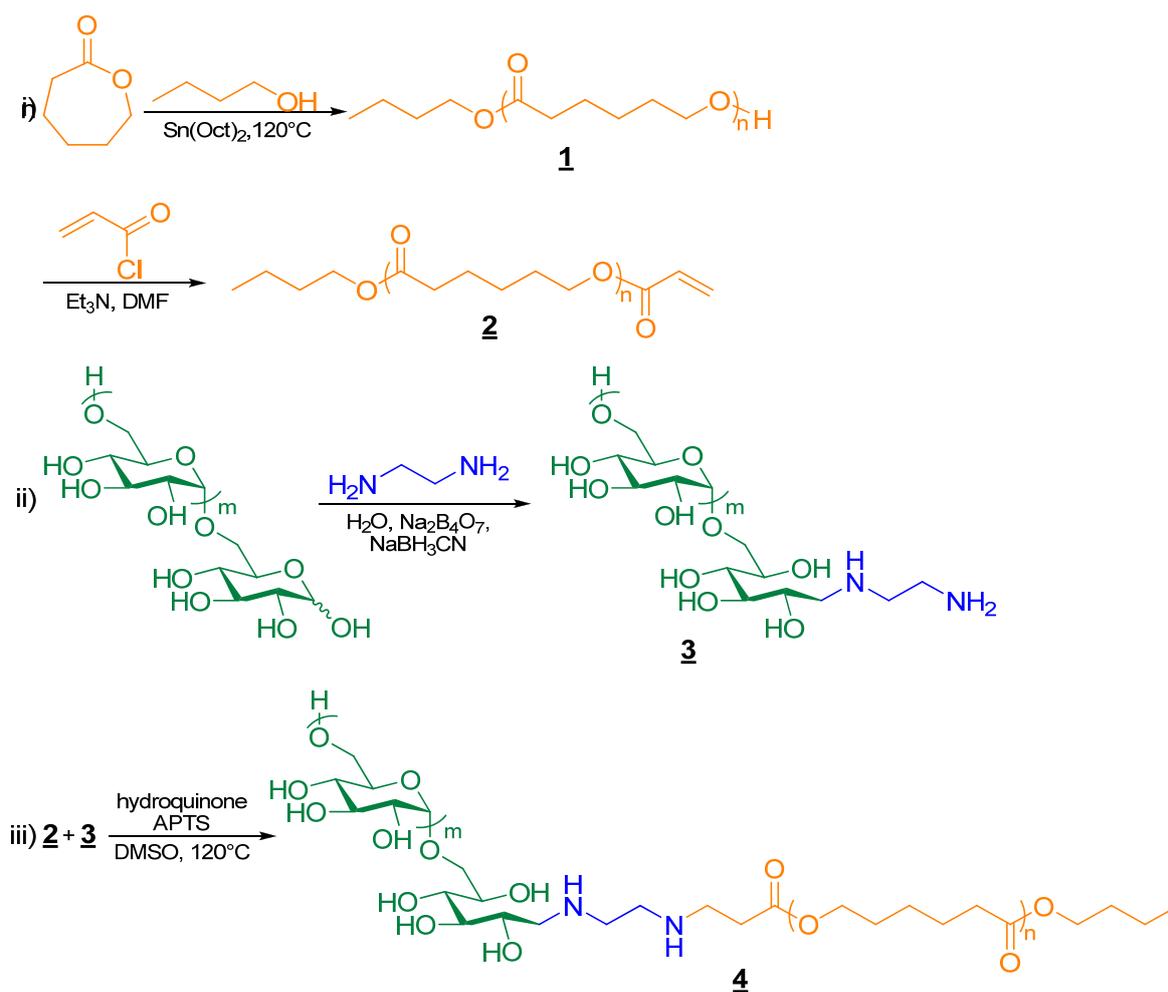


Schéma I-19 : Préparation de dextrane-*b*-PCL par addition de Michael.

3.4.1.4. Couplage par cycloaddition 1,3 dipolaire de Huisgen catalysée par le cuivre I (« chimie click »)*

C'est en appliquant la « chimie click » que Driguez et al. ont couplé des glucides (oligoxyloglucanes et cellobiose) à des polyorganosiloxanes (un trisiloxane ou un polysiloxane téléchélique contenant chacun une fonction pendante époxy).¹⁶¹ La fonction alcyne est introduite sur le glucide par action de la propargylamine. La fonction azoture est, quant à elle, introduite sur le polyorganosiloxane en ouvrant la fonction époxyde avec de l'azoture de sodium. Afin d'éviter l'hydrolyse du polymère, la réaction est conduite dans une

* Pour une description détaillée du couplage par « chimie click », voir chapitre II

solution à pH 5-6. Les spectroscopies d'infrarouge et de RMN ^1H ont permis de confirmer la formation des produits ciblés. Ces derniers ont démontré de bonnes propriétés amphiphiles, avec une CMC proche d'autres tensioactifs siliconés existants (100 à 200 mg/L) et ayant la même balance HLB (15, c'est-à-dire une partie hydrophile représentant 75 % de la masse molaire totale), ainsi que de bonnes propriétés moussantes (grand volume de mousse compacte et brillante formée, stable au cours du temps).

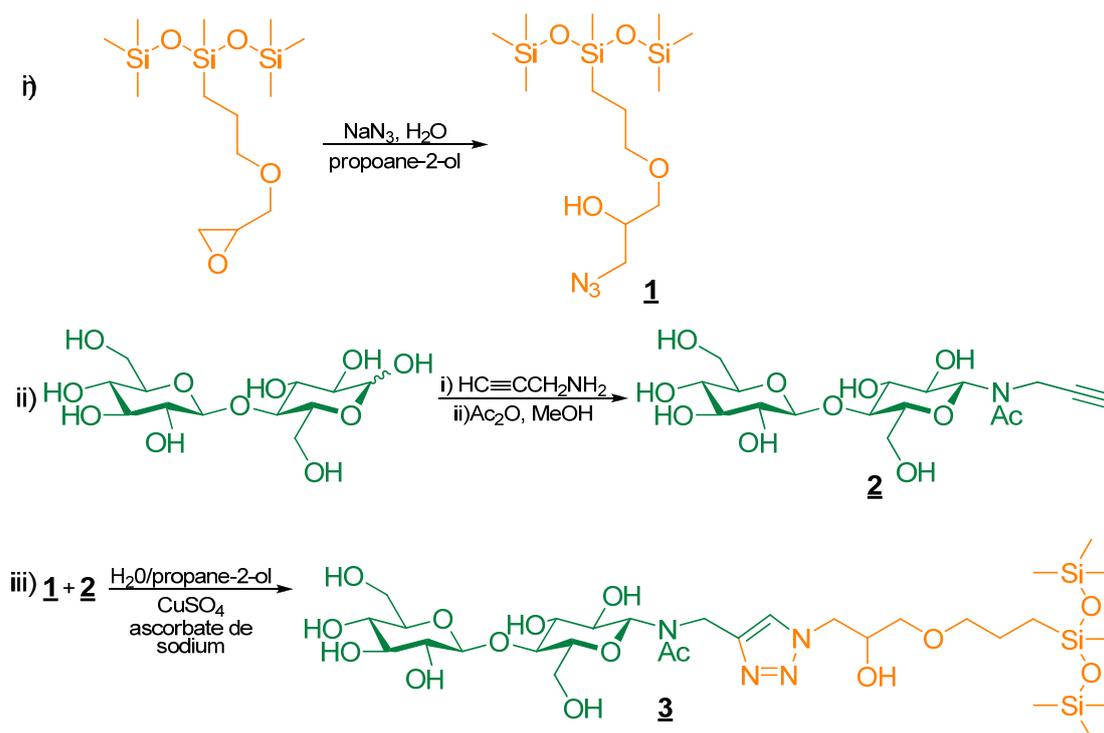


Schéma I-20 : Synthèse de tensioactifs cellobiose/Polyorganosiloxane par couplage « click »

3.4.1.5. Couplage par réaction radicalaire

Abdekhodaie et al. ont récemment étudié la « PEGylation »* du chitosane par couplage radicalaire.¹⁶² La synthèse s'effectue en deux étapes avec, dans un premier temps, l'introduction d'une fonction vinyle par estérification de la fonction hydroxyle du poly(éthylène glycol) avec du chlorure d'acryloyle. Dans un deuxième temps, le PEO est

* La « PEGylation » est une méthode qui consiste à attacher une chaîne de poly(éthylène glycol) (PEG ou poly(oxyde d'éthylène) α,ω dihydroxytélchélique) à une molécule biologique afin d'augmenter son hydrophilie et sa circulation dans le corps humain.

couplé au chitosane par réaction radicalaire avec du persulfate de potassium comme générateur de radicaux (Schéma I-21). Ces radicaux coupent les chaînes de chitosane au niveau du carbone C₄ et le radical résultant ouvre l'insaturation située sur le PEO. Après lavage et dialyse, le couplage a été mis en évidence par spectroscopie d'IR et de RMN ¹H et ¹³C ainsi que par calorimétrie enthalpique différentielle.

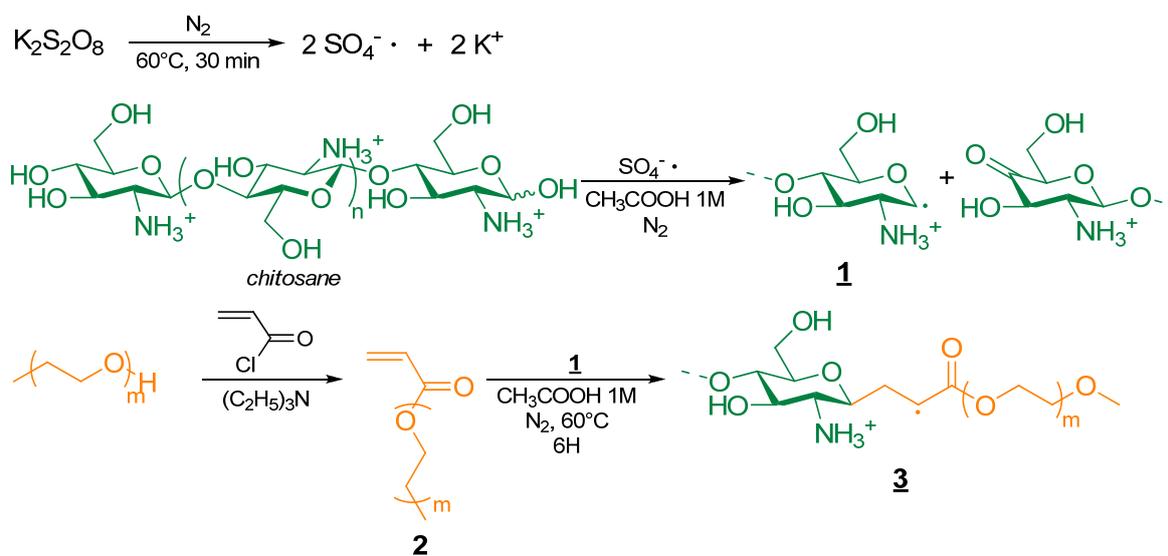


Schéma I-21 : Couplage radicalaire du PEO sur du chitosane.

Le composé démontre des propriétés thermosensibles : des solutions aqueuses de copolymères à blocs concentrés à 3 % (m/v %) avec un rapport PEO/chitosane supérieur à 40 % possèdent une transition sol-gel aux alentours de 36 °C.

3.4.2. Synthèse par la méthode « à partir de »

3.4.2.1. A partir du bloc synthétique

Il s'agit ici de faire croître le bloc glucidique par voie enzymatique. Cette méthode a pour la première fois été décrite dans la littérature en 1984 par Ziegast et Pfannemüller pour obtenir des copolymères à blocs de type amylose-*b*-PEO-*b*-amylose ou amylose-*b*-PE-*b*-amylose.¹⁶³ Cette publication décrit d'ailleurs pour la première fois la synthèse de copolymères à blocs « hybrides » naturel/vinyle.

La synthèse se fait en deux étapes. Dans un premier temps, un maltooligomère fonctionnalisé par une aldonolactone est préparé par oxydation électrolytique avant d'être couplé à un α - ω -diamino-PEO ou à un α - ω -diamino-PE. Dans un deuxième temps, l'utilisation d'une phosphorylase permet la croissance enzymatique du maltooligomère pour former un bloc de type amylose. Les auteurs ont modifié l'amylose en introduisant des fonctions carbanilates ($\text{OC}(=\text{O})\text{NHC}_6\text{H}_5$) et ont étudié les propriétés physico-chimiques des copolymères correspondants qui présentent la particularité d'être de nature rigide/flexible/rigide. En comparaison avec un homopolymère d'amylose tricarbonilate, aucun effet de la chaîne flexible PEO n'a été révélé sur les propriétés statiques et dynamiques des chaînes de copolymères. Cependant, la chaîne flexible permet de rompre la structure hélicoïdale de l'amylose tricarbonilate et introduit par conséquent une relaxation diélectrique.

L'utilisation de cette méthodologie (association d'une lactone et d'une amine, puis croissance enzymatique) a également été étudiée en 1997 par Loos et Stadler pour obtenir la synthèse de copolymères amylose-*b*-PS.¹⁶⁴ Ces copolymères ont été obtenus selon un procédé en deux étapes : du maltoheptaose provenant de l'ouverture de la β -cyclodextrine suivi de son oxydation par Br_2 est d'abord couplé avec du polystyrène fonctionnalisé en bout de chaîne par une amine. L'enzyme phosphorylase permet ensuite d'allonger la chaîne du maltoheptaose par chimie enzymatique, produisant de l'amylose (Schéma I-22). Le polymère final est caractérisé par chromatographie d'exclusion stérique CES dans le THF et montre une faible dispersité de taille de chaînes.

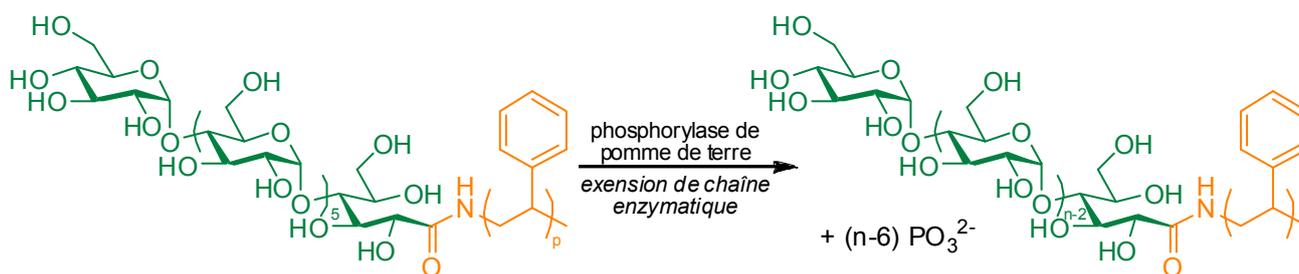


Schéma I-22 : Croissance enzymatique du maltoheptaose.

Loos et al. ont par la suite mis au point deux autres méthodes faisant appel à l'amination réductrice pour obtenir les mêmes copolymères.¹⁶⁵ Les auteurs ont d'une part couplé un maltoheptaose avec un amino-PS synthétisé par voie anionique avant de faire croître la chaîne glucidique. D'autre part, ils ont fonctionnalisé le maltoheptaose avec de l'allylamine, suivi

d'une protection par acétylation des fonctions hydroxyle de l'oligosaccharide. Le maltoheptaose ainsi fonctionnalisé est ensuite couplé à un PS-Si(Me)₂H par hydrosilylation, avant croissance enzymatique de l'oligosaccharide.

Pour une fraction volumique en PS supérieure à 50 %, ces copolymères à blocs sont solubles dans le THF, tandis qu'une fraction inférieure à 15 % induit une solubilité dans l'eau. Ces méthodes de synthèse ont permis de faire varier les compositions du copolymère, tout en gardant une taille du bloc PS élevée ($\overline{DP}_n \sim 740$). Les propriétés d'auto-assemblage dans l'eau (solvant sélectif de l'amylose) et dans le THF (solvant sélectif du PS) ont été étudiées. Par spectroscopie à corrélation de fluorescence (ou « Fluorescence Spectroscopy Correlation », FSC) du copolymère amylose₆₀-*b*-PS₇₄₀, une CMC d'environ 10 mg/L a été mise en évidence, tandis que des agrégats ont été détectés par diffusion de la lumière en-deçà de cette limite. Les auteurs expliquent ce phénomène par une grande inhomogénéité de tailles des objets assemblés, comme le montrent les clichés de MET. En revanche, la mise en solution aqueuse du copolymère au-dessus de 200°C et sous pression (15 bars) permet d'atteindre l'équilibre thermodynamique et fait apparaître la présence de micelles inverses (ou micelles « crew-cut », Figure I-7) avec des tailles en accord avec celles mesurées lors de l'étude en solution.¹⁶⁶

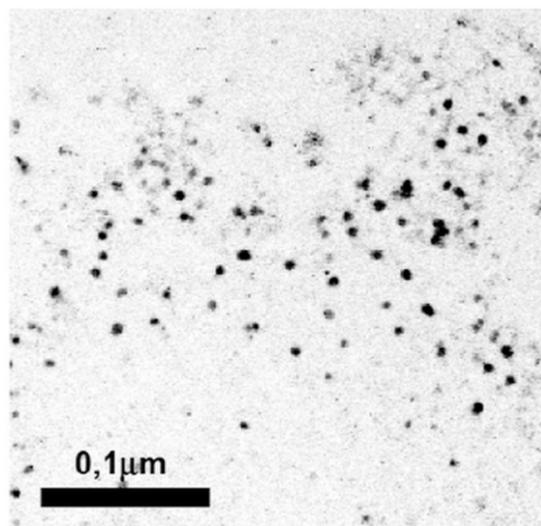


Figure I-7 : Image MET des micelles « crew-cut » de PS-*b*-amylose.

Akiyoshi et al. ont également utilisé la polymérisation par voie enzymatique pour obtenir des copolymères de type amylose-*b*-PEO.¹⁶⁷ Pour cela, un maltopentaose est tout d'abord couplé par amidification à une chaîne de PEO activée par un carbonate de

nitrophényle, puis l'amylose est obtenue par croissance enzymatique. A partir du macroamorceur de PEO de longueur fixe ($\overline{DP}_n = 110$), les auteurs ont synthétisé trois longueurs de blocs amylose et ont étudié l'auto-assemblage des copolymères à blocs « hybrides » correspondant dans le chloroforme, solvant sélectif du PEO, par diffusion statique de la lumière.¹⁶⁸ Ils ont démontré que les copolymères obtenus forment des particules de type « star-like micelle » avec des rayons de giration inférieurs à 30 nm.

3.4.2.2. A partir du bloc glucidique

Cette stratégie, qui consiste essentiellement à modifier l'unité glucidique terminale pour introduire une fonction amorçante de polymérisation, est essentiellement employée pour polymériser des monomères vinyliques par voie radicalaire contrôlée. C'est cette approche que nous avons au demeurant suivie dans ce travail de thèse.

En 2000, Haddleton et al. ont, de cette manière, synthétisé des copolymères à blocs à partir de maltoheptaose acétylé.¹⁶⁹ Une fonction 2-bromo-isobutyrate est introduite sur la position réductrice permettant de polymériser différents monomères vinyliques (MMA, styrène, PEGMA, PDMAEMA, MAIpGlc) par ATRP. La déprotection du maltoheptaose permet d'obtenir les copolymères à blocs « hybrides » amphiphiles.

L'équipe de Kakuchi a synthétisé un amorceur de polymérisation radicalaire contrôlée de type NMP, en l'occurrence contenant une/des unité(s) glucidique(s) fonctionnalisée(s) par un groupement alcoxyamine dérivé du 2,2,6,6-tétraméthyl-1-oxypipéridinyle (TEMPO).¹⁷⁰ Les différents oligosaccharides employés ont un \overline{DP}_n maximum de 6 et une étape de protection (acétylation des fonctions hydroxyle) est nécessaire. Ces amorceurs alcoxyaminés ont par la suite permis de polymériser le styrène par NMP et d'obtenir différentes tailles de bloc synthétique. La désacétylation permet d'obtenir les composés « hybrides » amphiphiles désirés (Schéma I-23).

Pour un copolymère avec un \overline{DP}_n en PS fixé, la masse molaire des agrégats augmente linéairement avec le nombre d'unités glucidiques.

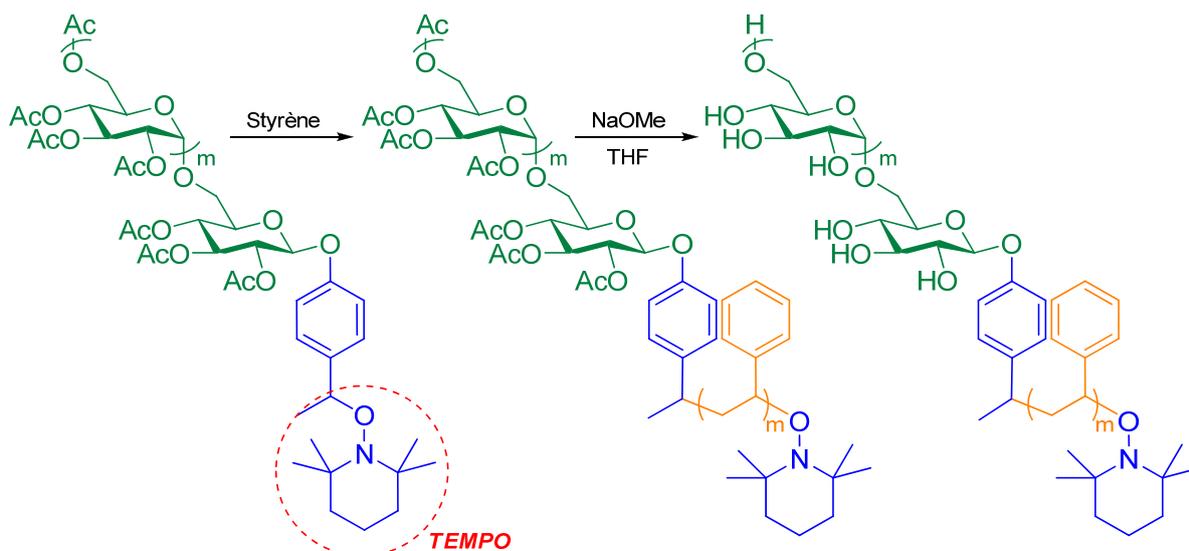


Schéma I-23 : Synthèse de copolymères « hybrides » malto-oligosaccharides-*b*-PS par polymérisation NMP du Styrène.

Zhou et al.^{31, 32} ont introduit une fonction amorçante de polymérisation à un dérivé aminoalditol d'oligoxyglucane. Ce précurseur est par la suite introduit en bout de chaîne d'un polysaccharide de xyloglucane *via* l'utilisation de l'enzyme xyloglucan-endotransglycosylase qui permet de coupler les deux glucides. Le produit obtenu est alors mélangé à de la cellulose afin qu'il s'adsorbe sur cette dernière du fait de leur affinité. Enfin, la polymérisation par transfert d'atome du MMA (Schéma I-24) ou la polymérisation par ouverture de cycle de l' ϵ -CL ou du lactide a été effectuée. Cette technique permet d'obtenir un matériau cellulosique protégé par un film de nature spécifique (par exemple hydrophobe) et ouvre une voie vers la synthèse de nouveaux matériaux biocomposites.

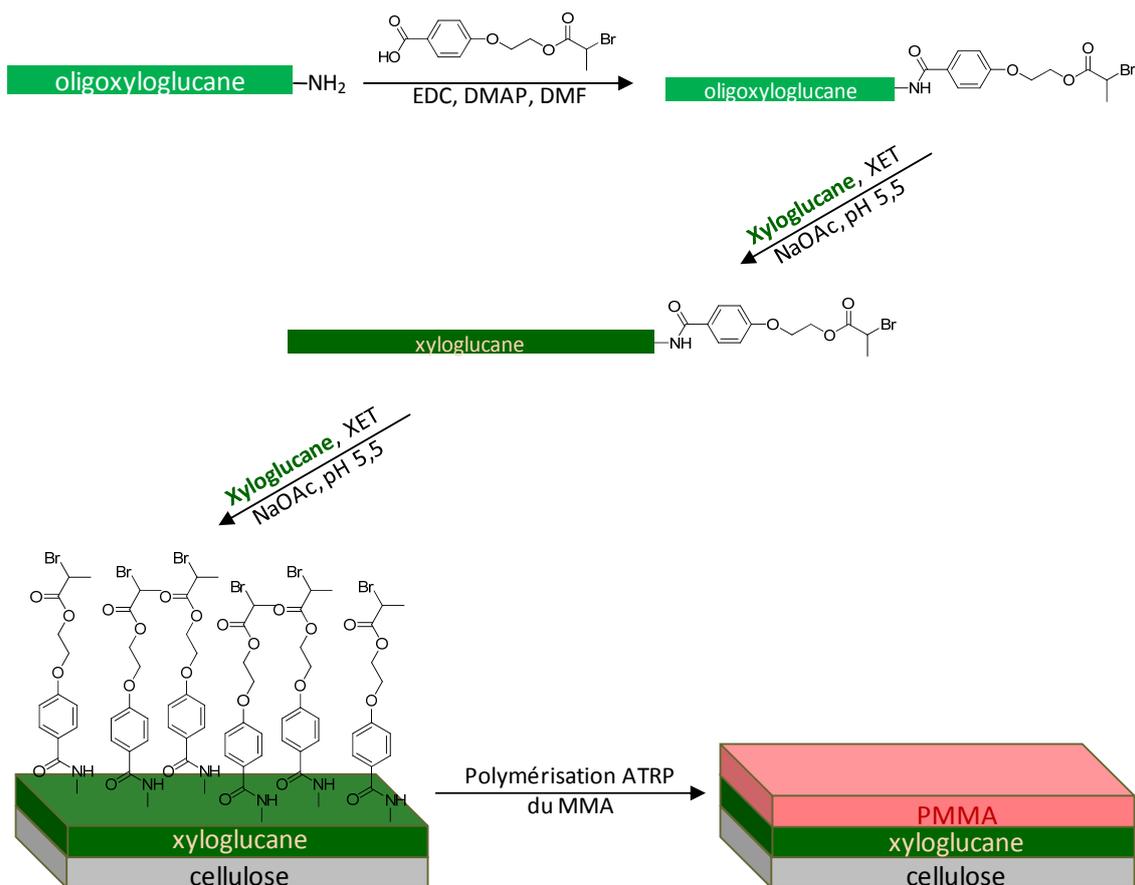


Schéma I-24 : Modification de surface cellulosique par la synthèse de copolymères à blocs xyloglucane-*b*-PMMA par ATRP.

Au LCPO de Bordeaux, les travaux de thèse de Houga (2004-2007) ont montré la possibilité d'obtenir des copolymères à blocs dextrane-*b*-PS par ATRP.¹⁷¹ La stratégie adoptée repose sur la modification de l'extrémité réductrice du dextrane par un agent de couplage, *via* une réaction d'amination réductrice, pour introduire une fonction terminale du type bromoisobutyrate. Une étape de protection des fonctions hydroxyle par des groupements triméthylsilyle s'est avérée nécessaire avant la polymérisation du styrène par ATRP. Des copolymères à blocs avec une longueur de bloc glucidique fixe et une longueur de bloc PS variable (\overline{DP}_n de 5 à 775) ont été synthétisés. Après déprotection en milieu acide des groupements triméthylsilyle, l'auto-assemblage en solution (eau, DMSO, THF) de ces copolymères amphiphiles a été analysé et a clairement montré une dépendance vis-à-vis de la structure du copolymère.¹⁷² L'étude de l'auto-assemblage de ces composés a en réalité été rendue difficile par le fait qu'aucun solvant n'est commun aux deux blocs (hormis pour des compositions très dissymétriques). Des mélanges THF/DMSO ont donc été utilisés. Par

exemple, des morphologies « cœur-écorce » ont été visualisées dans l'eau pour les copolymères contenant 93 % de dextrane en masse. Pour les autres structures contenant un pourcentage de dextrane supérieur, des vésicules ont été observées, et ce, en désaccord avec les prédictions de Discher et Eisenberg¹⁷³ pour des copolymères diblocs de type flexible-flexible (coil-coil). Ainsi, des vésicules et non pas des « crew-cut », ont pu être observées pour des copolymères dextrane-*b*-PS₂₇₀ dans le THF, le DMSO et l'eau. Les auteurs expliquent cette particularité par la conformation du dextrane constitué de chaînes de faible masse molaire qui adoptent une conformation rigide de type bâton.

Charleux et al. ont très récemment eu recours à la polymérisation radicalaire contrôlée RAFT/MADIX pour introduire un bloc poly(acétate de vinyle) (PAcV) et ainsi obtenir des copolymères « hybrides » dextrane-*b*-PAcV.¹⁷⁴ A cet effet, ils ont introduit une fonction *O*-éthyl dithiocarbonate (xanthate) sur la position réductrice du dextrane par le biais de la « chimie click » entre un dextrane porteur d'une fonction alcyne et un composé *O*-éthyl dithiocarbonate porteur d'une fonction azoture (Schéma I-25). Les auteurs dénotent cependant une faible fonctionnalisation du dextrane (31 %).

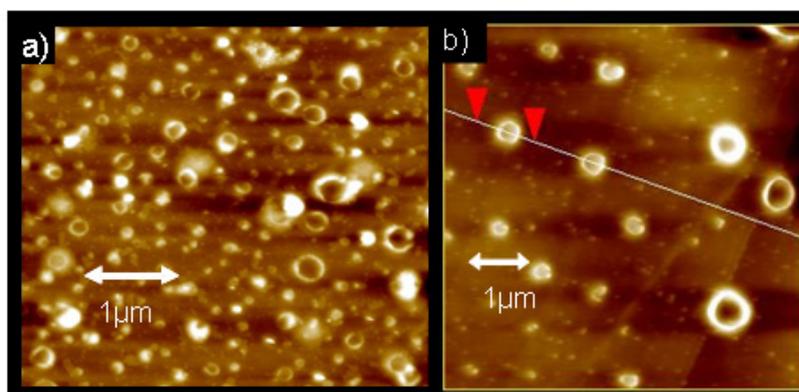


Figure I-8 : Images AFM de copolymères dextrane-*b*-PS₂₇₀ (a) et dextrane-*b*-PS₇₇₅ (b) dans une solution DMSO/THF riche en THF.^{171, 172}

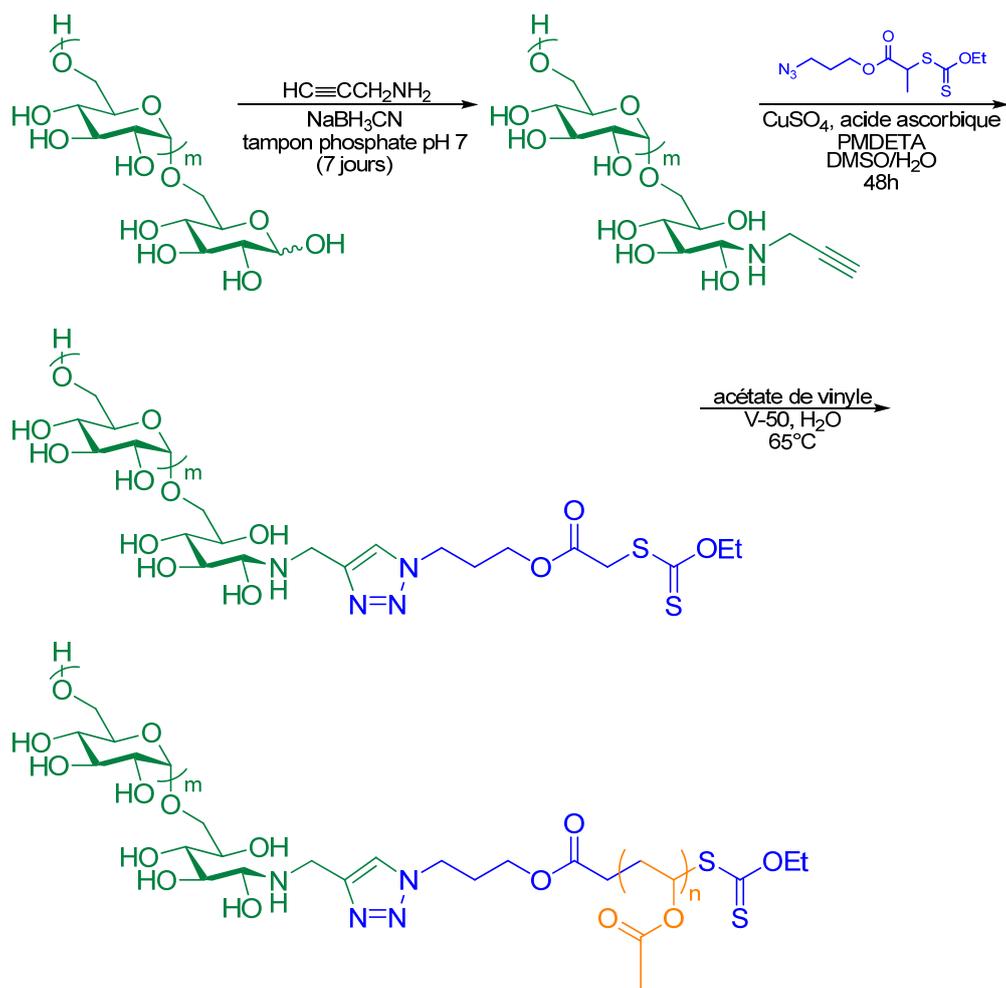


Schéma I-25 : Insertion d'une fonction *O*-éthyl dithiocarbonate en bout de chaîne du dextrane et polymérisation MADIX en émulsion de l'acétate de vinyle.

Un tel dextrane fonctionnalisé, même partiellement, a pu alors servir à la polymérisation MADIX en émulsion *ab initio* de l'acétate de vinyle sans ajout de tensioactif puisque les copolymères à blocs formés *in situ* suffisent à stabiliser les latex de PAcV.

La polymérisation MADIX est mise en évidence par les effets de retardation visualisés (connus lors de la polymérisation en émulsion) ainsi que par la non-stabilité des émulsions effectuées avec du dextrane natif ou du dextrane modifié par une fonction propargyle. Des particules de latex contenant jusqu'à 27 % de solide ont pu être obtenues à partir d'un faible taux de dextrane modifié (2-6 %). Ces particules possèdent des diamètres entre 86 et 146 nm et sont stables pendant plusieurs mois.

L'équipe de Zang a étudié les propriétés d'auto-assemblage de copolymères à blocs maltoheptaose-*b*-PCL.¹⁷⁵ La synthèse repose sur la déprotection sélective de maltoheptaose acétylé pour amorcer la polymérisation par ouverture de cycle de l' ϵ -CL. L'hydrolyse totale des fonctions acétate du maltoheptaose permet d'obtenir le copolymère amphiphile (Schéma I-26). L'étude par CES indique que la totalité du maltoheptaose amorce la polymérisation. Le caractère amphiphile du copolymère a été étudié par fluorométrie en présence d'agent fluorescent tandis que l'analyse par MET des copolymères en solution aqueuse a révélé l'existence de micelles sphériques.

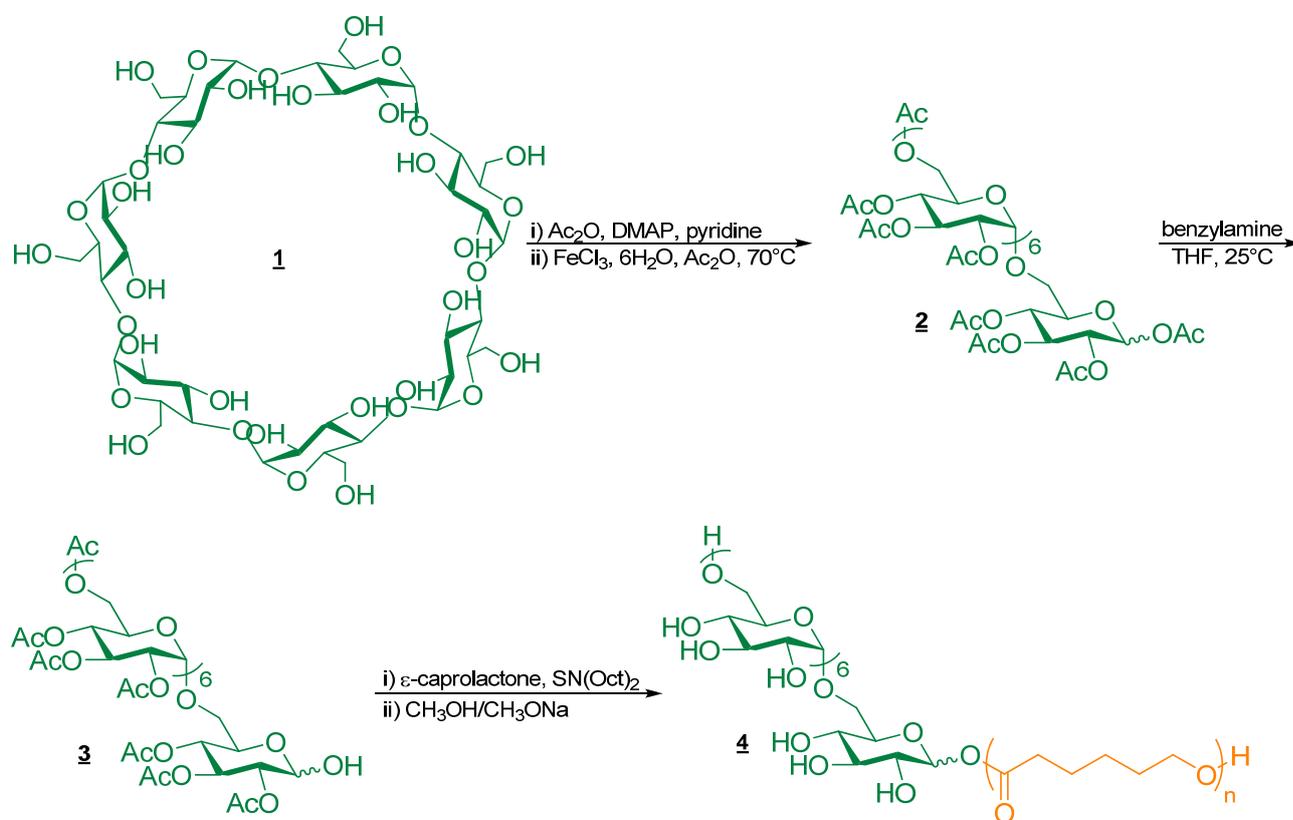


Schéma I-26 : Synthèse de maltoheptaose-*b*-PCL.

4. Conclusion

Lors de cette étude bibliographique, nous avons présenté le xyloglucane de graines de tamarin. Ce polysaccharide constitue une ressource naturelle abondante et est d'ores et déjà

employé dans de nombreux domaines d'applications (alimentaire, cosmétique, biologique), tirant les bénéfices de ses propriétés singulières.

Nous avons montré que la chimie enzymatique, avec notamment les glycosyltransférases, les glycoside-hydrolases et les glycosynthases, constitue un outil permettant d'obtenir de manière spécifique et contrôlée des produits difficilement accessibles par chimie organique. Parmi les substrats utilisés en chimie enzymatique, le xyloglucane de graines de tamarin constitue un bon candidat car il peut être hydrolysé et modifié simplement par des approches chimio-enzymatiques.

L'association de glucides avec des polymères synthétiques dans différentes architectures est de plus en plus étudiée. Dans ce contexte, on peut noter que l'élaboration de copolymères à blocs « hybrides » naturel/synthétique est en train d'émerger, comparativement à la construction de copolymères greffés et à celle de glycopolymères issus de glycomonomères. L'obtention de copolymères à blocs offre l'avantage de moduler l'auto-assemblage en solution des macromolécules formées. L'étude en solution peut cependant être rendue difficile par le fait qu'il existe peu de solvants communs aux blocs glucidiques et vinyliques. Par ailleurs, la plupart des exemples de copolymères « hybrides » font intervenir une partie glucidique constituée de dextrane ou d'amylose.

C'est à partir de ces constats que ce travail de thèse a démarré. Il a consisté à utiliser le xyloglucane de graines de tamarin, après hydrolyse enzymatique pour disposer d'oligomères de structure bien définie, comme modèle de polysaccharide. Sans protection préalable, le xyloglucane a été associé à un polymère vinylique dans une architecture de copolymères à blocs, en utilisant la polymérisation MADIX de différents monomères vinyliques.

Références Bibliographiques

2. Hayashi, T., *Annu. Rev. Plant Phys.* **1989**, *40*, 139-168.
3. McDougall, G. J.; Fry, S. C., *Plant Physiol.* **1990**, *93*, 1042-1048.
4. Fry, S. C., *Trends Glycosci. Glyc.* **1992**, *4*, 279.
5. Glicksman, M., Tamarind seed gum. In *Food Hydrocolloids*, **1986**; Vol. 3, pp 191-202.
6. Glicksman, M., Food Hydrocolloids. In *Food Hydrocolloids*, **1986**; Vol. III.
7. Vincken, J. P.; Beldman, G.; Messen, W. M. A.; Voragen, A. G. J., *Carbohydr. Polym.* **1996**, *29*, 75-85.
8. Yamatoya, K., *Food Hydrocolloids* **1996**, *10*, 369-372.
9. Fry, S. C.; York, W. S.; Albersheim, P.; Darvill, A.; Hayashi, T.; Joseleau, J.-P.; Kato, Y.; Lorences, E. P.; Maclachlan, G. A.; McNeil, M.; Mort, A. J.; Grant Reid, J. S.; Seitz, H. U.; Selvendran, R. R.; Voragen, A. G. J.; White, A. R., *Physiol. Plant.* **1993**, *89*, 1-3.
10. Reid, J. S. G.; Edwards, M. E., Galactomannans and Other Cell Wall Storage Polysaccharides in Seeds. In *Food polysaccharides and their applications*, Stephen, A. M., Ed. New York : M. Dekker, c1995., **1995**; pp 155-187.
11. Gidley, M. J.; Lillford, P. J.; Rowlands, D. W.; Lang, P.; Dentini, M.; Crescenzi, V.; Edwards, M.; Fanutti, C.; Grant Reid, J. S., *Carbohydr. Res.* **1991**, *214*, 299-314.
12. Nishinari, K.; Yamatoya, K.; Shirakawa, M., Xyloglucan. In *Handbook of Hydrocolloids*, **2000**; pp 247-267.
13. Dainippon Pharmaceutical Co. Ltd. In *Technical Bulletin*, **1989**.
14. Lang, P.; Kajiwara, K., *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.* **1993**, *4*, 517-528.
15. Levy, S.; Maclachlan, G.; Staehelin, L. A., *Plant J.* **1997**, *11*, 373-386.
16. Levy, S.; York, W. S.; Stuike-Prill, R.; Meyer, B.; Staehelin, L. A., *Plant J.* **1991**, *1*, 195-215.
17. Shirakawa, M.; Yamatoya, K.; Nishinari, K., *Food Hydrocolloids* **1998**, *12*, 25-28.
18. Rao, P. S.; Srivastava, H. C., Tamarind. In *Industrial Gums*, 2 Ed., **1973**; pp 369-411.
19. Shankaracharya, N. B., *J. Food Sci. Technol.* **1998**, *35*, 193-208.
20. Vincken, J.-P.; Beldman, G.; Voragen, A. G. J., *Carbohydr. Res.* **1997**, *298*, 299-310.
21. Pauly, M.; Andersen, L. N.; Kauppinen, S.; Kofod, L. V.; York, W. S.; Albersheim, P.; Darvill, A., *Glycobiology* **1999**, *9*, 93-100.

22. Grishutin, S. G.; Gusakov, A. V.; Markov, A. V.; Ustinov, B. B.; Semenova, M. V.; Sinitzyn, A. P., *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* **2004**, 1674, 268-281.
23. Kalum, L. WO9849387, **1998**.
24. Christiernin, M.; Henriksson, G.; Lindström, M. E.; Brumer, H.; Teeri, T. T., *Nord. Pulp Pap. Res. J.* **2003**, 18, 182-187.
25. Stiernstedt, J.; Nordgren, N.; Wågberg, L.; Brumer III, H.; Gray, D. G.; Rutland, M. W., *J. Colloid Interface Sci.* **2006**, 303, 117-123.
26. Brumer, H.; Zhou, Q.; Baumann, M. J.; Carlsson, K.; Teeri, T. T., *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 5715-5721.
27. Teeri, T. T.; Brumer III, H. WO 03/033813, **2003**.
28. Gustavsson, M. T.; Persson, P. V.; Iversen, T.; Martinelle, M.; Hult, K.; Teeri, T. T.; Brumer, H., *Biomacromolecules* **2005**, 6, 196-203.
29. Zhou, Q.; Baumann, M. J.; Piispanen, P. S.; Teeri, T. T.; Brumer, H., *Biocatal. Biotransform.* **2006**, 24, 107 - 120.
30. Gunnarsson, L. C.; Zhou, Q.; Montanier, C.; Karlsson, E. N.; Brumer III, H.; Ohlin, M., *Glycobiology* **2006**, 16, 1171-1180.
31. Zhou, Q.; Greffe, L.; Baumann, M. J.; Malmstrom, E.; Teeri, T. T.; Brumer, H., *Macromolecules* **2005**, 38, 3547-3549.
32. Lonnberg, H.; Zhou, Q.; Brumer, H.; Teeri, T. T.; Malmstrom, E.; Hult, A., *Biomacromolecules* **2006**, 7, 2178-2185.
33. Naoki, T. JP2000281522, **2000**.
34. Fleury, E.; Halila, S.; Driguez, H.; Cottaz, S.; Hamaide, T.; Fort, S. FR2900931, **2007**.
35. Dupuis, C. EP0966949, **1999**.
36. Kawasoe, T.; Ochiai, M. EP1138317, **2001**.
37. Fack, G. FR2864774, **2005**.
38. Fack, G. FR2864775, **2005**.
39. Campaign, C.; Sabbagh, A. FR2860715, **2005**.
40. Shibata, S. JP2006069952, **2006**.
41. Aabe, K.; Miyahara, R.; Nanba, T.; Uehara, K. JP10259142, **1998**.
42. Yokoyama, H.; Mori, Y. JP2008208051, **2008**.

43. Yamatoya, K.; Shirakawa, M.; Kuwano, K.; Suzuki, J.; Baba, O., *Macromol. Symp.* **1997**, *120*, 231-236.
44. Mastromarino, P.; Petruzzello, R.; Macchia, S.; Rieti, S.; Nicoletti, R.; Orsi, N., *J. Antimicrob. Chemother.* **1997**, *39*, 339-345.
45. Strickland, F. M.; Darvill, A.; Albersheim, P.; Eberhard, S.; Pauly, M.; Pelley, R. P., *Photochemistry and Photobiology* **1999**, *69*, 141-147.
46. Strickland, F.; Pelley, R.; Albersheim, P.; Darvill, A.; Pauly, M.; Eberhard, S. US6251878, **2001**.
47. Strickland, F. M.; Sun, Y.; Darvill, A.; Eberhard, S.; Pauly, M.; Albersheim, P., *J. Invest. Dermatol.* **2001**, *116*, 62-68.
48. Sreelekha, T. T.; Vijayakumar, T.; Ankanthil, R.; Vijayan, K. K.; Nair, M. K., *Anti-Cancer Drugs* **1993**, *4*, 209-212.
49. Miyazaki, S.; Suisha, F.; Kawasaki, N.; Shirakawa, M.; Yamatoya, K.; Attwood, D., *J. Controlled Release* **1998**, *56*, 75-83.
50. Suisha, F.; Kawasaki, N.; Miyazaki, S.; Shirakawa, M.; Yamatoya, K.; Sasaki, M.; Attwood, D., *Int. J. Pharm.* **1998**, *172*, 27-32.
51. Burgalassi, S.; Chetoni, P.; Panichi, L.; Boldrini, E.; Saettone, M. F., *J. Ocul. Pharmacol. Th.* **2000**, *16*, 497-509.
52. Miyazaki, S.; Suzuki, S.; Kawasaki, N.; Endo, K.; Takahashi, A.; Attwood, D., *Int. J. Pharm.* **2001**, *229*, 29-36.
53. Takahashi, A.; Suzuki, S.; Kawasaki, N.; Kubo, W.; Miyazaki, S.; Loebenberg, R.; Bachynsky, J.; Attwood, D., *Int. J. Pharm.* **2002**, *246*, 179-186.
54. Kawasaki, N.; Ohkura, R.; Miyazaki, S.; Uno, Y.; Sugimoto, S.; Attwood, D., *Int. J. Pharm.* **1999**, *181*, 227-234.
55. Miyazaki, S.; Endo, K.; Kawasaki, N.; Kubo, W.; Watanabe, H.; Attwood, D., *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2003**, *29*, 113 - 119.
56. Miyazaki, S.; Kawasaki, N.; Endo, K.; Attwood, D., *J. Pharm. Pharmacol.* **2001**, *53*, 1185-1191.
57. Miyazaki, S.; Kawasaki, N.; Kubo, W.; Endo, K.; Attwood, D., *Int. J. Pharm.* **2001**, *220*, 161-168.
58. Bodin, A.; Ahrenstedt, L.; Fink, H.; Brumer, H.; Risberg, B.; Gatenholm, P., *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 3697-3704.
59. Henrissat, B., *Biochem. J.* **1991**, *280*, 309-316.
60. Seibel, J.; Jördening, H. J.; Buchholz, K., *Biocatal. Biotransform.* **2006**, *24*, 311-342.

61. Ünligil, U. M.; Rini, J. M., *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2000**, *10*, 510-517.
62. Hanson, S.; Best, M.; Bryan, M. C.; Wong, C.-H., *Trends Biochem. Sci.* **2004**, *29*, 656-663.
63. Koshland, D. E., *Biol. Rev.* **1953**, *28*, 416-436.
64. Withers, S. G.; Mackenzie, L.; Wang, Q. WO9721822, **1997**.
65. Mackenzie, L. F.; Wang, Q.; Warren, R. A. J.; Withers, S. G., *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 5583-5584.
66. Malet, C.; Planas, A., *FEBS Lett.* **1998**, *440*, 208-212.
67. Williams, S. J.; Withers, S. G., *Carbohydr. Res.* **2000**, *327*, 27-46.
68. Ly, H. D.; Withers, S. G., Mutagenesis of glycosidases. In *Annual Review of Biochemistry*, **1999**; Vol. 68, pp 487-522.
69. Fort, S.; Boyer, V.; Greffe, L.; Davies, G. J.; Moroz, O.; Christiansen, L.; Schulein, M.; Cottaz, S.; Driguez, H., *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5429-5437.
70. Boyer, V.; Fort, S.; Frandsen, T. P.; Schulein, M.; Cottaz, S.; Driguez, H., *Chem.-Eur. J.* **2002**, *8*, 1389-1394.
71. Fort, S.; Christiansen, L.; Schulein, M.; Cottaz, S.; Driguez, H., *Isr. J. Chem.* **2000**, *40*, 217-221.
72. Fauré, R.; Saura-Valls, M.; Brumer, H.; Planas, A.; Cottaz, S.; Driguez, H., *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 5151-5161.
73. Saura-Valls, M.; Faure, R.; Ragas, S.; Piens, K.; Brumer, H.; Teeri, T. T.; Cottaz, S.; Driguez, H.; Planas, A., *Biochem. J.* **2006**, *395*, 99-106.
74. Okuyama, M.; Mori, H.; Watanabe, K.; Kimura, A.; Chiba, S., *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2002**, *66*, 928-933.
75. Moracci, M.; Trincone, A.; Rossi, M., *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2001**, *11*, 155-163.
76. Perugino, G.; Trincone, A.; Giordano, A.; van der Oost, J.; Kaper, T.; Rossi, M.; Moracci, M., *Biochemistry* **2003**, *42*, 8484-8493.
77. Drone, J.; Feng, H.-Y.; Tellier, C.; Hoffmann, L.; Tran, V.; Rabiller, C.; Dion, M., *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, *2005*, 1977-1983.
78. Fajjes, M.; Saura-Valls, M.; Pérez, X.; Conti, M.; Planas, A., *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 2055-2065.
79. Hommalai, G.; Withers, S. G.; Chuenchor, W.; Cairns, J. R. K.; Svasti, J., *Glycobiology* **2007**, *17*, 744-753.

80. Nashiru, O.; Zechel, D. L.; Stoll, D.; Mohammadzadeh, T.; Warren, R. A. J.; Withers, S. G., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 417-420.
81. Jakeman, D. L.; Withers, S. G., *Can. J. Chem.* **2002**, *80*, 866-870.
82. Müllegger, J.; Chen, H.-M.; Chan, W. Y.; Reid, S. P.; Jahn, M.; Warren, R. A. J.; Salleh, H. M.; Withers, S. G., *ChemBioChem* **2006**, *7*, 1028-1030.
83. Ben-David, A.; Bravman, T.; Balazs, Y. S.; Czjzek, M.; Schomburg, D.; Shoham, G.; Shoham, Y., *ChemBioChem* **2007**, *8*, 2145-2151.
84. Vaughan, M. D.; Johnson, K.; DeFrees, S.; Tang, X.; Warren, R. A. J.; Withers, S. G., *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6300-6301.
85. Sugimura, M.; Nishimoto, M.; Kitaoka, M., *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2006**, *70*, 1210-1217.
86. Kim, Y.-W.; Fox, D. T.; Hekmat, O.; Kantner, T.; McIntosh, L. P.; Warren, R. A. J.; Withers, S. G., *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 2025-2032.
87. Ben-David, A.; Bravman, T.; Goldman, D.; Shoham, G.; Czjzek, M.; Shoham, Y., Poster abstract 8. In *7th Carbohydrate Bioengineering Meeting* Braunschweig, Germany, **April 2007**.
88. Van Lieshout, J.; Faijes, M.; Nieto, J.; Van Der Oost, J.; Planas, A., *Archaea* **2004**, *1*, 285-292.
89. Hrmova, M.; Imai, T.; Rutten, S. J.; Fairweather, J. K.; Pelosi, L.; Bulone, V.; Driguez, H.; Fincher, G. B., *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 30102-30111.
90. Hrmova, M.; Imai, T.; Rutten, S. J.; Fairweather, J. K.; Pelosi, L.; Bulone, V.; Driguez, H.; Fincher, G. B., *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 48506.
91. Jahn, M.; Stoll, D.; Warren, R. A. J.; Szabo, L.; Singh, P.; Gilbert, H. J.; Ducros, V. M. A.; Davies, G. J.; Withers, S. G., *Chem. Commun.* **2003**, 1327-1329.
92. Piens, K.; Henriksson, A.-M.; Gullfot, F.; Lopez, M.; Faure, R.; Ibatullin, F. M.; Teeri, T. T.; Driguez, H.; Brumer, H., *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 3971-3978.
93. Varki, A., *Glycobiology* **1993**, *3*, 97-130.
94. Heinze, T., Polysaccharides I. In Heidelberg, S. B., Ed. *Advances in Polymer Science*, **2005**; Vol. 186, p 185.
95. Klemm, D., Polysaccharides II. In Heidelberg, S. B., Ed. *Advances in Polymer Science*, **2006**; Vol. 205, p 205.
96. Ladmiral, V.; Melia, E.; Haddleton, D. M., *Eur. Polym. J.* **2004**, *40*, 431-449.
97. Carlmark, A.; Malmstrom, E., *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 900-901.

98. Carlmark, A.; Malmstrom, E. E., *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 1740-1745.
99. Bontempo, D.; Masci, G.; De Leonardis, P.; Mannina, L.; Capitani, D.; Crescenzi, V., *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 2154-2161.
100. Kim, D. J.; Heo, J.-y.; Kim, K. S.; Choi, I. S., *Macromol. Rapid Commun.* **2003**, *24*, 517-521.
101. Dupayage, L.; Save, M.; Dellacherie, E.; Nouvel, C.; Six, J.-L., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2008**, *46*, 7606-7620.
102. Ifuku, S.; Kadla, J. F., *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 3308-3313.
103. Hua, D.; Tang, J.; Cheng, J.; Deng, W.; Zhu, X., *Carbohydrate Polymers* **2008**, *73*, 98-104.
104. Fleet, R.; McLeary, J. B.; Grumel, V.; Weber, W. G.; Matahwa, H.; Sanderson, R. D., *Eur. Polym. J.* **2008**, *44*, 2899-2911.
105. Raynaud, J.; Choquet, B.; Marie, E.; Dellacherie, E.; Nouvel, C.; Six, J. L.; Durand, A., *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 1014-1021.
106. Bajgai, M. P.; Aryal, S.; Bhattarai, S. R.; Bahadur, K. C. R.; Kim, K.-W.; Kim, H. Y., *J. Appl. Polym. Sci.* **2008**, *108*, 1447-1454.
107. Yuan, W.; Yuan, J.; Zhang, F.; Xie, X., *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 1101-1108.
108. Yu, H.; Chen, X.; Lu, T.; Sun, J.; Tian, H.; Hu, J.; Wang, Y.; Zhang, P.; Jing, X., *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 1425-1435.
109. Östmark, E.; Nyström, D.; Malmström, E., *Macromolecules* **2008**, *41*, 4405-4415.
110. Ohya, Y.; Maruhashi, S.; Ouchi, T., *Macromolecules* **1998**, *31*, 4662-4665.
111. Ohya, Y.; Maruhashi, S.; Ouchi, T., *Macromol. Chem. Phys.* **1998**, *199*, 2017-2022.
112. Ouchi, T.; Kontani, T.; Ohya, Y., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2003**, *41*, 2462-2468.
113. Rutot, D.; Duquesne, E.; Ydens, I.; Degée, P.; Dubois, P., *Polym. Degrad. Stab.* **2001**, *73*, 561-566.
114. Ydens, I.; Rutot, D.; Degee, P.; Six, J. L.; Dellacherie, E.; Dubois, P., *Macromolecules* **2000**, *33*, 6713-6721.
115. Nouvel, C.; Ydens, I.; Degée, P.; Dubois, P.; Dellacherie, E.; Six, J.-L., *Polymer* **2002**, *43*, 1735-1743.
116. Nouvel, C.; Dubois, P.; Dellacherie, E.; Six, J.-L., *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 1443-1450.

117. Nouvel, C.; Dubois, P.; Dellacherie, E.; Six, J.-L., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2004**, *42*, 2577-2588.
118. Nouvel, C.; Frochot, C.; Sadtler, V.; Dubois, P.; Dellacherie, E.; Six, J.-L., *Macromolecules* **2004**, *37*, 4981-4988.
119. Ydens, I.; Degée, P.; Nouvel, C.; Dellacherie, E.; Six, J. L.; Dubois, P., *E-Polymers* **2005**,
120. Kakuchi, T.; Narumi, A.; Miura, Y.; Matsuya, S.; Sugimoto, N.; Satoh, T.; Kaga, H., *Macromolecules* **2003**, *36*, 3909-3913.
121. Kakuchi, T.; Narumi, A.; Matsuda, T.; Miura, Y.; Sugimoto, N.; Satoh, T.; Kaga, H., *Macromolecules* **2003**, *36*, 3914-3920.
122. Stenzel-Rosenbaum, M. H.; Davis, T. P.; Chen, V.; Fane, A. G., *Macromolecules* **2001**, *34*, 5433-5438.
123. Ohno, K.; Wong, B.; Haddleton, D. M., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2001**, *39*, 2206-2214.
124. Karaky, K.; Reynaud, S.; Billon, L.; François, J.; Chreim, Y., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2005**, *43*, 5186-5194.
125. Li, J.; Xiao, H., *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 2227-2229.
126. Li, J.; Xiao, H.; Shin, Y.; Tao, K.; Lowe, L., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2005**, *43*, 6345-6354.
127. Miura, Y.; Narumi, A.; Matsuya, S.; Satoh, T.; Duan, Q.; Kaga, H.; Kakuchi, T., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2005**, *43*, 4271-4279.
128. Stenzel, M. H.; Davis, T. P., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2002**, *40*, 4498-4512.
129. Stenzel, M. H.; Davis, T. P.; Fane, A. G., *J. Mater. Chem.* **2003**, *13*, 2090-2097.
130. Stenzel-Rosenbaum, M.; Davis, T. P.; Chen, V.; Fane, A. G., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2001**, *39*, 2777-2783.
131. Narumi, A.; Kawasaki, K.; Kaga, H.; Satoh, T.; Sugimoto, N.; Kakuchi, T., *Polym. Bull.* **2003**, *49*, 405-410.
132. Brunius, C. F.; Ranucci, E., *Macromol. Rapid Commun.* **2001**, *22*, 1474-1480.
133. Brunius, C. F.; Edlund, U.; Albertsson, A.-C., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2002**, *40*, 3652-3661.
134. Guan, X.; Quan, D.; Shuai, X.; Liao, K.; Mai, K., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2007**, *45*, 2556-2568.

135. Karakasyan, C.; Lack, S.; Brunel, F.; Maingault, P.; Hourdet, D., *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 2419-2429.
136. Chen, A.-L.; Ni, H.-C.; Wang, L.-F.; Chen, J.-S., *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 2447-2457.
137. Li, Y.; Liu, R.; Huang, Y., *J. Appl. Polym. Sci.* **2008**, *110*, 1797-1803.
138. van Dijk-Wolthuis, W. N. E.; Tsang, S. K. Y.; Kettenes-van den Bosch, J. J.; Hennink, W. E., *Polymer* **1997**, *38*, 6235-6242.
139. de Jong, S. J.; De Smedt, S. C.; Wahls, M. W. C.; Demeester, J.; Kettenes-van den Bosch, J. J.; Hennink, W. E., *Macromolecules* **2000**, *33*, 3680-3686.
140. Zhang, T.; Marchant, R. E., *Macromolecules* **1994**, *27*, 7302-7308.
141. Qiu, Y.; Zhang, T.; Ruegsegger, M.; Marchant, R. E., *Macromolecules* **1998**, *31*, 165-171.
142. Zhu, J.; Gosen, C.; Marchant, R. E., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2006**, *44*, 192-199.
143. Maruyama, A.; Katoh, M.; Ishihara, T.; Akaike, T., *Bioconjugate Chem.* **1997**, *8*, 3-6.
144. Maruyama, A.; Ishihara, T.; Kim, J. S.; Wan Kim, S.; Akaike, T., *Colloids Surf., A* **1999**, *153*, 439-443.
145. Asayama, S.; Nogawa, M.; Takei, Y.; Akaike, T.; Maruyama, A., *Bioconjugate Chem.* **1998**, *9*, 476-481.
146. Varma, A. J.; Kennedy, J. F.; Galgali, P., *Carbohydr. Polym.* **2004**, *56*, 429-445.
147. Okada, M., *Prog. Polym. Sci.* **2001**, *26*, 67-104.
148. Narumi, A.; Kakuchi, T., *Polymer J.* **2008**, *40*, 383-397.
149. Deng, Z.; Ahmed, M.; Narain, R., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2009**, *47*, 614-627.
150. Hamley, I. W., In *The Physics of Block Copolymers*, Publication, O. S., Ed. **1998**.
151. Riess, G., *Prog. Polym. Sci.* **2003**, *28*, 1107-1170.
152. Hadjichristidis, N.; Pispas, S.; Floudas, G. A., *Block Copolymers: Synthetic Strategies, Physical Properties, and Applications*. Wiley Interscience, John Wiley & Sons, Inc. Publication: **2003**.
153. Lazzari, M.; Liu, G.; Lecommandoux, S., *Block Copolymers in Nanoscience*. Eds. S. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA Weinheim: **2006**.
154. Hernandez, O. S.; Soliman, G. M.; Winnik, F. M., *Polymer* **2007**, *48*, 921-930.

155. Bosker, W. T. E.; Agoston, K.; Cohen Stuart, M. A.; Norde, W.; Timmermans, J. W.; Slaghek, T. M., *Macromolecules* **2003**, *36*, 1982-1987.
156. Bosker, W. T. E.; Patzsch, K.; Stuart, M. A. C.; Norde, W., *Soft Matter* **2007**, *3*, 754-762.
157. Ouchi, T.; Uchida, T.; Arimura, H.; Ohya, Y., *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 477-480.
158. Yang, Y.; Kataoka, K.; Winnik, F. M., *Macromolecules* **2005**, *38*, 2043-2046.
159. Richard, A.; Barras, A.; Younes, A. B.; Monfilliette-Dupont, N.; Melnyk, P., *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 1491-1495.
160. Liu, J.-Y.; Zhang, L.-M., *Carbohydr. Polym.* **2007**, *69*, 196-201.
161. Halila, S.; Manguian, M.; Fort, S.; Cottaz, S.; Hamaide, T.; Fleury, E.; Driguez, H., *Macromol. Chem. Phys.* **2008**, *209*, 1282-1290.
162. Ganji, F.; Abdekhodaie, M. J., *Carbohydr. Polym.* **2008**, *74*, 435-441.
163. Pfannemuller, B.; Schmidt, M.; Ziegast, G.; Matsuo, K., *Macromolecules* **1984**, *17*, 710-716.
164. Loos, K.; Stadler, R., *Macromolecules* **1997**, *30*, 7641-7643.
165. Loos, K.; Muller, A. H. E., *Biomacromolecules* **2002**, *3*, 368-373.
166. Loos, K.; Boker, A.; Zettl, H.; Zhang, M.; Krausch, G.; Muller, A. H. E., *Macromolecules* **2005**, *38*, 873-879.
167. Akiyoshi, K.; Kohara, M.; Ito, K.; Kitamura, S.; Sunamoto, J., *Macromol. Rapid Commun.* **1999**, *20*, 112-115.
168. Akiyoshi, K.; Maruichi, N.; Kohara, M.; Kitamura, S., *Biomacromolecules* **2002**, *3*, 280-283.
169. Haddleton, D. M.; Ohno, K., *Biomacromolecules* **2000**, *1*, 152-156.
170. Narumi, A.; Miura, Y.; Otsuka, I.; Yamane, S.; Kitajyo, Y.; Satoh, T.; Hirao, A.; Kaneko, N.; Kaga, H.; Kakuchi, T., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2006**, *44*, 4864-4879.
171. Houga, C.; Meins, J. F. L.; Borsali, R.; Taton, D.; Gnanou, Y., *Chem. Commun.* **2007**, 3063-3065.
172. Houga, C.; Giermanska, J.; Lecommandoux, S.; Borsali, R.; Taton, D.; Gnanou, Y.; Le Meins, J.-F., *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 32-40.
173. Discher, D. E.; Eisenberg, A., *Science* **2002**, *297*, 967-973.
174. Bernard, J.; Save, M.; Arathoon, B.; Charleux, B., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2008**, *46*, 2845-2857.

175. Li, B.-G.; Zhang, L.-M., *Carbohydrate Polymers* **2008**, *74*, 390-395.

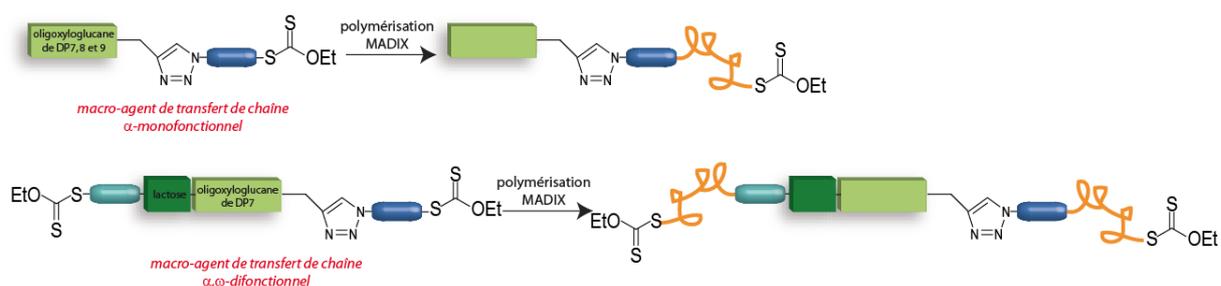
MODIFICATIONS CHIMIO-
ENZYMATIQUES DU
XYLOGLUCANE ET
ELABORATION D'AGENTS
DE TRANSFERT DE
CHAÎNE MADIX

1.	Introduction à la réaction de couplage par « chimie click ».....	75
2.	Méthode « starting from » : modification chimio-enzymatique de xyloglucane et synthèse de l'agent de transfert de chaîne monofonctionnel.....	76
2.1.	Synthèse de l'agent de couplage α -azido, ω -bromé	77
2.2.	Synthèse des oligoxyloglucanes par hydrolyse du polysaccharide natif	83
2.3.	Introduction de la fonction alcyne par modification du carbone anomère des oligoxyloglucanes.....	87
2.4.	Chimie « click » et transformation en macro-agent de transfert de chaîne	92
2.5.	Conclusion	99
3.	Méthode « starting from » : modification chimio-enzymatique de xyloglucane et synthèse de l'agent de transfert de chaîne α,ω -difonctionnel.....	100
3.1.	Synthèse de l'oligoxyloglucane par hydrolyse du polysaccharide : obtention de l'heptasaccharide et introduction de la fonction alcyne	105
3.2.	« Chimie click »	107
3.3.	Modification chimio-enzymatique du lactose et glycosylation	108
3.4.	Transformation en macro-agent de transfert de chaîne réversible.....	113
3.5.	Conclusion	117
4.	Méthode « coupling onto » : modification chimio-enzymatique de xyloglucane et synthèse de macro-agent de transfert de chaîne	118
5.	Conclusion.....	120

Ce travail de thèse a donc pour but d'établir une méthodologie pour associer une partie glucidique à une partie vinylique dans une architecture de copolymères à blocs bien définis, ce qui est encore assez peu décrit dans la littérature. A cette fin, deux méthodologies ont été étudiées et développées (Schéma II-) :

- Méthode « starting from » : il s'agit de faire croître un bloc vinylique par polymérisation radicalaire contrôlée (méthode MADIX) **à partir d'**un bloc glucidique modifié et porteur d'une ou de deux fonctions xanthate menant à des copolymères diblocs ou triblocs, respectivement.
- Méthode « couplage onto » : il s'agit de **coupler** par « chimie click » un bloc glucidique et un bloc vinylique obtenu par polymérisation MADIX, chacun des précurseurs homopolymères étant porteur d'une fonction antagoniste de celle portée par l'autre homopolymère (alcyne et azoture).

1) « starting from »



2) « couplage onto »

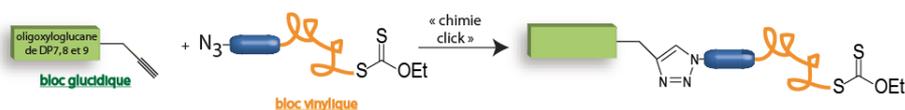


Schéma II-1 : Méthodologies de synthèses des copolymères à blocs glucidique/vinylique.

L'outil « chimie click » utilisé tout au long de ce manuscrit, sera d'abord présenté. Puis il sera discutée de la modification chimio-enzymatique d'un polysaccharide, le xyloglucane issu des graines de tamarin, en vue de l'obtention de copolymères à blocs hybrides selon les deux méthodes précédemment évoquées.

1. Introduction à la réaction de couplage par « chimie click »

La cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen¹⁷⁶ est une réaction entre deux composés porteurs d'insaturations qui donne accès à un produit comportant un hétérocycle à 5 atomes. Les deux fonctions antagonistes les plus utilisées sont les azotures et les alcynes conduisant à la formation d'un groupement triazole. La réaction requiert généralement une température élevée et mène alors à un mélange de régioisomères 1,4 et 1,5 (Schéma II-2).

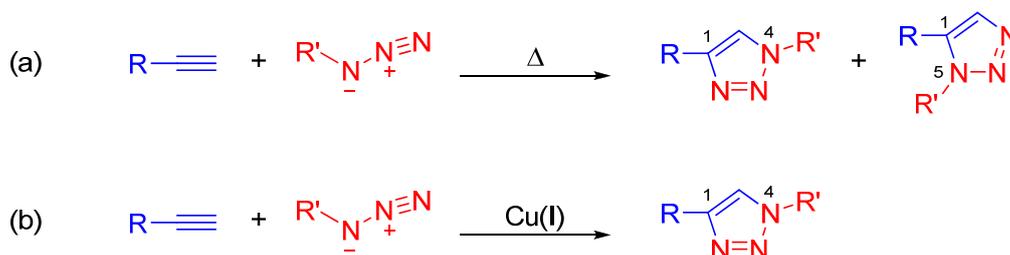


Schéma II-2 : Cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen (a) non catalysée, (b) catalysée par du cuivre I.

La réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire catalysée par le cuivre de degré d'oxydation I (Cu(I)) entre un composé porteur d'une fonction azoture et un composé porteur d'une fonction alcyne (appelée aussi CuAAC pour « Copper (I) Azide Alkyne Cycloaddition ») permet de résoudre le problème du mélange d'isomères en formant uniquement le régioisomère 1,4. L'utilisation de cuivre I a été introduite en 2001, indépendamment par Tornøe et Meldal¹⁷⁷ d'une part, et par Sharpless et al. (qui ont introduit le terme de « chimie click ») d'autre part.¹⁷⁸

Cette réaction s'est révélée correspondre parfaitement à ce concept de « chimie click », à savoir qu'elle est quantitative (rendement > 95 %) et régiosélective (obtention de l'unique régioisomère 1,4).^{178, 179} La méthode CuAAC offre un lien (le groupe triazole) très robuste, inerte vis-à-vis de la plupart des autres chimies utilisées (oxydation, réduction, hydrolyse).

Depuis 2004, les polyméristes ont largement exploité une telle « chimie click » en ingénierie macromoléculaire pour la synthèse de copolymères à blocs, greffés, de dendrimères, de polymères cycliques, de gels... parfois impossibles à élaborer par d'autres méthodes.¹⁸⁰⁻¹⁸⁵

Le couplage par « chimie click » a été utilisé lors de ces travaux de thèse pour, soit introduire une fonction amorçante de polymérisation sur les oligoxyloglucanes (dans le cadre de la stratégie « starting from »), soit associer un bloc glucidique à un bloc vinylique (dans le cadre de la stratégie « coupling onto »).

2. Méthode « starting from » : modification chimio-enzymatique de xyloglucane et synthèse de l'agent de transfert de chaîne monofonctionnel

La stratégie générale de la synthèse du macro-agent de transfert de chaîne repose sur quatre étapes-clés (Schéma II-3) :

- la synthèse d'un agent de couplage porteur d'une fonction bromure (*1^{ère} étape*)
- l'hydrolyse enzymatique contrôlée du polysaccharide offrant un mélange d'oligosaccharides XXXG, XXLG, XLXG et XLLG dans des proportions définies (*2^{ème} étape*)
- la modification chimique de la position anomère de l'oligosaccharide à l'aide de l'agent de couplage (*3^{ème} étape*)
- la transformation de la fonction bromure en fonction xanthate conduisant au macro-agent de transfert de chaîne ciblé (*4^{ème} étape*).

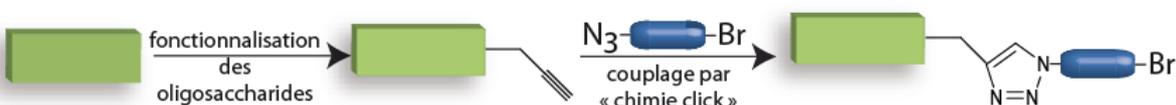
1ère étape



2ème étape



3ème étape



4ème étape

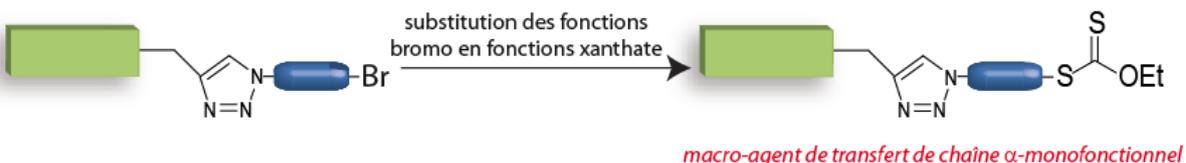


Schéma II-3 : Stratégie « starting from » pour la synthèse du macro-agent de transfert de chaîne.

2.1. Synthèse de l'agent de couplage α -azido, ω -bromé

L'agent de couplage hétérofonctionnel a été choisi de telle manière qu'il soit doté :

- d'une fonction bromure secondaire destinée à être transformée ultérieurement en fonction xanthate afin de permettre la polymérisation MADIX,
- d'une fonction azoture afin de coupler par « chimie click » l'agent de couplage aux oligoxyglucanes porteurs de la fonction alcyne antagoniste.

Pour satisfaire ces conditions, le composé **3** a été dans un premier temps synthétisé à partir du 2-(2-chloroéthoxy)éthanol (Schéma II-4).

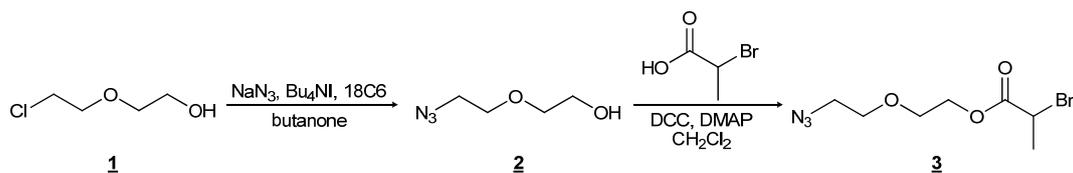


Schéma II-4 : Synthèse du 2-(2-azidoéthoxy)éthyl 2-bromopropanoate.

Cependant, le couplage de ce composé par chimie « click » à l'oligosaccharide substitué par une fonction alcyne ne conduit pas à la molécule cible (Schéma II-5). En effet, cette réaction catalysée par le sulfate de cuivre et l'ascorbate de sodium mène en partie à l'hydrolyse de l'ester (composé **4**), comme l'atteste l'analyse du produit isolé par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Figure II-). Les massifs 1619,46 m/z ; 1475,41 m/z et 1295,36 m/z $[M+Na]^+$ correspondent effectivement aux DP 9, 8 et 7 du produit hydrolysé.

Différents tests ont été réalisés pour connaître l'origine de cette hydrolyse. L'agent de couplage a été mis dans les conditions opératoires en présence de l'oligosaccharide seul puis, en présence de sulfate de cuivre seul et enfin, en présence de sulfate de cuivre et d'ascorbate de sodium. En suivant ces réactions par chromatographie sur couche mince, il est apparu que la réaction d'hydrolyse n'est observée que dans le cas du mélange de sulfate de cuivre et d'ascorbate de sodium.

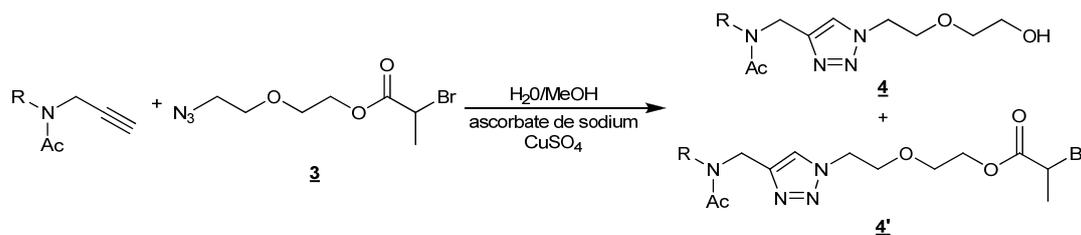


Schéma II-5 : Hydrolyse de l'ester.

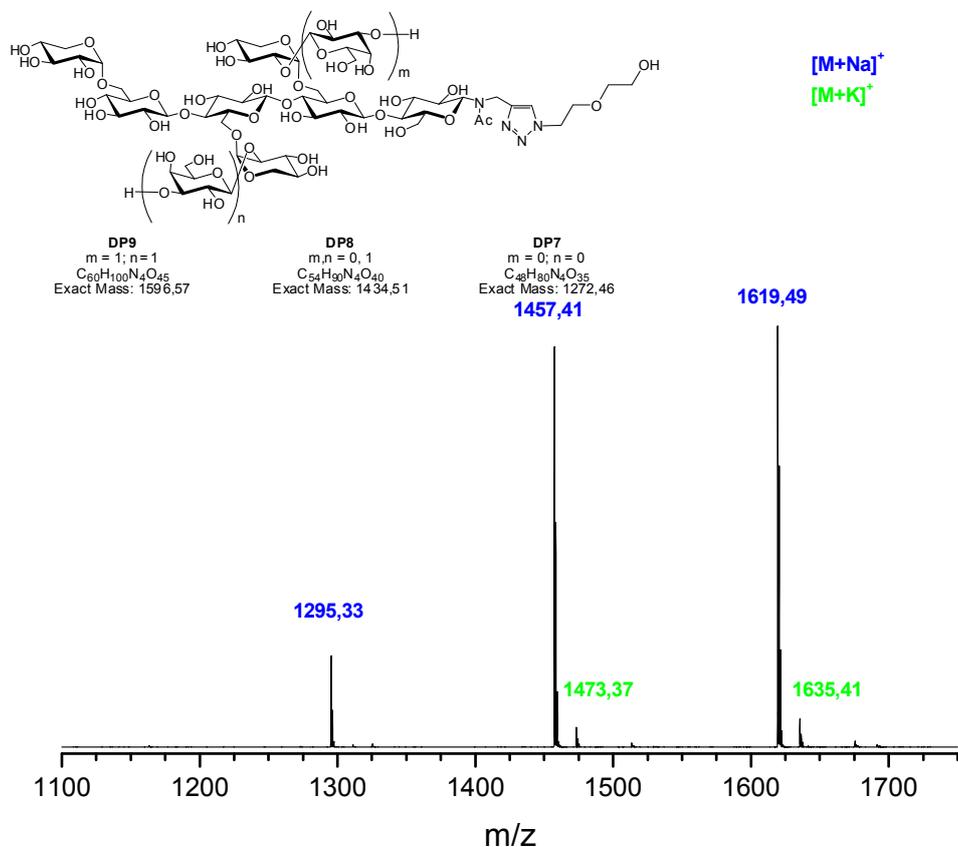


Figure II-1 : Spectre de masse MALDI-TOF du composé **4** après hydrolyse du composé **4'** (Schéma II-5).

Afin de pallier ce problème d'hydrolyse de la fonction ester, un nouvel agent de couplage a été envisagé en remplaçant la fonction ester par une fonction amide connue pour être moins sensible aux traitements acides ou basiques. La synthèse du composé (**7**), contenant une telle « rotule » amide en plus des fonctions bromure et azoture en position α et ω , respectivement, est représentée dans le Schéma II-6.

La stratégie consiste à activer l'acide 2-bromopropionique à l'aide d'une fonction succinimidyle pour permettre la réaction d'amidification avec le composé porteur d'une fonction amine.

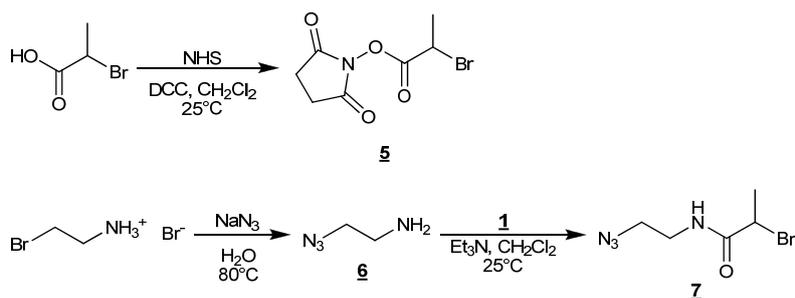


Schéma II-6 : Stratégie de synthèse de l'agent de couplage 7.

Les synthèses des composés 5, et 6, sont déjà décrites dans la littérature.^{186, 187}

Dans un premier temps, l'acide 2-bromopropionique et le *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) sont ajoutés à une solution de *N*-hydroxysuccinimide (NHS) dans le dichlorométhane. Le produit 5 est isolé après purification par chromatographie d'adsorption sur gel de silice.

Dans un deuxième temps, la substitution nucléophile entre l'hydrobromure de 2-bromoéthylamine et l'azoture de sodium est effectuée dans l'eau, pour conduire au composé 6.

Enfin, l'amidification est réalisée par ajout de la 2-azidoéthylamine, en présence de triéthylamine, à une solution de succinimidyle de 2-bromopropionate dans le dichlorométhane. Le produit 7 est obtenu avec une conversion de 88 %, après purification par chromatographie d'adsorption sur gel de silice.

Le spectre de RMN ¹H du composé 7 montre tous les signaux attendus, confirmant la structure de ce produit (Figure II-2). On note par exemple le pic à 3,46 ppm correspondant aux protons du groupement éthylène **CH₂-CH₂** ainsi que le quadruplet à 4,43 ppm correspondant au proton du groupement méthine **CH** porteur du groupe méthyle et de la fonction bromure.

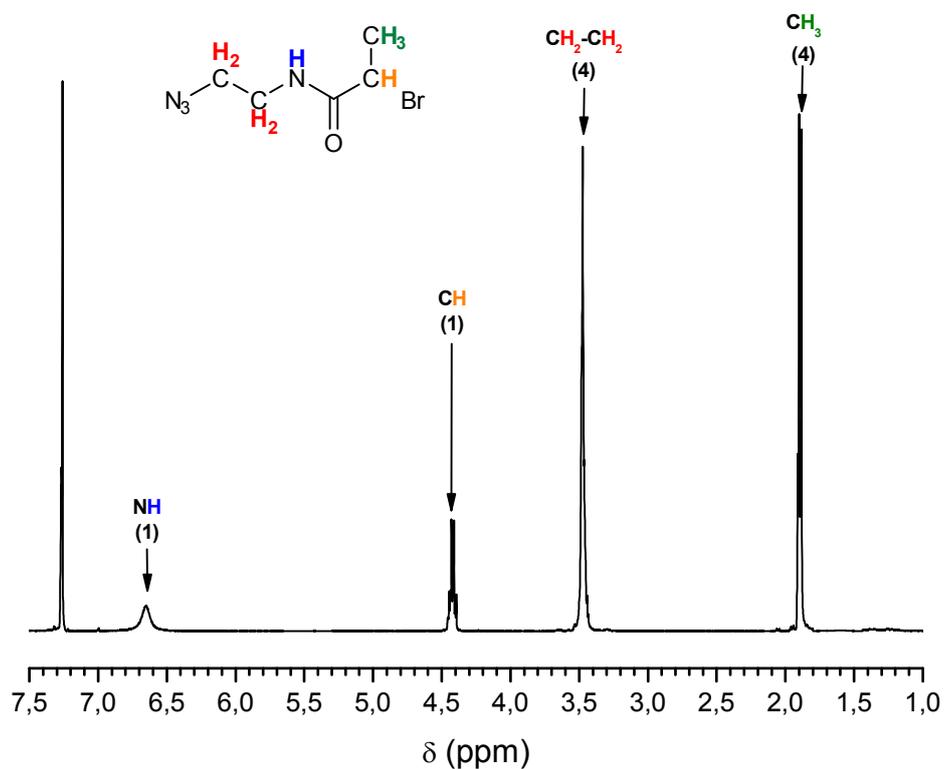


Figure II-2 : Spectre de RMN ¹H (CDCl₃, 298 K) du *N*-(2-azidoéthyle)-2-bromopropanamide (7).

La présence de la fonction azoture est confirmée par spectrométrie infrarouge qui montre une absorption à 2 100 cm⁻¹ caractéristique de cette fonction (Figure II-3). De même, la formation de la fonction amide est vérifiée par un pic d'absorption à 1658 cm⁻¹.

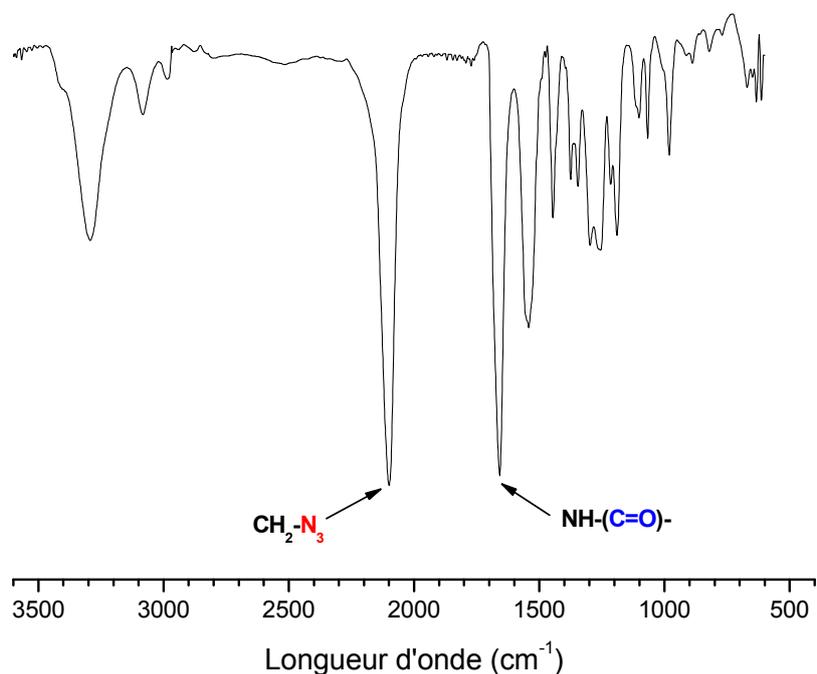


Figure II-3 : Spectre IR du *N*-(2-azidoéthyl)-2-bromopropanamide (7)

L'agent de couplage α -azido, ω -bromo-hétérodifonctionnel a donc pu être synthétisé. La présence de la fonction azoture permet d'envisager un couplage par « chimie click » à une molécule possédant une fonction alcyne tandis que la fonction bromure peut être transformée ultérieurement en fonction xanthate par substitution nucléophile.

2.2. Synthèse des oligoxyglucanes par hydrolyse du polysaccharide natif

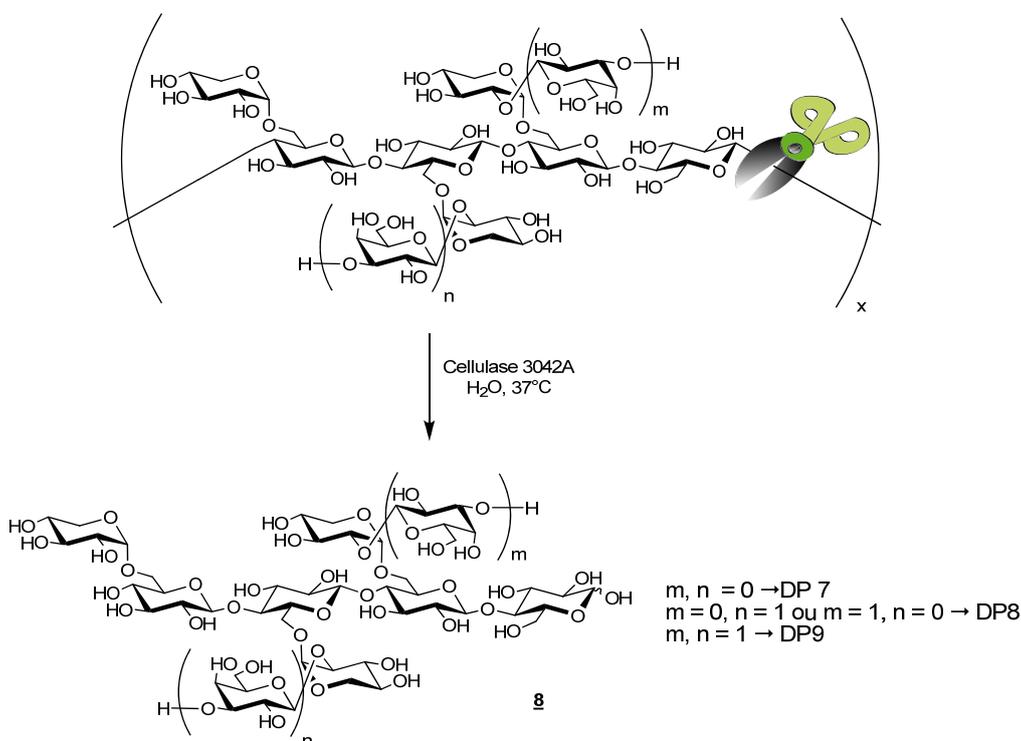


Schéma II-7 : Hydrolyse du xyloglucane de graines de tamarin à l'aide de cellulase.

Les propriétés de la plupart des polysaccharides sont dépendantes de leur masse molaire moyenne. Pour certaines applications, et notamment dans le domaine médical et cosmétique, les polysaccharides de faible masse molaire ont un certain avantage sur leurs homologues de masse molaire élevée. Cela s'explique par la diffusivité accrue des composés de faible masse molaire dans les tissus humains.

L'hydrolyse, c'est à dire la dépolymérisation, du xyloglucane de graines de tamarin peut se faire selon différentes méthodes. Des traitements physiques peuvent être utilisés. Ainsi, Ebringerová et al. ont étudié la dépolymérisation du xyloglucane à l'aide de sources de radiations comme les ultra-sons, les rayons γ et les micro-ondes.¹⁸⁸ L'inconvénient de ces méthodes tient au fait que la rupture se fait généralement de façon aléatoire, que ce soit sur le squelette du polysaccharide ou sur les chaînes latérales. Cela peut également s'accompagner de réactions secondaires, comme la formation de fonctions carbonyle ou carboxyle affectant la structure finale du polysaccharide.

Comme la plupart des polysaccharides, les chaînes de xyloglucane peuvent également être dégradées à chaud en milieu acide, avec par exemple l'acide trifluoroacétique (CF₃CO₂H).

La dégradation enzymatique, quant à elle, permet d'hydrolyser de façon sélective la chaîne du polysaccharide, sans altérer sa composition. Parmi les enzymes actives sur le xyloglucane et capables de le dégrader sélectivement, on peut citer les endoglucanases (ou cellulases), les xyloglucane-endotransglycosylases (XET) et les xyloglucane endohydrolases (XEH).

En ce qui nous concerne, nous avons choisi d'utiliser les cellulases pour hydrolyser le xyloglucane de graines de tamarin, polysaccharide possédant un squelette équivalent à la cellulose (unité β-D-glucopyranosyle). Les cellulases sont des enzymes catalysant l'hydrolyse des liaisons glycosidiques β-(1→4) entre deux unités glycosyle d'une chaîne de cellulose. Elles sont isolées de diverses bactéries, champignons ou plantes ainsi que chez certains animaux (insectes, vers, crustacés). La topologie du centre actif des cellulases fait que seul une unité glucosyle non substituée (identifiée sur le Schéma II-7 par les ciseaux) peut être accommodée dans le sous-site -1 et donc que tous les produits obtenus possèdent une unité glucosyle non substituée.¹⁸⁹

Afin d'hydrolyser le xyloglucane, une cellulase commerciale (cellulase 3042A de Genencor) a été utilisée. Les travaux de thèse effectués au CERMAV par David Viet ont montré que, comparée à d'autres cellulases (cellulases 3042B et 3042C de Genencor ou cellulases Cel7B d'*Humicola insolens*, Celluclast type X et xyloglucanases d'*Aspergillus aculeatus* famille 12), celle-ci conduit très rapidement et majoritairement à des oligosaccharides de degrés de polymérisation (DP) 7, 8 et 9 notés également XXXG, XXLG (et XLXG) et XLLG (Figure II-4).

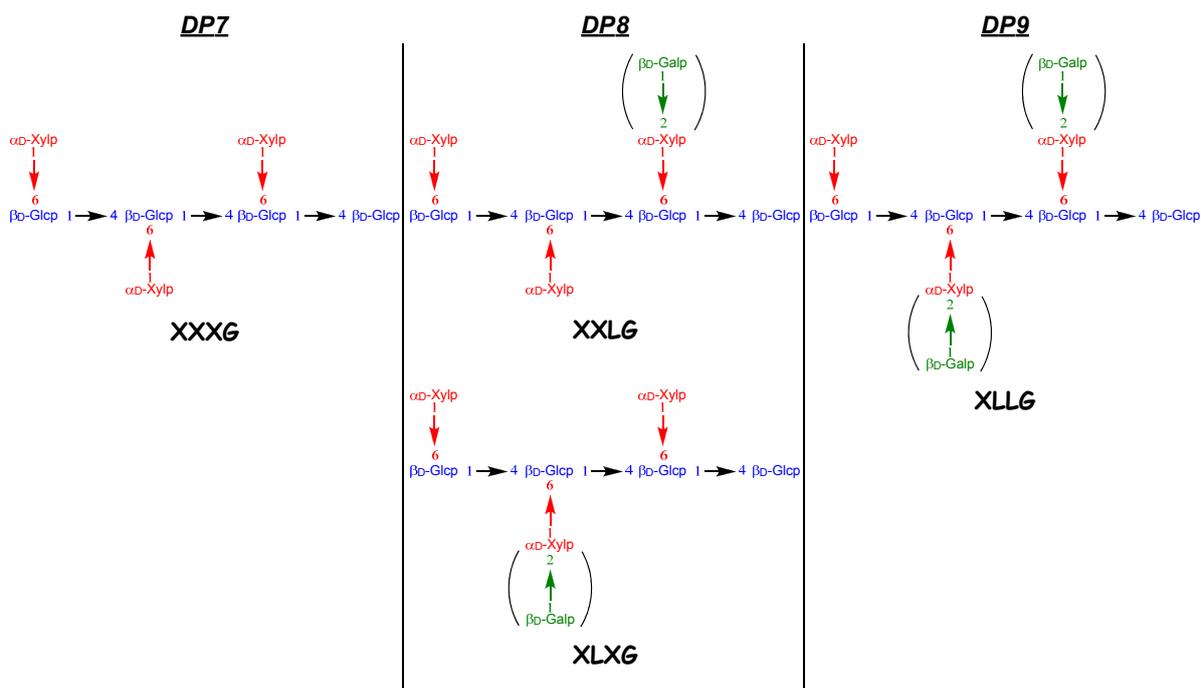


Figure II-4 : Oligoxyglucanes de degré de polymérisation DP 7 (XXXG), 8 (XXLG et XLXG) et 9 (XLLG).

L'introduction, à 37°C, de la cellulase 3042A dans une suspension aqueuse de xyloglucane de graines de tamarin offre en 4 heures, avec un rendement massique de 100 %, l'hepta-, l'octa- et le nonasaccharide dans les proportions molaires exactes 15:35:50, respectivement.

Le produit est caractérisé par spectrométrie de RMN ^1H (Figure II-5) qui rend compte des résultats attendus. Par exemple, les oligoxyglucanes sont obtenus sous la forme α et β , ce que montrent les deux doublets caractéristiques du proton anomère α (5,19 ppm) et du proton anomère β (4,62 ppm) de l'unité réductrice.

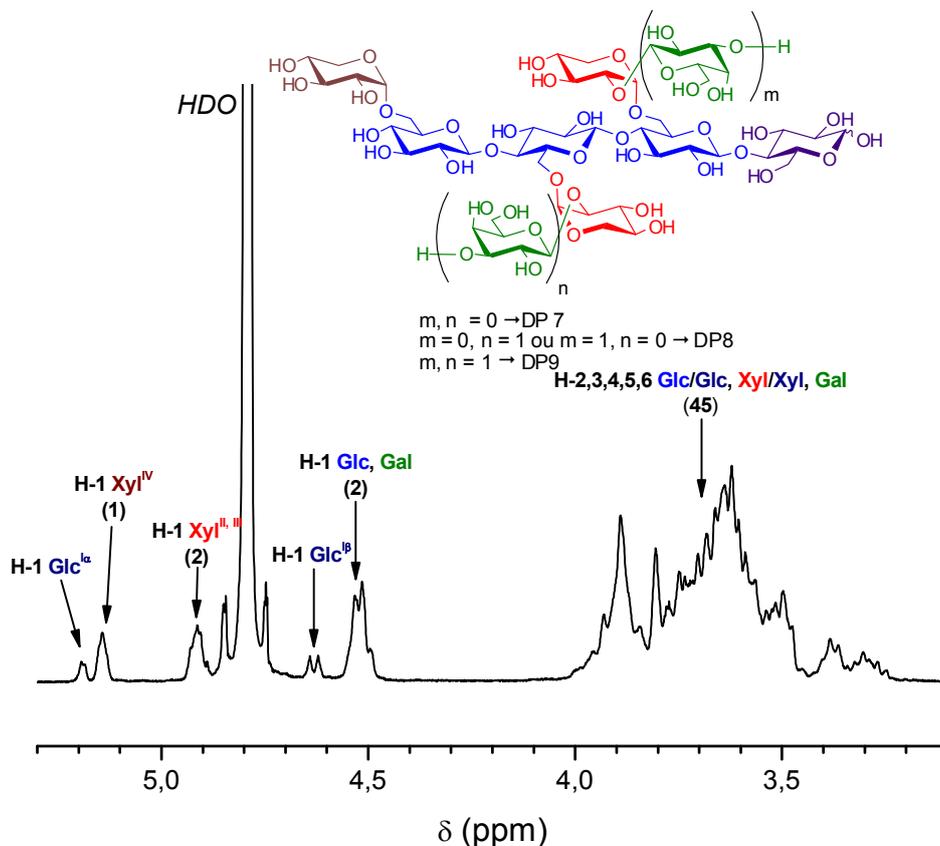


Figure II-5 : Spectre de RMN ^1H (D_2O , 298 K) des oligoxyloglucanes de DP 7, 8 et 9 (8).

L'étude par spectrométrie de masse MALDI-TOF est également en accord avec la structure (Figure II-6). Les trois oligoxyloglucanes sont identifiés par les ions moléculaires obtenus par insertion du sodium ($[\text{M} + \text{Na}]^+$).

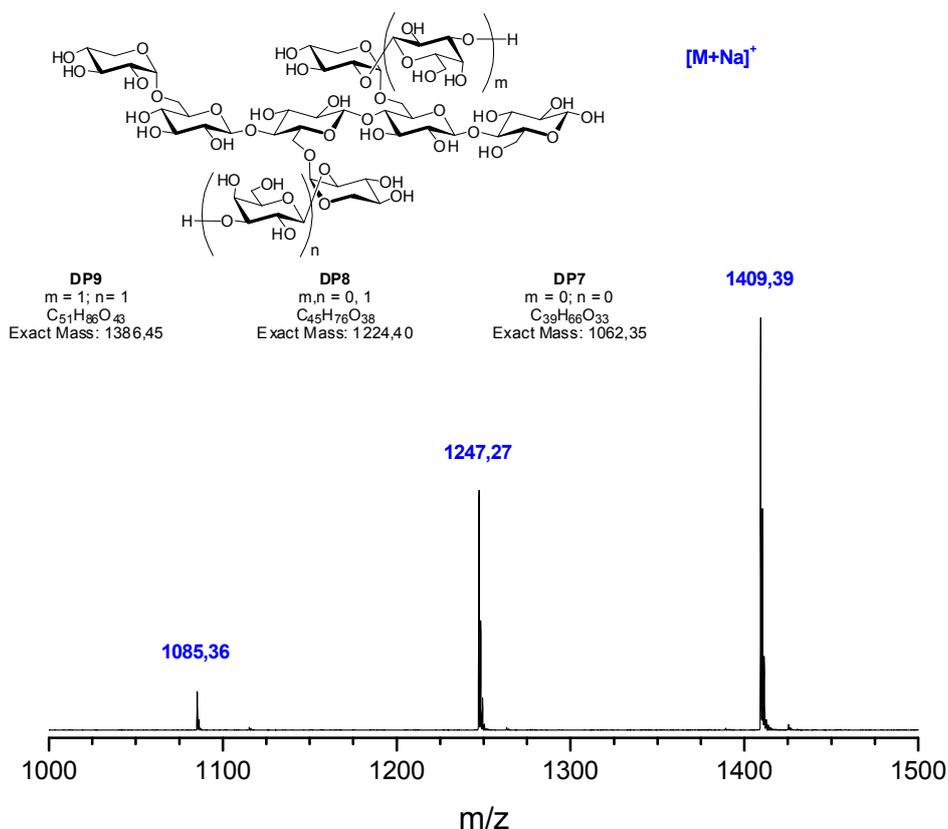


Figure II-6 : Spectre de masse MALDI-TOF des oligoxyglucanes de DP 7, 8 et 9 (8).

L'utilisation de l'enzyme cellulase a donc permis de dégrader le xyloglucane de graines de tamarin de manière spécifique et contrôlée offrant, à l'échelle de plusieurs grammes, des oligosaccharides de DP 7, 8 et 9 dans des proportions connues.

2.3. Introduction de la fonction alcyne par modification du carbone anomère des oligoxyglucanes

L'objectif de cette étape est de modifier la position anomère des oligoxyglucanes par une fonction alcyne afin de modifier ultérieurement les oligosaccharides par « chimie click » avec l'agent de couplage **7** décrit précédemment, porteur d'une fonction azoture.

Il a été choisi d'introduire la fonction alcyne par l'intermédiaire de la *N*-glycosylamine et de ne pas appliquer la réaction d'amination réductrice, ceci afin d'éviter l'utilisation de cyanoborohydrure de sodium, toxique et dangereux pour l'environnement.

L'équipe de Lockhoff a synthétisé des analogues de glycolipides par l'intermédiaire de *N*-glycosylamines obtenues par réaction entre un mono- ou un disaccharide et une chaîne grasse aminée dans un solvant polaire.¹⁹⁰ Par la suite, la *N*-glycosylamine est acylée par une chaîne grasse acide (de l'acide dodécanoïque à l'acide octadécanoïque) permettant d'éviter son hydrolyse.

De la même manière, Spevak et al. ont introduit une fonction allyle en faisant réagir, sans solvant, différents saccharides avec de l'allylamine.¹⁹¹ Les produits ont été isolés après peracétylation avec l'anhydride acétique dans la pyridine.

Plus spécifiquement, la synthèse de *N*-propargyle glycosylamine à partir de glucides non protégés est peu décrite dans la littérature. Seul Pérez-Balderas et al ont obtenu du *N*-propargyle mannoside peracétylé à partir du sucre libre.¹⁹² Les rendements sont cependant faibles.

Dernièrement, Driguez et al. ont développé une méthode sélective pour la synthèse de *N*-propargyle oligoxyloglucanes ; c'est cette méthode, telle qu'elle est illustrée par le Schéma II-8 qui a été utilisée dans la suite de ce travail.¹⁹³

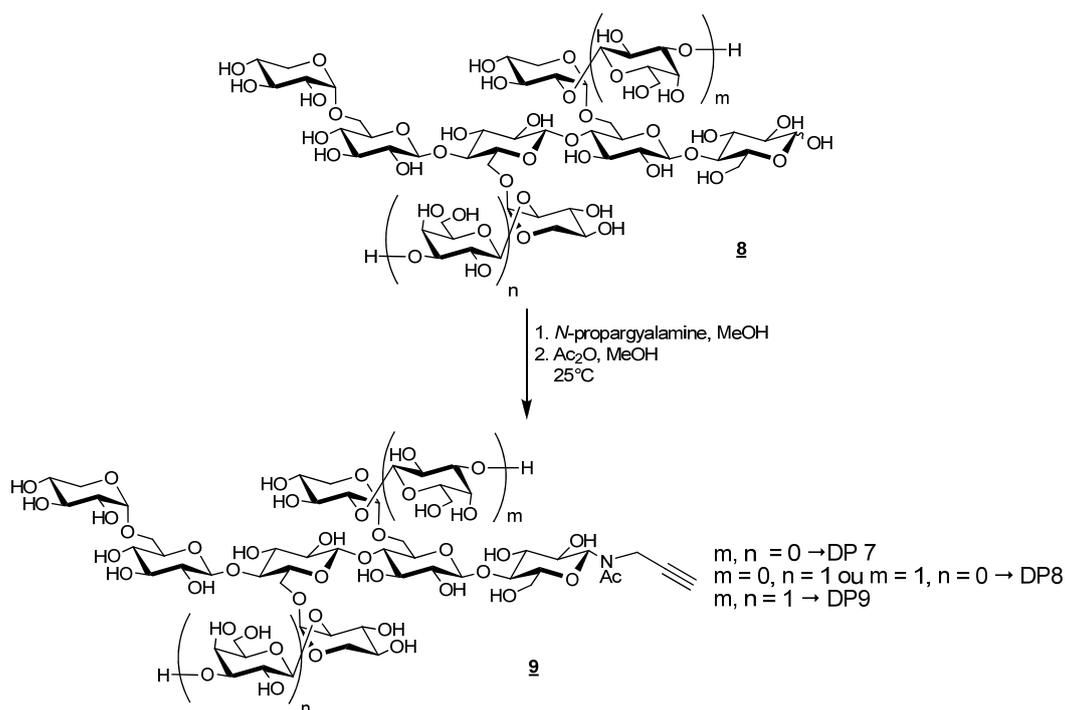


Schéma II-8 : Introduction de la fonction alcyne sur les oligoxyglucanes.

Un excès de *N*-propargylamine est ajouté à une suspension d'oligoxyglucanes dans du méthanol. La glycosylamine est précipitée dans un mélange méthanol/dichlorométhane puis lavée avec la même solution afin d'éliminer l'excès d'amine. Une *N*-acétylation sélective dans le méthanol permet d'isoler le composé **9** avec un rendement massique quantitatif

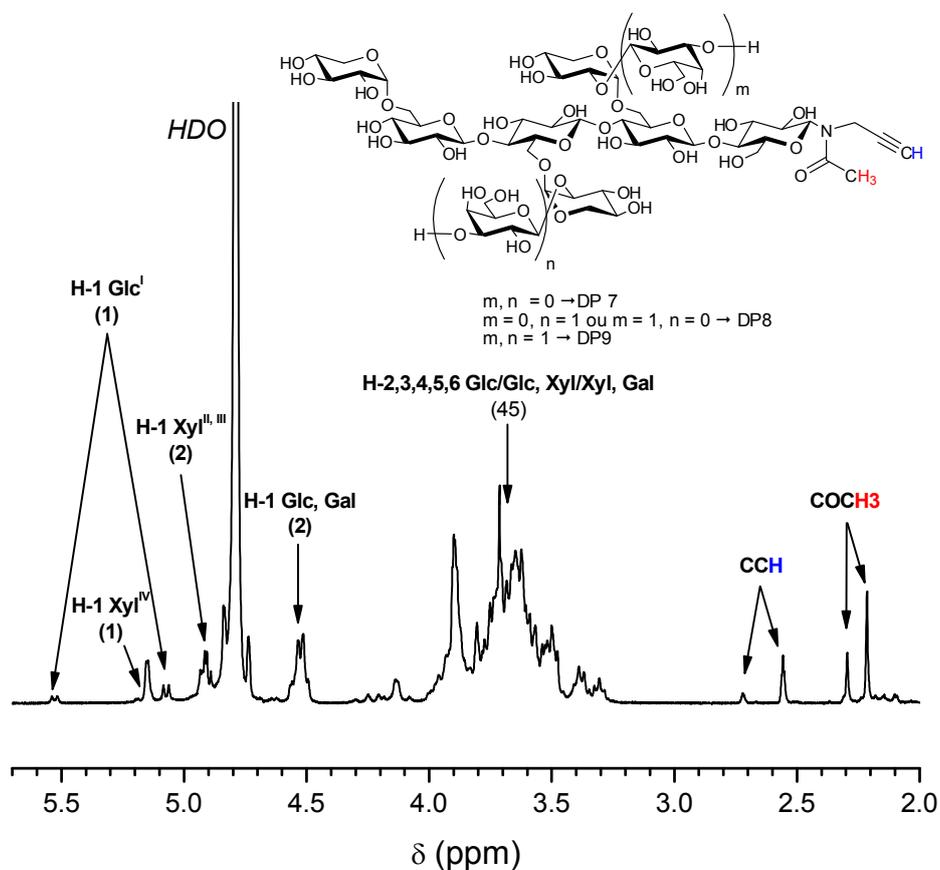


Figure II-7 : Spectre de RMN ^1H (D_2O , 298 K) des *N*-propargyle oligoxyglucanes (9).

Le spectre de RMN ^1H à 298 K confirme la structure du produit (Figure II-7). On note premièrement que la réaction engendre un unique isomère, en l'occurrence le β -*N*-glycoside plus stable, comme en témoignent les pics à 5,51 ppm et 5,06 ppm. Le spectre montre également l'apparition des signaux correspondant aux protons de la fonction acétate (à 2,29 ppm et 2,21 ppm) et alcyne (à 2,72 ppm et 2,55 ppm). La multiplicité de ces signaux est due à la présence de deux isomères issus de l'effet rotamère de l'azote (Schéma II-9).

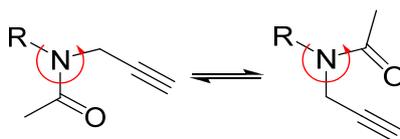


Schéma II-9 : Rotamères des *N*-propargyle oligoxyglucanes (2) (R = oligoxyglucanes).

Cependant, la spectrométrie de RMN ^1H du produit effectuée à 313 K permet d'accélérer cette rotation autour de l'azote. Ceci induit ainsi une coalescence des signaux, comme le montre le spectre donné sur la Figure II-8. Le rapport 1/3 des intégrales des protons de la fonction acétate avec le proton anomère du xylose IV permet de confirmer la fonctionnalisation quantitative des oligoxyglucanes.

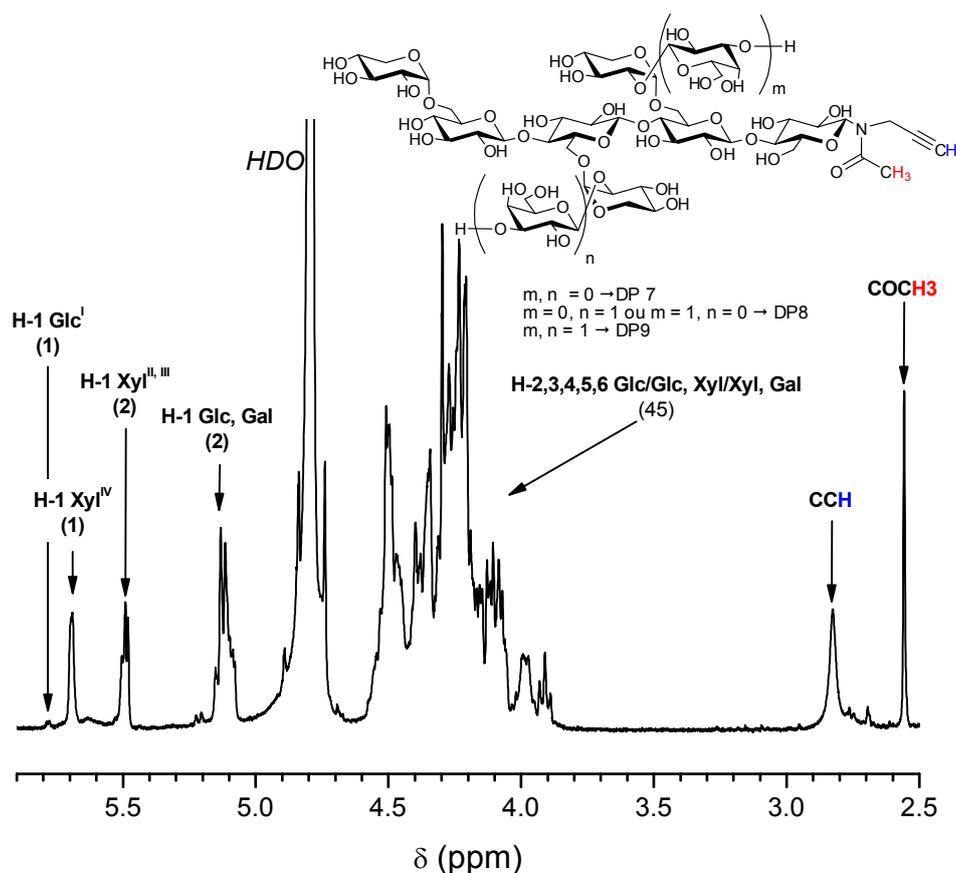


Figure II-8 : Spectre de RMN ^1H (D_2O , 313 K) des *N*-propargyle oligoxyglucanes (2).

Il a ainsi été possible de modifier exclusivement l'unité anomère des oligoxyglucanes à l'aide de *N*-propargylamine, dans le but d'utiliser ce nouveau composé dans le cadre d'un couplage par « chimie click ». Pour plus de confort, nous déclarerons que la fonction alcyne est en position ω de l'oligosaccharide.

2.4. Chimie « click » et transformation en macro-agent de transfert de chaîne

La méthode repose sur la « chimie click », consistant à coupler les oligoxyglucanes **5** porteurs de la fonction alcyne à l'agent de couplage difonctionnel **7** porteur d'une fonction azoture et d'une fonction bromure. La réaction est effectuée dans un mélange d'eau et de méthanol pour garantir la solubilité des deux réactifs. La solution de sulfate de cuivre introduit dans le milieu réactionnel le cuivre sous forme Cu^{2+} qui, une fois réduit par l'ascorbate de sodium en Cu^+ (Schéma II-10), permet de catalyser la réaction de « chimie click ». Le produit attendu est purifié par chromatographie d'adsorption sur gel de silice puis lyophilisé (Schéma II-11, (i)).

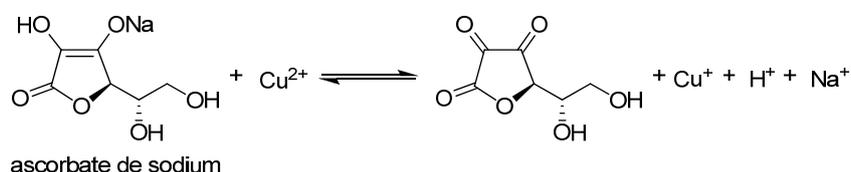


Schéma II-10 : Réaction d'oxydo-réduction entre l'ascorbate de sodium et le sulfate de cuivre.

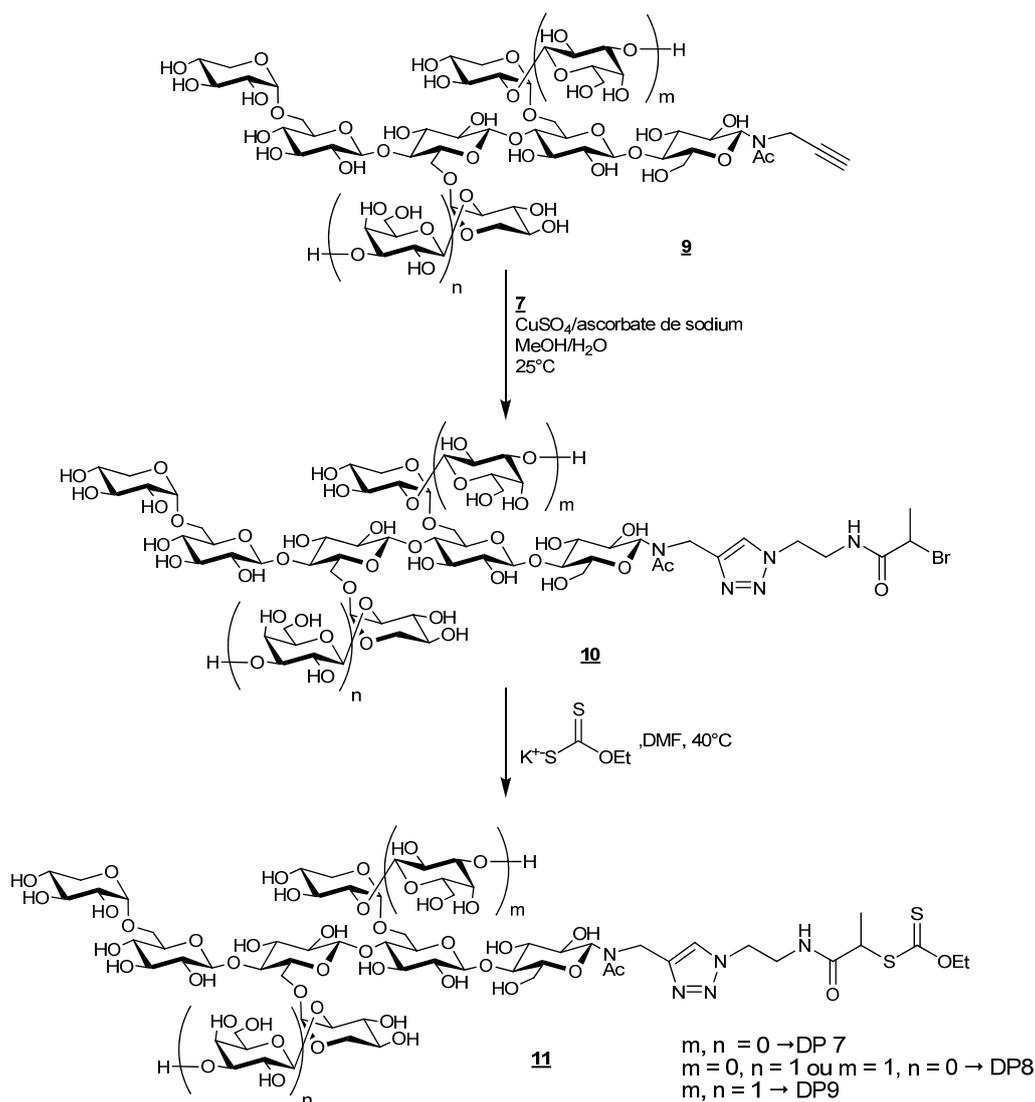


Schéma II-11 : Couplage par « chimie click » des oligoxyloglucanes avec l'agent de couplage puis obtention du macro-agent de transfert de chaîne.

L'efficacité du couplage est vérifiée par spectrométrie de RMN 1H (Figure II-9). On note en particulier sur le spectre correspondant la disparition totale du pic de l'alcyne et l'apparition des pics relatifs au proton du cycle triazole (8 ppm et 7,9 ppm) et ceux dus aux protons de la fonction méthyle en alpha du brome (1,6 ppm). Par spectrométrie infrarouge, on observe également la disparition du pic d'absorption à $2\ 100\ cm^{-1}$ relatif à la fonction azoture.

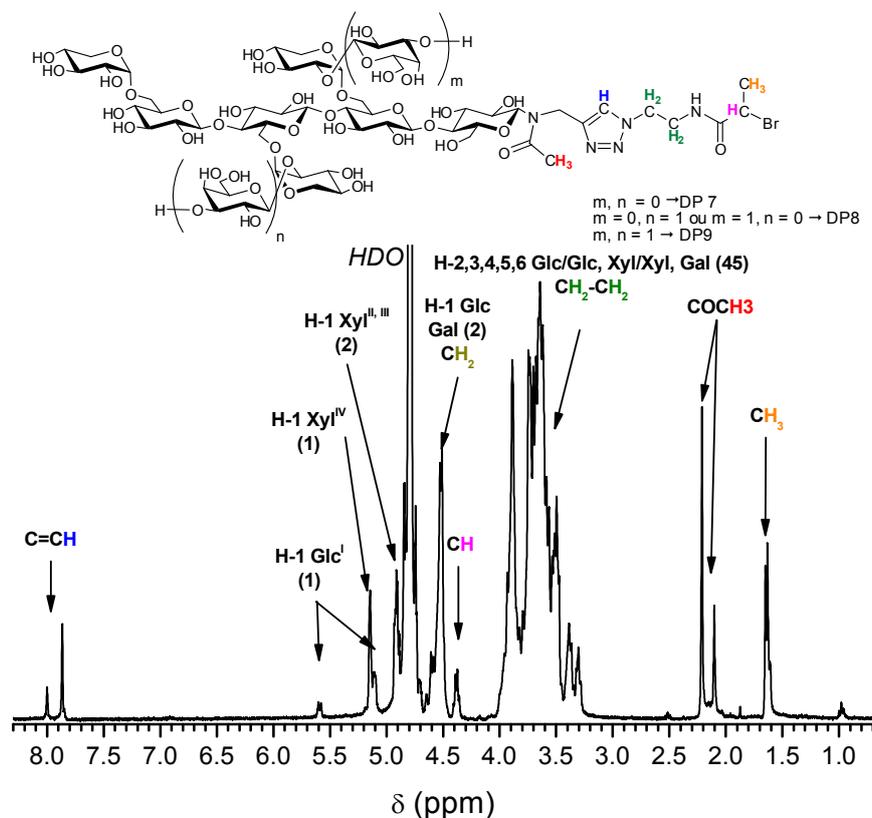


Figure II-9 : Spectre de RMN ^1H (D_2O , 298 K) des ω -bromo-oligoxylogucanes (**10**).

Parmi les voies de synthèse menant aux dérivés thiocarbonylthio, la principale consiste à employer la substitution nucléophile d'un groupe partant en réagissant avec le sel du dérivé thiocarbonylthio correspondant.^{194, 195} Les sels sont généralement issus du sulfure de carbone CS_2 avec le groupement « Z » approprié (Schéma II-12).

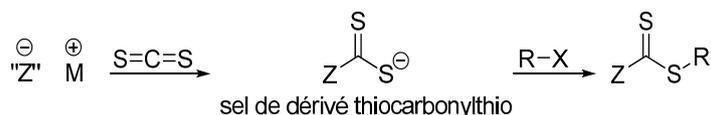


Schéma II-12 : Voie de synthèse d'un dérivé thiocarbonylthio (xanthate, Z = OZ').

Par la suite, les oligoxylogucanes **10** possédant la fonction bromure sont mis en solution à 40°C dans le DMF en présence d'*O*-éthylxanthate de potassium (Schéma II-11,

(ii)), réactif commercial et bon marché. Le choix de mettre en œuvre la substitution du brome par le xanthate à ce stade de la synthèse ainsi que l'utilisation d'un excès de cuivre II sont motivés par la volonté d'éliminer un maximum de cuivre résiduel émanant de la « chimie click ». Les sels de xanthate, et notamment l'*O*-éthylxanthate de potassium, sont en effet employés dans l'industrie du traitement de l'eau. Ils sont utilisés pour le flottage de métaux et montrent une affinité avec le cuivre.^{196, 197} Le produit **11** est purifié par chromatographie d'adsorption sur gel de silice et est obtenu avec un rendement de 75 % après lyophilisation.

L'obtention du produit attendu est confirmée par spectrométrie de RMN ¹H. On note l'apparition des protons CH₃ de la fonction *O*-éthylxanthate. Les deux groupes méthyle résonnent à la même fréquence et apparaissent sous la forme d'un multiplet.

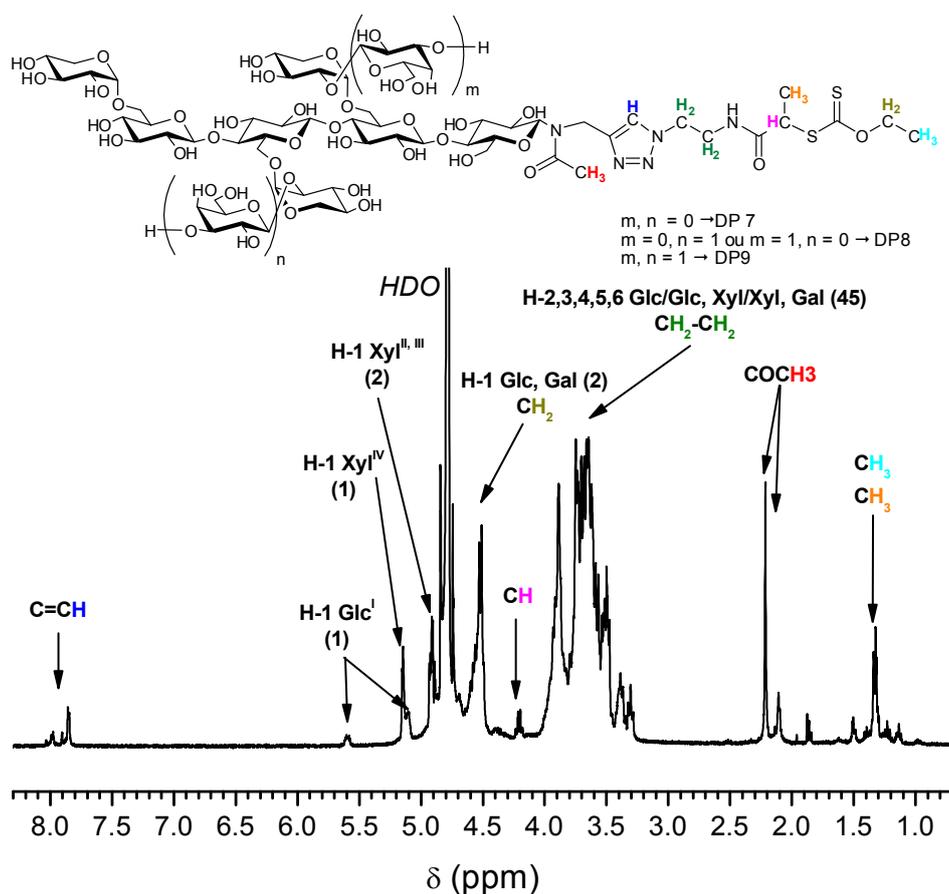


Figure II-10 : Spectre de RMN ¹H (D₂O, 298 K) des oligoxyloglucanes fonctionnalisés xanthate (**11**).

Le produit a également été caractérisé par spectrométrie de masse MALDI-TOF. Les composés correspondant aux DP 7, 8 et 9, chacun porteur du groupement xanthate sont bien présents (Figure II-11). Les massifs à 1442,44 m/z, 1604,49 m/z et 1766,59 m/z $[M + K]^+$ sont en accord avec les prévisions liées à la présence des trois valeurs de DP de xyloglucane fonctionnalisé. Cependant, le spectre indique également la présence de sous-produits issus de la fragmentation du xanthate qui a probablement lieu au moment où l'échantillon est soumis au bombardement du laser du spectromètre de masse pour l'ionisation. Cette fragmentation des groupements xanthate pendant l'étude par spectrométrie de masse MALDI-TOF a déjà été décrite dans la littérature.¹⁹⁸

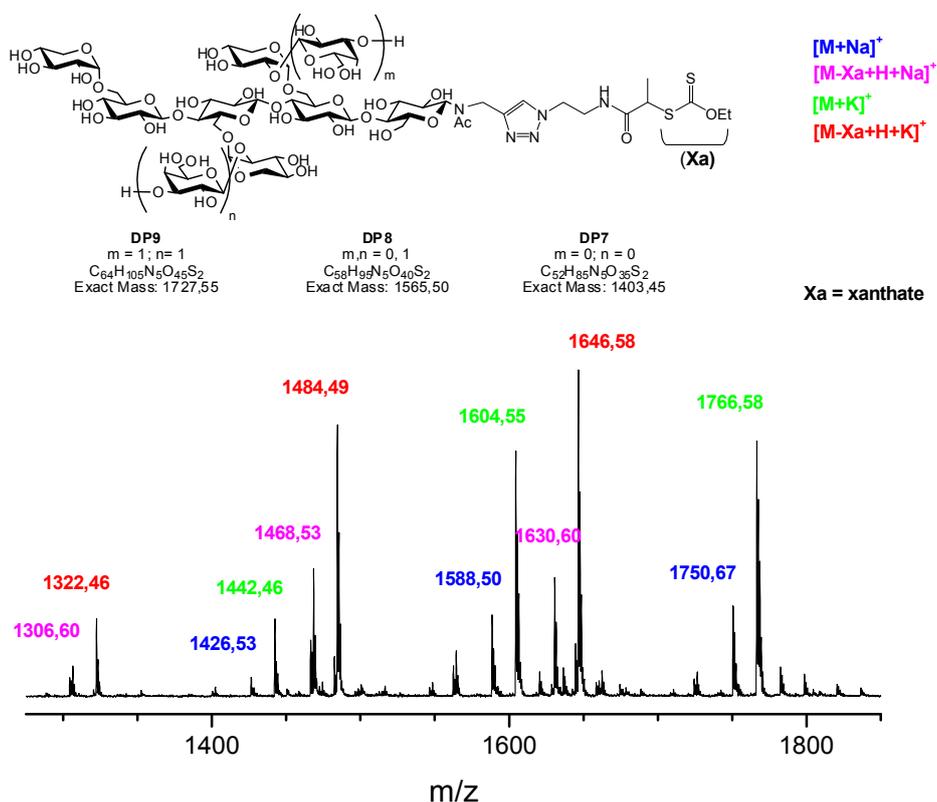


Figure II-11 : Spectre de masse MALDI-TOF des oligoxyglucanes fonctionnalisés xanthate (11).

La présence de la fonction xanthate a également été vérifiée par spectrométrie de RMN ^{13}C (Figure II-12). Le pic à 212,7 ppm est, en effet, caractéristique de la liaison $\text{C}=\text{S}$. De même, le pic à 12,9 ppm est attribuable au carbone méthyle CH_3 de la fonction $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$. On note également la présence du carbone du groupement triazole à 144,9 ppm.

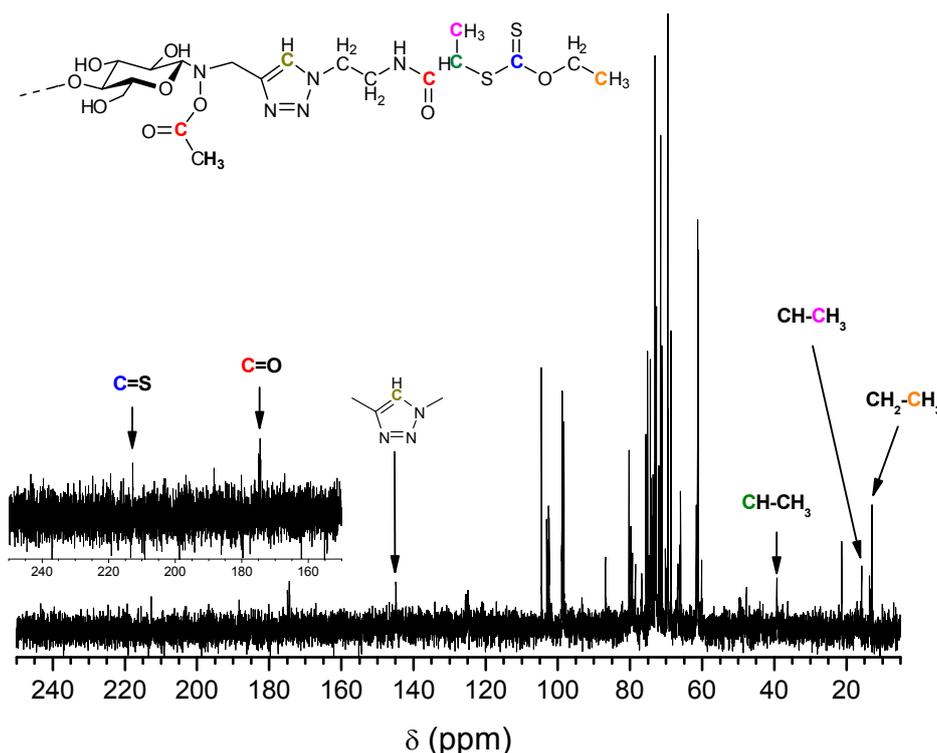


Figure II-12 : Spectre de RMN ^{13}C (D_2O , 298 K) des oligoxyloglucanes fonctionnalisés xanthate (11).

L'analyse par chromatographie d'exclusion stérique de ces oligoxyloglucanes 7 a ensuite été effectuée en phase aqueuse. Le chromatogramme obtenu avec le détecteur réfractométrique révèle la formation d'agrégats lors de l'élution du produit à travers les colonnes (Figure II-13). Des chromatogrammes présentant la même allure sont obtenus pour les intermédiaires de réaction comportant les oligoxyloglucanes (composés 8, 9 et 10). Comme indiqué dans l'étude bibliographique consacrée au xyloglucane de graines de tamarin, des résultats semblables ont été publiés dans la littérature.¹⁹⁹ La formation de tels agrégats

peut être expliquée par l'établissement de liaisons hydrogène entre oligomères de DP 7, ne possédant pas de substituant galactose (Schéma II-13).

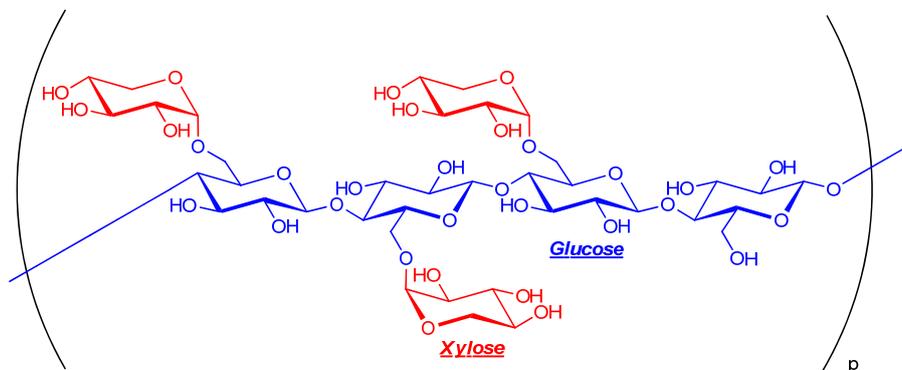


Schéma II-13 : Oligoxyloglucane de DP 7.

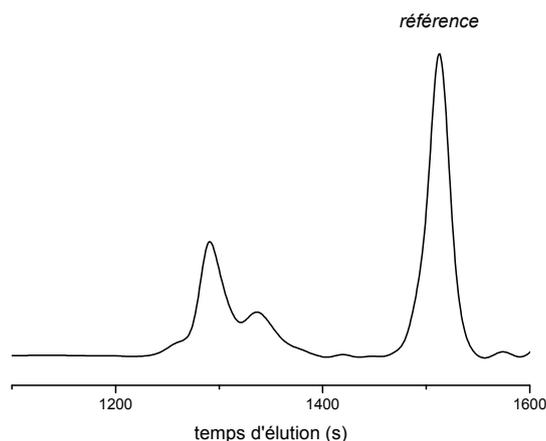


Figure II-13 : Chromatogramme d'exclusion stérique en phase aqueuse du macro-agent de transfert de chaîne 11 -réponse réfractométrique.

Lorsque le produit est analysé par chromatographie d'exclusion stérique à 80°C dans le DMF comme solvant d'élution (Figure II-14), la réponse réfractométrique ne montre plus ces agrégats, ce qui ne laisse aucun doute sur la pureté du composé. De plus, la détection UV à 290 nm donne une réponse avec un faible indice de polymolécularité ($I_p = 1,07$). Celle-ci est caractéristique de l'absorption de la fonction xanthate présente sur les oligoxyloglucanes.

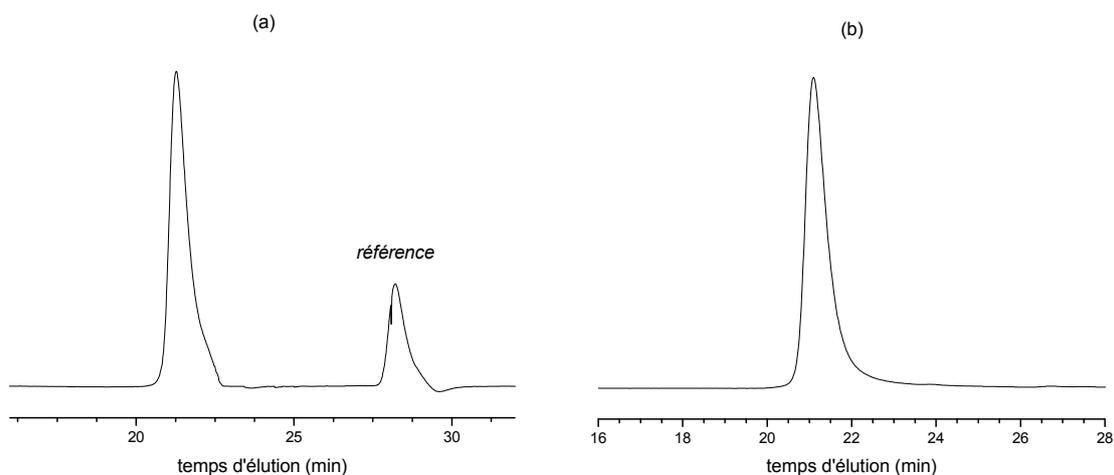


Figure II-14 : Chromatogramme d'exclusion stérique en phase DMF du macro-agent de transfert de chaîne 11 – réponse réfractométrique (a), UV à 290 nm (b).

Les caractéristiques moléculaires du produit 7 sont données ci-dessous (Tableau II-1), en fonction de l'éluant utilisé. Les masses molaires M_n et M_w calculées par CES dans l'eau ne sont pas indiquées de par la présence des agrégats. Il en est de même pour l'indice de polymolécularité

Tableau II-1 : Caractéristiques moléculaires du macro-agent de transfert de chaîne 11.

	CES H ₂ O (réponse réfractométrique) (g/mol) ^a	CES DMF (réponse réfractométrique) (g/mol) ^b
M_w	-	4600
M_n	-	4100
M_p	2740 ; 2580	5500
I_p	-	1,12

^a calibration avec du PEO linéaire, valeurs de la population majoritaire puis minoritaire ; ^b calibration PS

2.5. Conclusion

Afin d'obtenir des copolymères à blocs « hybrides » naturel/synthétique, un polysaccharide, le xyloglucane, a été hydrolysé de façon contrôlée par voie enzymatique pour obtenir trois populations d'oligosaccharides, de DP égal à 7,8 et 9 dans des proportions parfaitement connues. Le couplage par « chimie click » avec un agent de couplage α,ω -

difonctionnel, préalablement préparé à dessein, a permis de préparer un macro-agent de transfert de chaîne de type RAFT/MADIX. Pour plus de confort, nous déclarerons que la fonction xanthate est en position ω des oligoxyloglucanes. Son utilisation au cours de la polymérisation radicalaire contrôlée avec différents monomères vinyliques donnera la possibilité d'obtenir des copolymères à blocs (chapitre III, partie 3.).

3. Méthode « starting from » : modification chimio-enzymatique de xyloglucane et synthèse de l'agent de transfert de chaîne α,ω -difonctionnel

L'objectif est ici de synthétiser un macro-agent de transfert de chaîne saccharidique α,ω -difonctionnel, en vue de la croissance par polymérisation MADIX de deux blocs vinyliques de part et d'autre du bloc glucidique d'origine naturelle. A notre connaissance, des copolymères triblocs de type A-b-B-b-A à partir d'une chaîne glucidique difonctionnelle n'ont jamais été décrits dans la littérature.

En se fondant sur les travaux effectués pour la synthèse du macro-agent de transfert de chaîne monofonctionnel, il a été choisi d'introduire une autre fonction xanthate, mais cette fois sur l'unité non réductrice de l'oligosaccharide, ce qui présente une certaine difficulté (Schéma II-14).

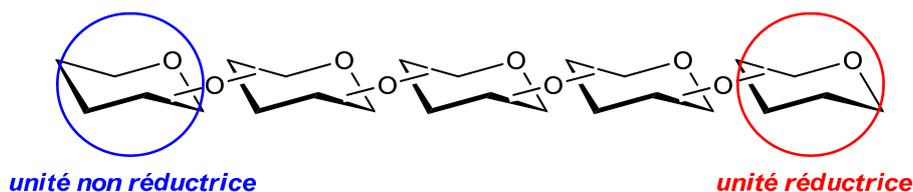


Schéma II-14 : Unités réductrice et non réductrice d'un oligosaccharide.

La modification de l'unité terminale non réductrice d'un oligosaccharide n'est en effet pas aisément réalisable par la voie chimique « classique ». Il a donc été choisi d'utiliser une approche enzymatique pour fonctionnaliser l'extrémité non réductrice des oligoxyloglucanes. Au CERMAV, Fort et al. ont développé une glycosynthase à partir d'*Humicola insolens*, capable de catalyser des réactions de glycosylation.^{200, 201} Cette glycosynthase, la *HiCel7B*

E197A, est obtenue par mutation de l'acide carboxylique nucléophile de la cellulase Cel7B d'*Humicola insolens*. Il s'agit d'une endoglucanase de la famille GH7.

Cette enzyme est capable de condenser un fluorure de lactosyle sur un accepteur oligosaccharidique avec de très bons rendements. L'orientation axiale de l'hydroxyle de la position 4^H autorise en effet le positionnement du lactose dans les sous-sites -2 et -1 de l'enzyme (à l'intérieur du site catalytique, voir Schéma II-15). Contrairement au fluorure de cellobiosyle qui est à la fois donneur et accepteur de glycosyle (il peut donc être polymérisé par l'enzyme), le fluorure de lactosyle peut être transféré sur l'extrémité non réductrice d'un oligosaccharide par une réaction de monocondensation (Schéma II-16).

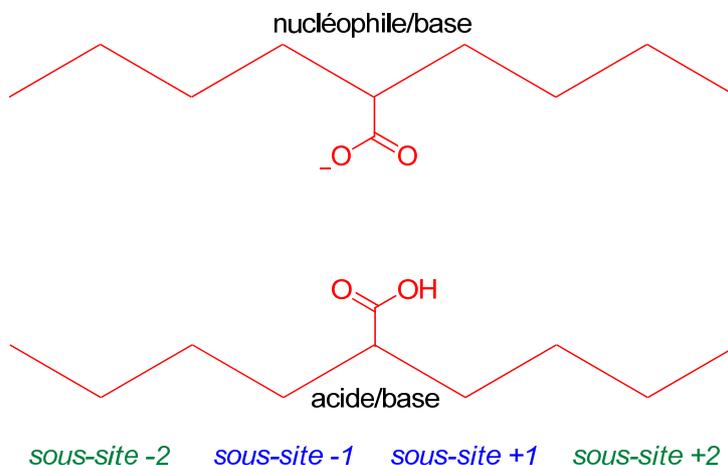
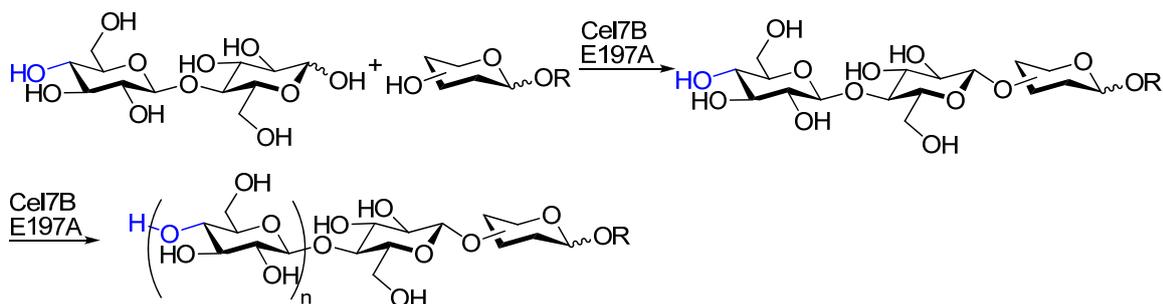


Schéma II-15 : Site actif des glycoside-hydrolases.

(Par convention, les sous-sites de reconnaissance du substrat sont numérotés à partir du site de coupure. Les sous-sites du côté non-réducteur de la liaison à hydrolyser sont numérotés négativement et ceux du côté réducteur sont numérotés positivement)

polycondensation du cellobiose



monocondensation du lactose

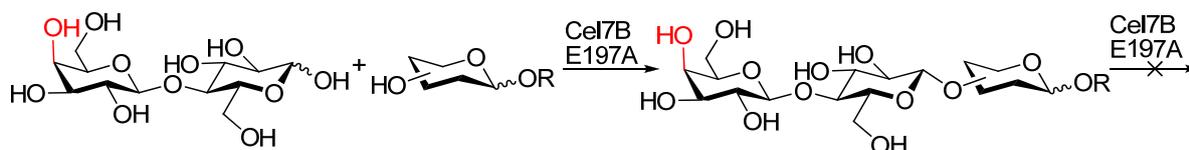


Schéma II-16 : Réactions entre le cellobiose et le lactose avec la glycosynthase Cel7B E197A.

Par ailleurs, il a été démontré que le xyloglucane de graines de tamarin ne possédant pas de résidus galactosyle constitue un bon accepteur de la glycosynthase.^{202, 203}

Il a été décidé d'introduire une fonction bromure sur la position 6^{II} d'un α -fluorure de lactosyle et de le condenser sur l'oligoxyloglucane de DP 7, avant de substituer la fonction bromure par une fonction xanthate (Schéma II-17).

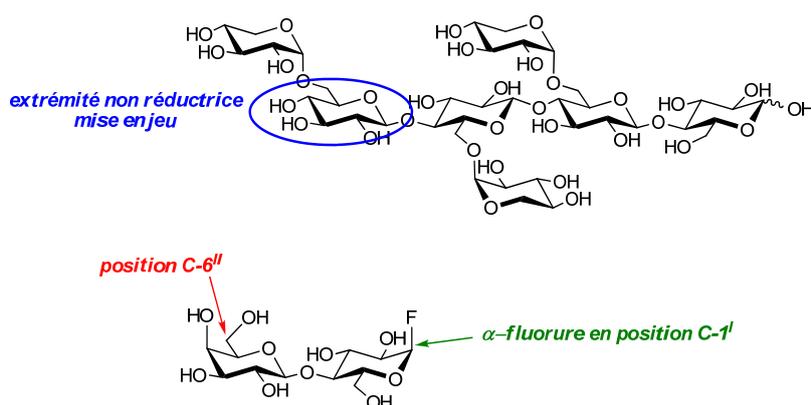
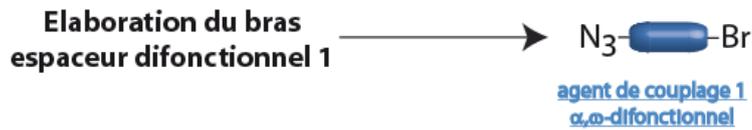


Schéma II-17 : Mise en évidence des centres réactionnels.

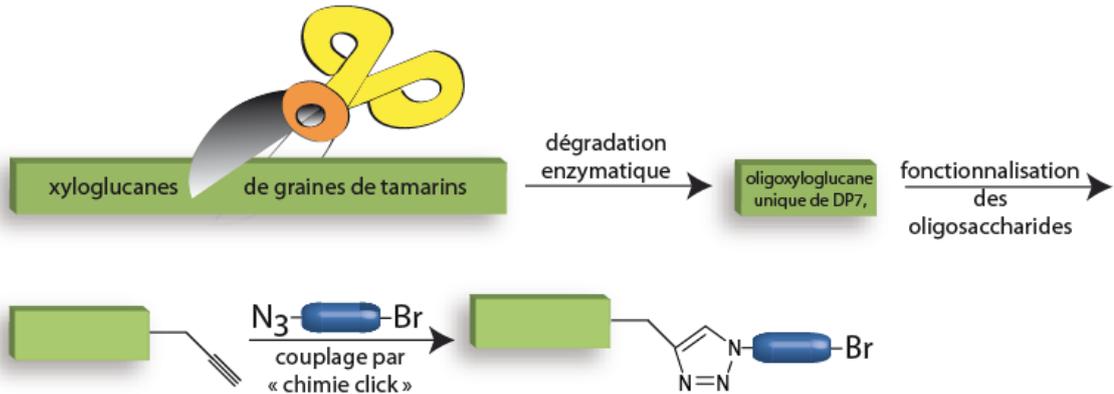
La stratégie de synthèse (Schéma II-18) repose donc sur quatre étapes :

- l'hydrolyse enzymatique contrôlée du polysaccharide offrant un oligosaccharide unique, XXXG (et non pas un mélange d'oligoxyloglucanes de DP 7, 8 et 9),
- la modification chimique de la position anomère de l'oligosaccharide par ancrage du même agent de couplage que précédemment c'est-à-dire porteur d'une fonction bromure et d'une fonction azoture,
- l'incorporation d'une nouvelle fonction bromure sur un dérivé lactosyle, ce dernier étant par la suite condensé par chimie enzymatique sur l'unité non-réductrice du XXXG,
- la transformation des deux fonctions bromure terminales en fonctions xanthate

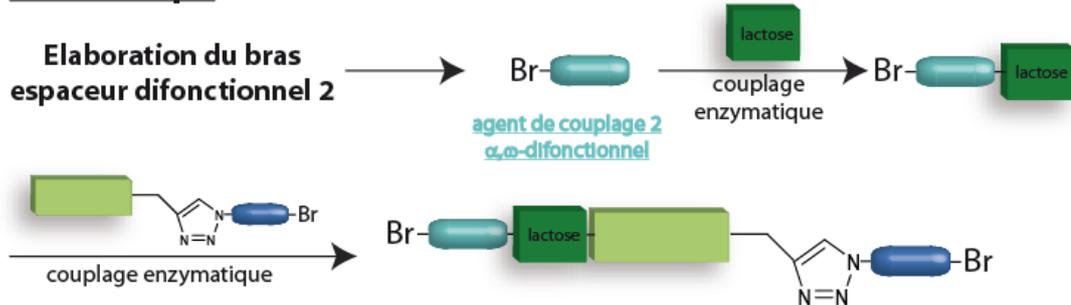
1ère étape



2ème étape



3ème étape



4ème étape

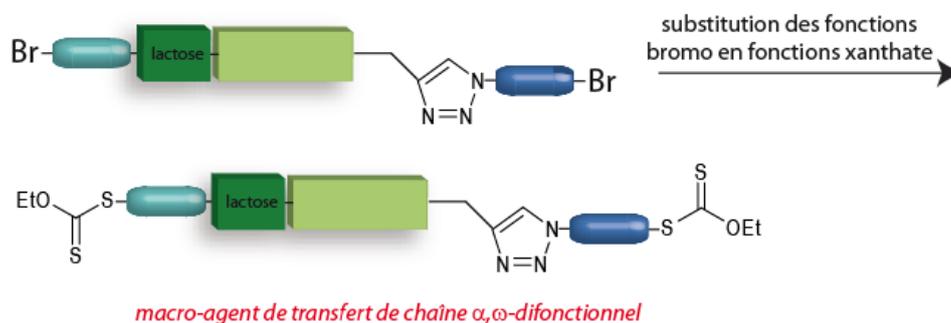


Schéma II-18 : Stratégie de synthèse du macro-agent de transfert de chaîne α,ω -difonctionnel.

La synthèse du premier agent de couplage est rigoureusement identique à celle précédemment décrite (2.1, Schéma II-6) et mène au composé **7**.

3.1. Synthèse de l'oligoxyloglucane par hydrolyse du polysaccharide : obtention de l'heptasaccharide et introduction de la fonction alcyne

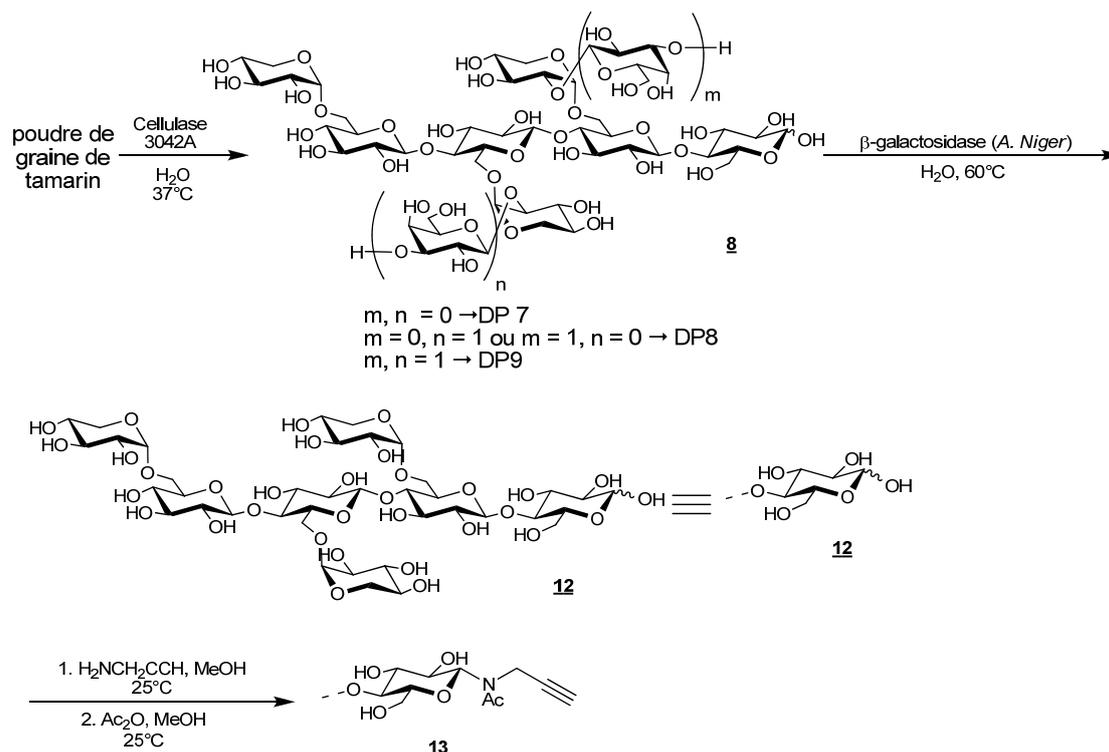


Schéma II-19 : Hydrolyse du xyloglucane et introduction de la fonction alcyne.

La première étape consiste donc à préparer sélectivement l'heptaxyloglucane XXXG. Il est nécessaire pour ceci d'hydrolyser sélectivement les résidus galactosyle des oligoxyloglucanes de DP 8 et 9. Ainsi, York et al. ont décrit l'utilisation d'une enzyme commerciale, la β-D-Galactosidase d'*Aspergillus Niger*, qui permet d'obtenir sélectivement un isomère unique de DP 8.²⁰⁴ Une incubation sur des temps plus longs permet d'éliminer l'ensemble des résidus galactosyle et d'isoler exclusivement l'oligomère de DP 7.

A partir d'une solution de **8** dans l'eau est ajoutée la β-D-Galactosidase d'*Aspergillus Niger*. Après 1h30 d'agitation à 60°C, la solution est portée à ébullition afin de dénaturer l'enzyme. Le produit **12** est purifié par chromatographie d'adsorption sur gel de silice avec une conversion de 55 %. L'hydrolyse contrôlée des oligoxyloglucanes est confirmée par

spectrométrie de masse MALDI-TOF (Figure II-15). On note, en effet, la présence de la population de l'heptasaccharide de DP 7 (1085 m/z $[M+Na]^+$ et 1101 m/z $[M+K]^+$) et l'absence totale de population correspondant aux oligomères de DP 8 et DP 9.

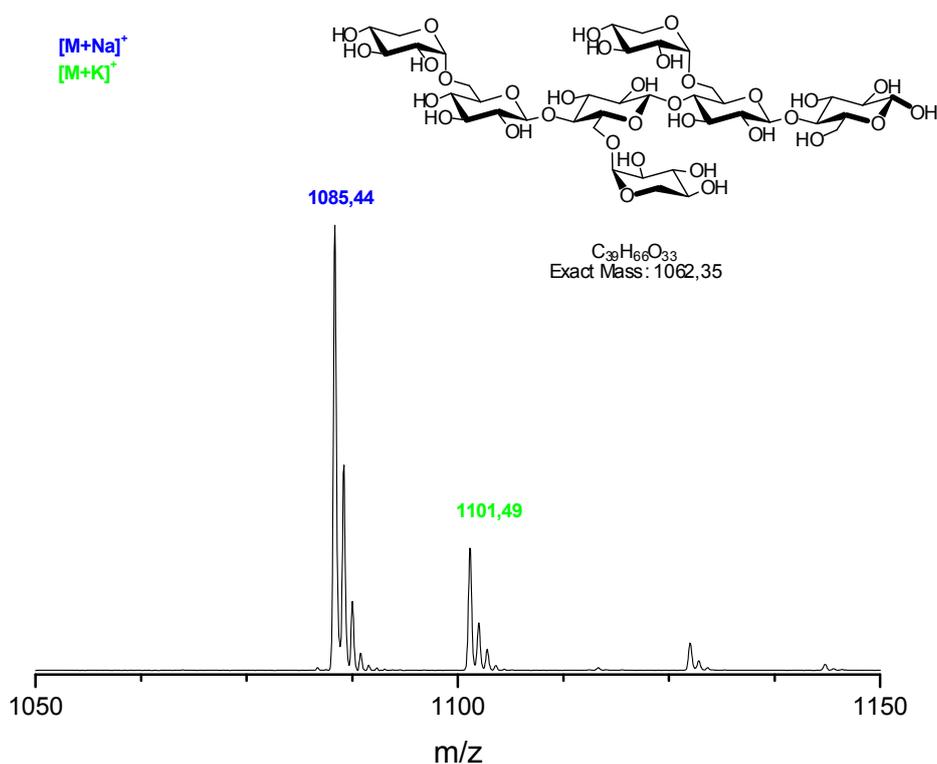


Figure II-15 : Spectre de masse MALDI-TOF de l'oligoxyloglucane de DP égal à 7 (**12**).

Par la suite, afin d'introduire une fonction alcyne et selon la méthode décrite dans le paragraphe 2.2, le composé **12** est mis en suspension dans un excès de *N*-propargylamine suivi d'une étape de *N*-acétylation. Les analyses effectuées par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Figure II-16) sont, là encore, en accord avec les structures attendues : le spectre montre les ions moléculaires obtenus par insertion du sodium (1 164,49 m/z $[M + Na]^+$) et du potassium (1 180, 52 m/z $[M + K]^+$).

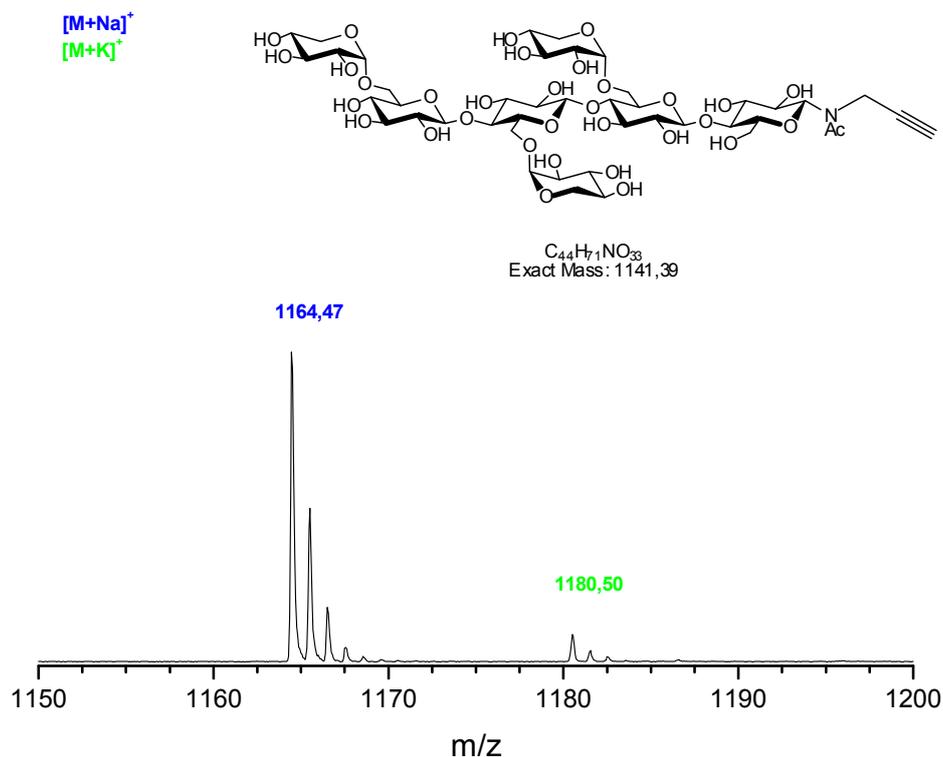


Figure II-16 : Spectre de masse MALDI-TOF du N-propargyle-XXXG (**13**).

L'utilisation d'une enzyme sélectionnée (une cellulase 3042A puis une β -D-Galactosidase d'*Aspergillus Niger*) a ainsi permis d'obtenir un heptasaccharide xyloglucane pur et de taille définie. L'utilisation de la *N*-propargylamine a ensuite permis d'introduire une fonction alcyne sur l'unité réductrice en vue du couplage par « chimie click » avec un composé porteur d'une fonction azoture.

3.2. « Chimie click »

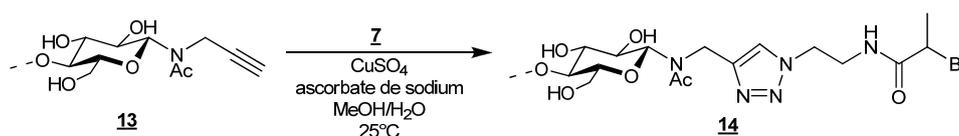


Schéma II-20 : Couplage par « chimie click » de l'oligoxyglucane **13** avec l'agent de couplage **7**.

La chimie « click » visant à coupler le composé **13** porteur de la fonction alcyne, au composé **7** porteur de la fonction azoture est effectuée dans les mêmes conditions que dans la partie 2.4 de ce chapitre. Elle est réalisée en milieu aqueux dans un mélange d'eau et de méthanol pour garantir la solubilité des deux réactifs. La réaction est catalysée par le cuivre Cu^+ issu de la réaction d'oxydo-réduction du sulfate de cuivre avec l'ascorbate de sodium. Le produit attendu est purifié par chromatographie d'adsorption sur gel de silice et est lyophilisé, pour une conversion de 98 %.

L'efficacité du couplage est vérifiée par spectrométrie de RMN ^1H dans le D_2O , attestant de la disparition du signal relatif aux protons de la fonction alcyne tandis que l'absence de pic d'absorption à 2100 cm^{-1} de la fonction azoture peut être notée par spectrométrie infrarouge.

3.3. Modification chimio-enzymatique du lactose et glycosylation

Comme cela a été mentionné précédemment, la stratégie de synthèse consiste à coupler un α -fluorure de lactosyle fonctionnalisé à un XXXG à l'aide de la cellulase Cel7B E197A d'*Humicola insolens*.

L' α -fluorure de lactosyle est préparé en deux étapes décrites dans le Schéma II-21. Dans un premier temps, le lactose peracétylé est traité par un mélange HF/pyridine selon un procédé déjà établi,²⁰¹ afin d'introduire le fluorure en position α . Cette étape est suivie, dans un second temps, par une réaction de méthanolyse des groupements acétate. La solution est neutralisée par ajout de résine Amberlite IR 120, puis le produit est isolé après purification par chromatographie d'adsorption sur gel de silice.

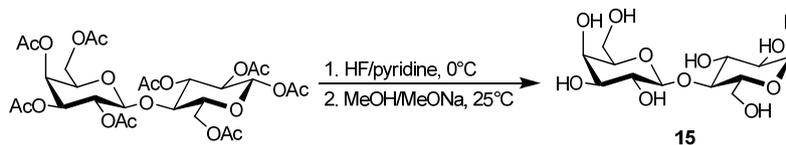


Schéma II-21 : Synthèse de l' α -fluorure de lactosyle.

Ce disaccharide **15** permet alors d'introduire la deuxième fonction bromure par acylation. Cette fonction doit être introduite en position 6^{II} afin de réaliser subséquemment la réaction de glycosylation à l'aide de la glycosynthase.²⁰⁰ La glycochimie est un moyen classique pour y parvenir, mais elle demande de nombreuses étapes de protection/déprotection. De façon intéressante, les lipases catalysent les réactions de transestérification dans les milieux organiques. Cette activité a été étudiée pour acyler de manière sélective les alcools et par transposition, les glucides.^{205, 206}

En 1986, Klivanov et al. ont développé une méthode utilisant la lipase pancréatique porcine dans la pyridine pour acyler préférentiellement les fonctions hydroxyle primaire de monosaccharides (glucose, galactose, mannose et fructose). L'acylation se fait à l'aide d'un ester activé issu du 2,2,2-trichloroéthanol pour augmenter la vitesse de réaction et déplacer l'équilibre vers la formation du monosaccharide substitué. Par la suite, la même équipe a étendu le champ de cette méthode et a, pour la première fois, acylé sélectivement des glucides plus complexes.²⁰⁷ Dans la *N,N'*-diméthylformamide et à l'aide de la protéase subtilisine, ils ont acylé des disaccharides comme le cellobiose et des glycoconjugués comme la saliciline.

Panza et al. ont étudié l'activité d'acylation de différentes lipases et de la subtilisine, sur des disaccharides.²⁰⁸ Ils ont introduit différents agents acylants (issus de 2,2,2-trichloroéthanol et de 2,2,2-trifluoroéthanol) sur une cellobioside, un maltoside et plus particulièrement un lactoside. La lipase de *Candida Antartica* s'est révélée être la meilleure enzyme en terme de régiosélectivité et de rendement. Dans chaque cas, l'acylation se produit préférentiellement sur l'hydroxyle primaire de l'unité non réductrice du disaccharide et avec de très bons rendements.

En se fondant sur ces travaux, un agent acylant permettant d'introduire un groupement bromopropionate a tout d'abord été élaboré.

Celui-ci est obtenu en ajoutant le chlorure de 2-bromopropionyle et la triéthylamine à une solution de 2,2,2-trifluoroéthanol dans le dichlorométhane (Schéma II-22). Le produit est purifié par chromatographie d'adsorption sur gel de silice. La conversion est de 88 %.

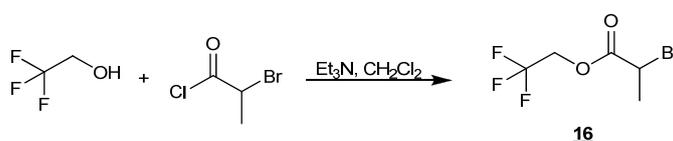


Schéma II-22 : Stratégie de synthèse de l'ester activé, porteur d'une fonction bromure.

L'analyse du produit par spectrométrie de RMN ^{13}C permet d'identifier la structure du produit **16**. (Figure II-17) Les quadruplets (117,3 ppm et 60,8 ppm) attestent par exemple de la présence du groupement $\text{CH}_2\text{-CF}_3$ tandis que le pic à 169 ppm correspond à la fonction carbonyle de l'ester.

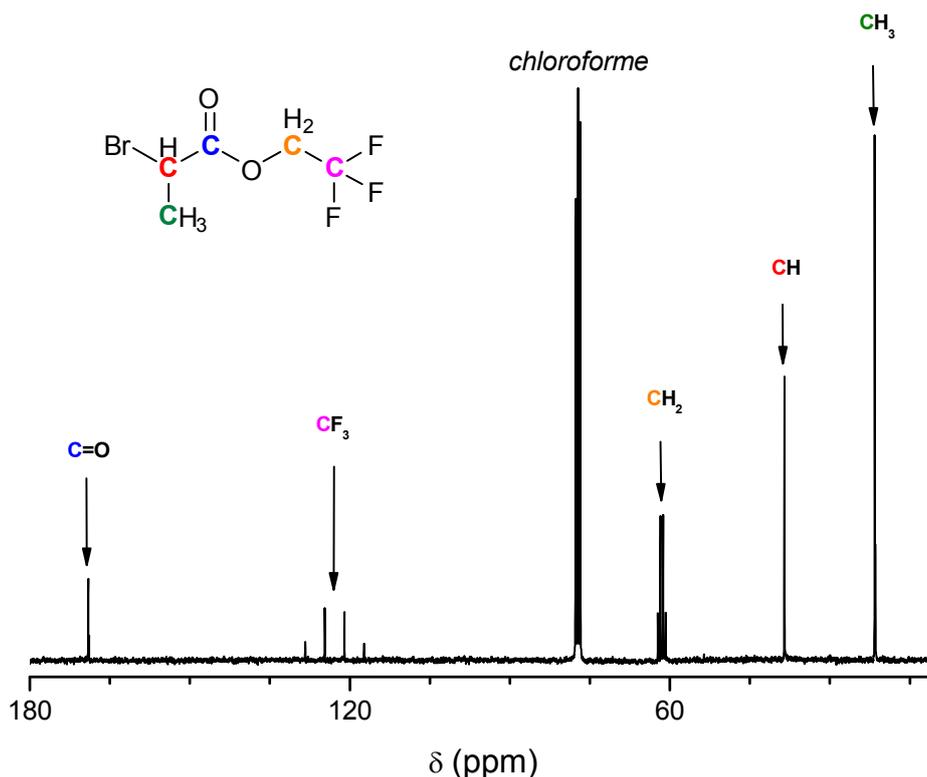


Figure II-17 : Spectre de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 298 K) de l'ester activé, porteur d'une fonction bromure (**16**).

L'acylation régiosélective de l' α -fluorure de lactosyle à l'aide de la lipase de *Candida antartica* est réalisée selon les conditions décrites par Panza et al (Schéma II-23).²⁰⁸

L' α -fluorure de lactosyle et le composé **16** sont placés dans une solution d'alcool *tert*-amylique. La lipase immobilisée de *Candida antartica* (Novozym 435) est par la suite introduite dans le milieu réactionnel puis la suspension est agitée mécaniquement à 40°C. La consommation totale de l' α -fluorure de lactosyle est suivie par chromatographie sur couche

mince. Le produit est obtenu avec une conversion de 60 % après purification par chromatographie d'adsorption sur gel de silice.

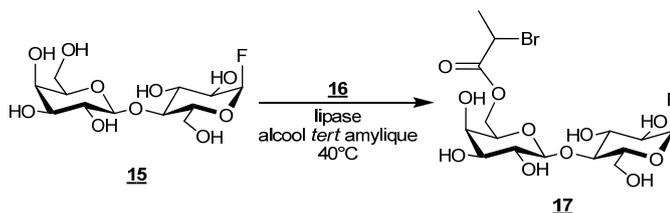


Schéma II-23 : Obtention par acylation enzymatique de l' α -fluorure de 6^{II}-2-bromopropionyle-lactosyle (17).

La spectrométrie de masse en mode électrospray ESI confirme la présence du produit ciblé (Figure II-18). Un amas isotopique à 494 m/z correspondant à l'ion moléculaire obtenu par insertion de l'ammonium $[M + NH_4]^+$ est en effet détecté.

La fonctionnalisation précise de l' α -fluorure de lactosyle en position 6 du disaccharide sera démontrée par le succès de l'étape de glycosylation ultérieure.

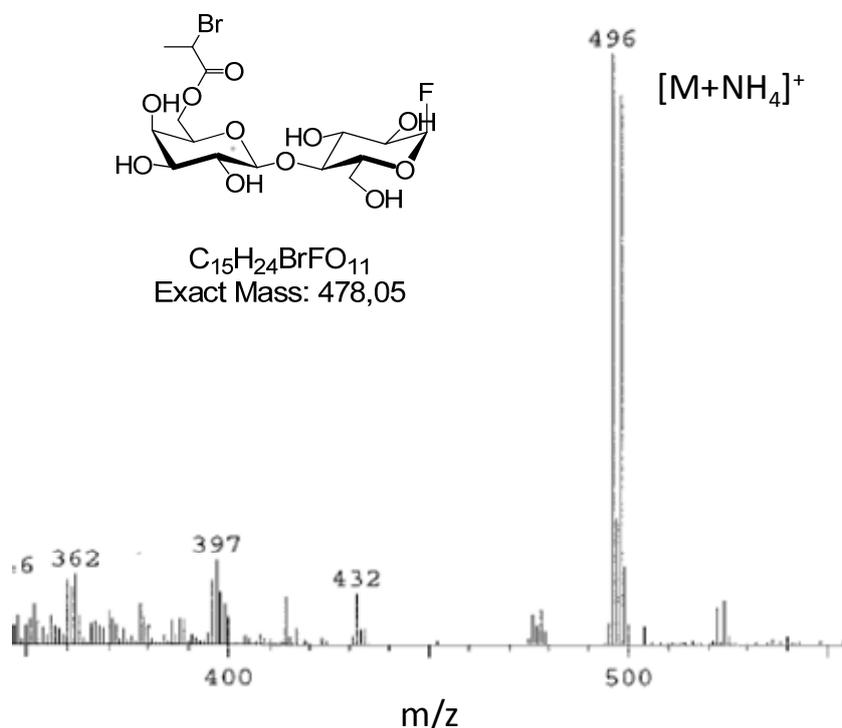


Figure II-18 : Spectre de masse ESI de l' α -fluorure de 6^{II}-2-bromopropionyle-lactosyle (17).

A partir des deux substrats **14** et **17**, la réaction de glycosylation est effectuée dans les mêmes conditions que celles décrites dans la littérature (Schéma II-24).²⁰⁰ L'heptaxyloglucane **14** et l' α -fluorure de 6^{II}-2-bromopropionate-lactosyle **17** sont placés à 40°C dans une solution tampon phosphate à pH 7. La glycosynthase Cel7B E197A d'*Humicola insolens* est par la suite introduite dans le milieu réactionnel, puis la solution est agitée mécaniquement à 40°C. Le produit est isolé avec une conversion proche de 100 %, après purification par chromatographie d'adsorption sur gel de silice.

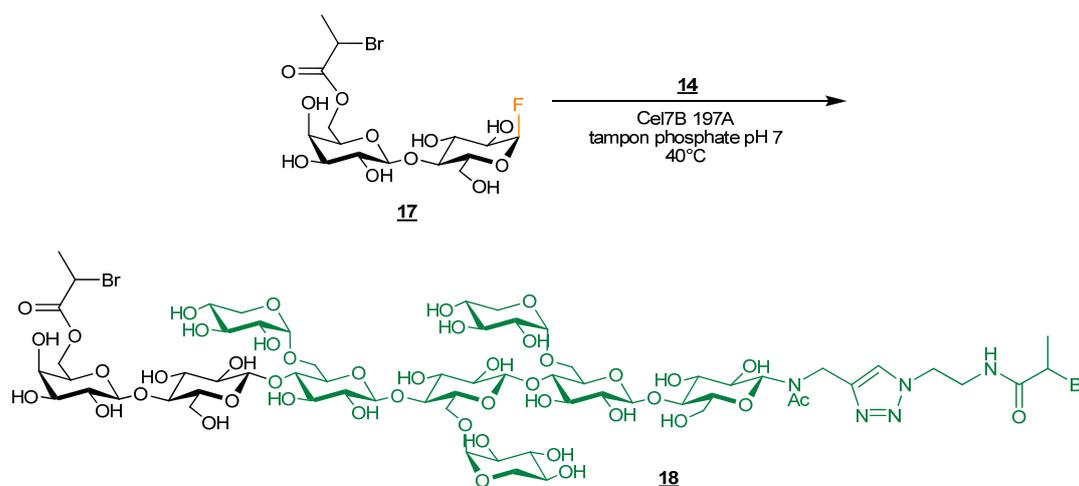


Schéma II-24 : Obtention du α,ω -dibromo-oligoxyloglucane **18 par glycosylation à l'aide de la glycosynthase Cel7B E197A.**

Le produit est caractérisé par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Figure II-19). On observe une population à 1842,42 m/z $[M + Na]^+$ caractéristique de l'ion moléculaire du produit **18**. On observe également des populations correspondant à la fragmentation d'un seul atome de brome issu de **18** (1762,46 m/z $[M + Na]^+$) ou de deux atomes de brome (1684 m/z $[M + Na]^+$).

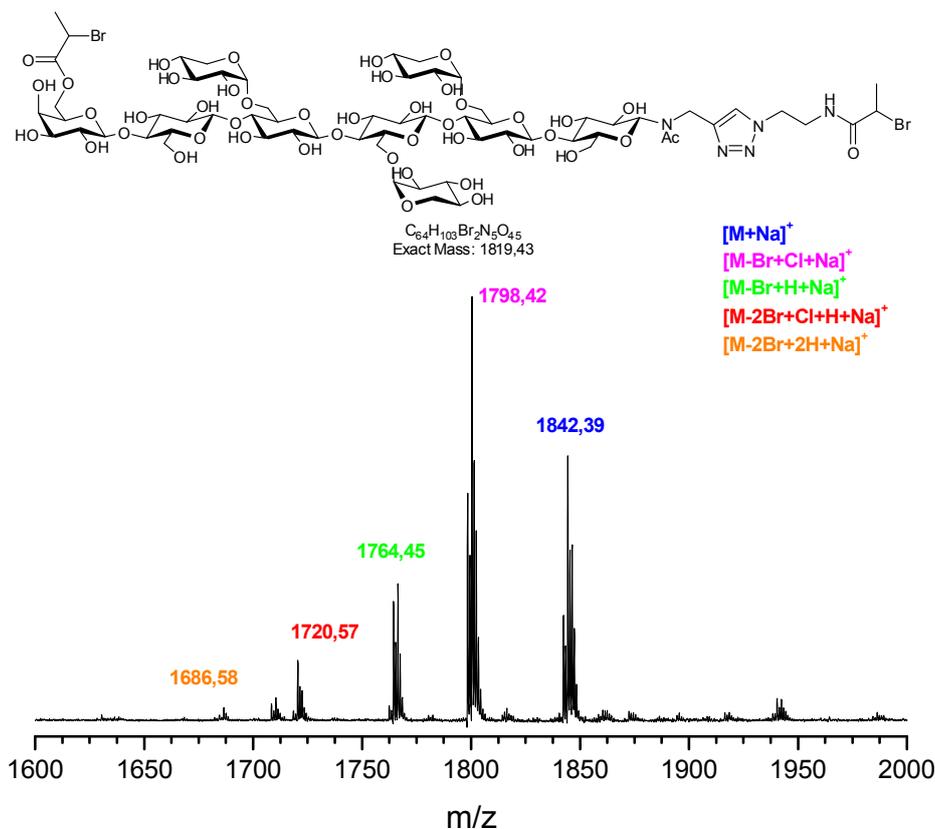


Figure II-19 : Spectre de masse MALDI-TOF du α,ω -dibromo-oligoxyglucane **18**.

En utilisant la chimie enzymatique il a donc été possible de modifier l'unité non réductrice d'un oligoxyglucane de DP égal à 7. Cela a été réalisé par couplage de l'oligosaccharide avec de l' α -fluorure de lactosyle, à l'aide de la glycosynthase Cel7B 197A d'*Humicola insolens*. Cet α -fluorure de lactosyle est lui-même porteur d'une fonction bromure introduite spécifiquement en position 6^{II} par réaction enzymatique avec une lipase. Les deux fonctions bromure permettent alors d'envisager leur substitution nucléophile par un sel de xanthate.

3.4. Transformation en macro-agent de transfert de chaîne réversible

La réaction de substitution par action de l'*O*-éthylxanthate de potassium permettant d'obtenir le macro-agent de transfert de chaîne α,ω -hétérodifonctionnel est effectuée dans les

mêmes conditions que celles présentées dans la partie 2.4. de ce chapitre (Schéma II-25). Elle est réalisée dans le DMF à 25°C pendant 3h en présence d'un excès de sel de xanthate (1,5 éq. par rapport aux fonctions bromo du produit **18**). Un rendement de 48 % est obtenu, pouvant sûrement être augmenté en effectuant la réaction à 40°C comme ce fut le cas précédemment.

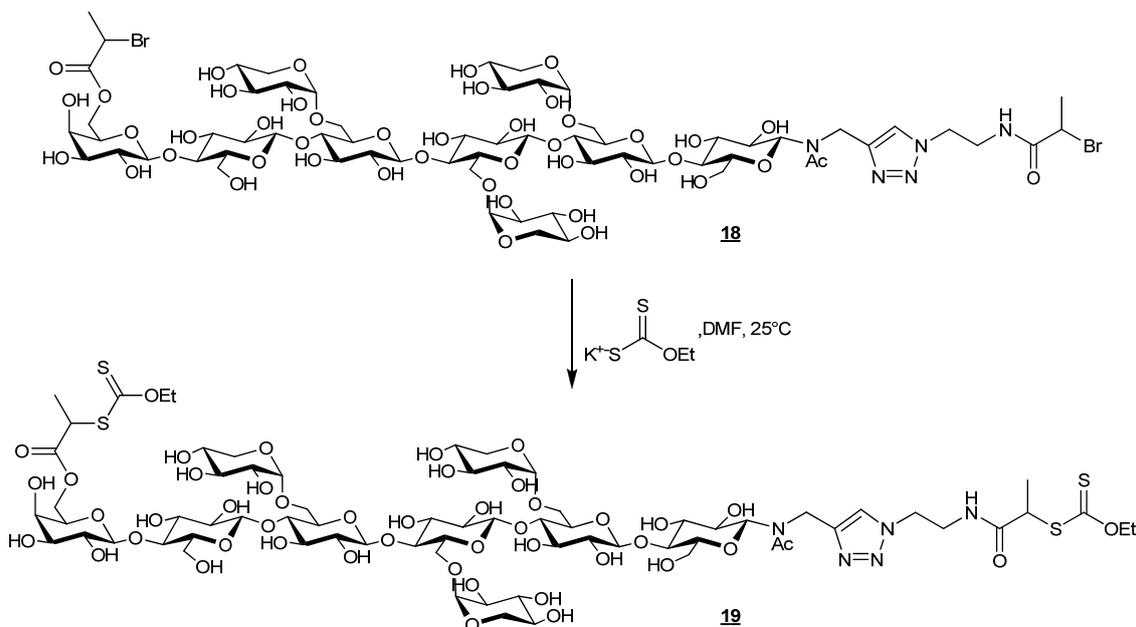


Schéma II-25 : Synthèse du macro-agent de transfert de chaîne **19 par action de l'O-éthylxanthate de potassium.**

La caractérisation par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Figure II-20) permet de mettre en évidence la présence du produit ciblé **19** possédant les deux fonctions xanthate, avec notamment le massif à 1926,57 m/z [M + Na]⁺. On note aussi sur le spectre la présence de produits de fragmentation correspondant par exemple à l'élimination d'une ou de deux fonctions xanthate (1806,55 m/z [M + Na]⁺ et 1686,57 m/z [M + Na]⁺) ou bien le produit de la substitution de la fonction xanthate par un atome de chlore (1838,59 m/z [M + Na]⁺).

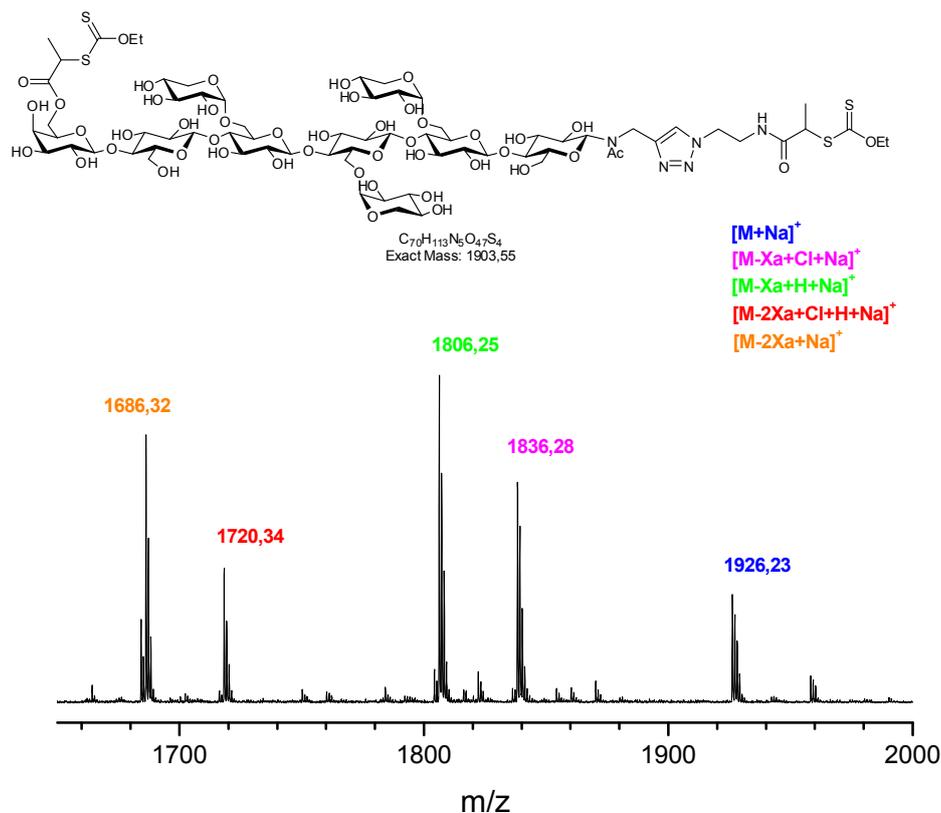


Figure II-20 : Spectre de masse MALDI-TOF du macro-agent de transfert de chaîne **19**.

Afin de suivre l'évolution des masses molaires lors de la croissance du bloc vinylique, le macro-agent de transfert de chaîne **19** a également été caractérisé par chromatographie d'exclusion stérique. En phase aqueuse (H_2O/NaN_3) (Figure II-21), tout comme le produit monofonctionnel **11** déjà décrit, la réponse réfractométrique du composé **19** difonctionnel révèle la formation d'agrégats lors de l'élution à travers les colonnes d'exclusion stérique.

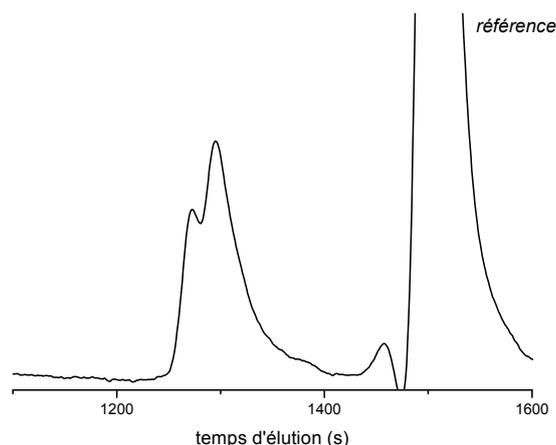


Figure II-21 : Chromatogramme d'exclusion stérique en phase aqueuse du macro-agent de transfert de chaîne 19 (réponse réfractométrique).

Cependant, l'analyse par chromatographie d'exclusion stérique avec détection réfractométrique dans le DMF à 80°C (Figure II-22), permet d'éviter la formation de ces agrégats tandis que la détection UV à une longueur d'onde de 290 nm, caractéristique de la fonction xanthate, fournit une distribution symétrique et unimodale, attestant du caractère bien défini du composé.

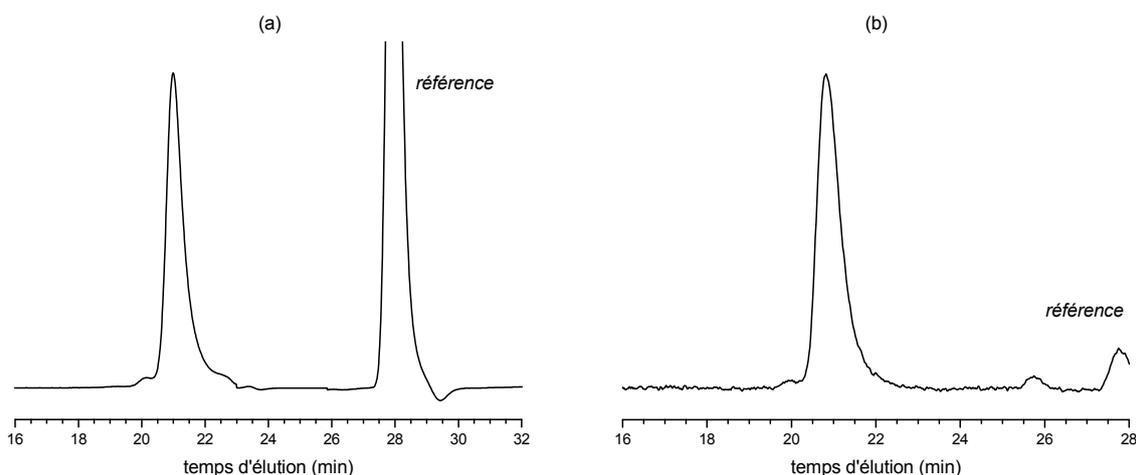


Figure II-22 : Chromatogramme d'exclusion stérique en phase DMF du macro-agent de transfert de chaîne 19 – réponse (a) réfractométrique, (b) UV à 290 nm.

Les caractéristiques moléculaires du produit **19** sont données ci-dessous (Tableau II-2), en fonction de l'éluant utilisé en CES. Les masses molaires M_n et M_w calculées par CES dans l'eau ne sont pas indiquées de par la présence des agrégats. Il en est de même pour l'indice de polymolécularité.

Tableau II-2 : Caractéristiques moléculaires du macro-agent de transfert de chaîne **19.**

	CES H ₂ O (réponse réfractométrique) (g/mol) ^a	CES DMF (réponse réfractométrique) (g/mol) ^b
M_w	-	5800
M_n	-	5600
M_p	3090 ; 2370	6000
I_p	-	1,03

^a calibration avec du PEO linéaire, valeurs de la population majoritaire puis minoritaire ; ^b calibration PS

3.5. Conclusion

En tirant les bénéfices de la spécificité et de la sélectivité des réactions enzymatiques, il a été possible de modifier de manière unique l'unité non réductrice d'un oligoxyloglucane de DP égal à 7. L'utilisation d'une lipase pour incorporer de façon régiosélective un agent de couplage sur un α -fluorure de lactosyle, ainsi que l'utilisation de la glycosynthase Cel7B E197A d'*Humicola insolens* pour coupler en une seule étape ce lactosyle fonctionnalisé à l'heptaxyloglucane, a permis d'introduire une deuxième fonction xanthate. Ceci permet donc d'accéder à un macro-agent de transfert de chaîne que nous qualifierons α,ω -difonctionnel (la fonction xanthate est de part et d'autre de la chaîne de xyloglucane). Son utilisation au cours de la polymérisation MADIX d'un monomère vinylique (chapitre III, partie 4) donnera la possibilité d'obtenir des copolymères triblocs B-b-A-b-B avec un bloc glucidique central, jamais encore décrits dans la littérature.

4. Méthode « coupling onto » : modification chimio-enzymatique de xyloglucane et synthèse de macro-agent de transfert de chaîne

Cette méthode, différente de la précédente (méthode « starting from » des parties 2 et 3), consiste à synthétiser séparément le bloc saccharidique de xyloglucane et le bloc vinylique. Chaque bloc est porteur d'une fonction antagoniste (alcyne et azoture) permettant leur couplage ultérieur par « chimie click ».

La méthode de synthèse du bloc saccharidique porteur de la fonction alcyne a déjà été présentée précédemment (parties 2.2 et 2.3 de ce chapitre). Nous nous intéressons ci-dessous à la préparation de l'agent de transfert de chaîne MADIX porteur à la fois de la fonction azoture et de la fonction xanthate. La polymérisation de monomères vinyliques à l'aide de cet agent de transfert permettra d'obtenir un bloc vinylique qui sera couplé au bloc saccharidique (chapitre IV).

Nous nous sommes basés sur les résultats de la synthèse du produit **7**, déjà décrit dans la partie 2.1 de ce chapitre, pour parvenir au composé désiré (Schéma II-26).

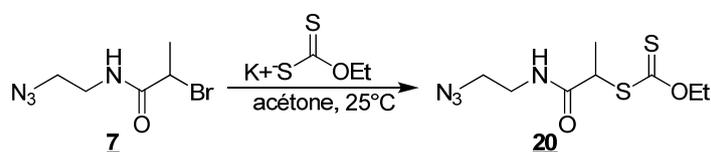


Schéma II-26 : Synthèse de l'agent de couplage **20** porteur d'une fonction xanthate.

Le produit **7** est mis en solution dans l'acétone en présence du sel d'O-éthylxanthate de potassium. La solution est maintenue sous agitation magnétique à température ambiante pendant 5h. Le produit est isolé après purification par chromatographie d'adsorption sur gel de silice.

La spectrométrie infrarouge permet de vérifier que la fonction azoture est toujours présente (pic d'absorption à 2100 cm^{-1} , Figure II-23) tandis que la spectrométrie RMN ^{13}C confirme la présence de la fonction xanthate par la présence du pic à 213,4 ppm où résonne la liaison C=S (Figure II-24).

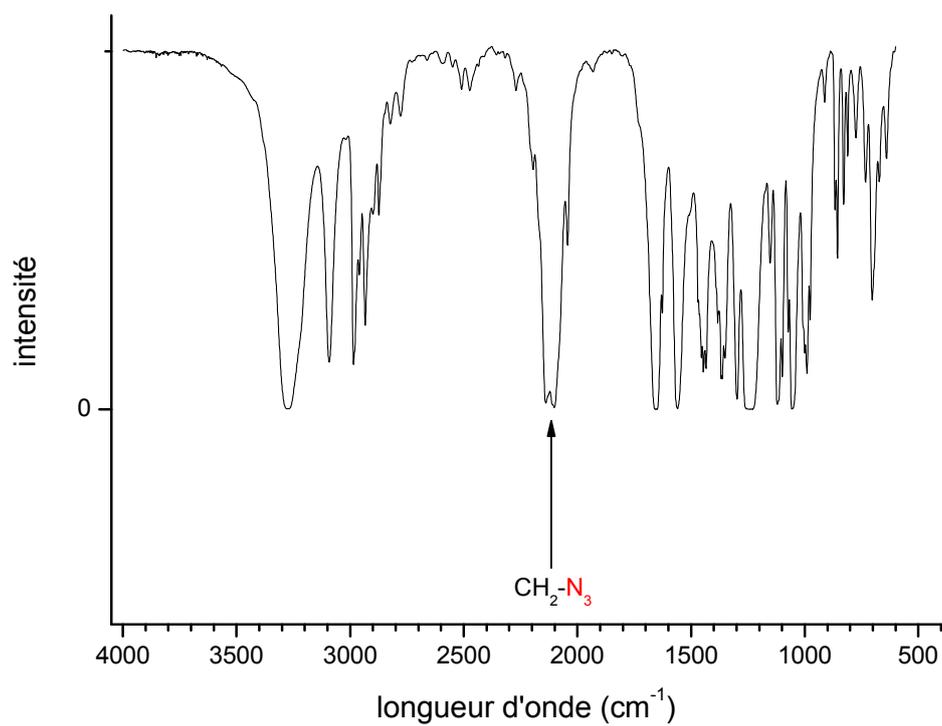


Figure II-23 : Spectre IR de l'agent de couplage 20 porteur d'une fonction xanthate.

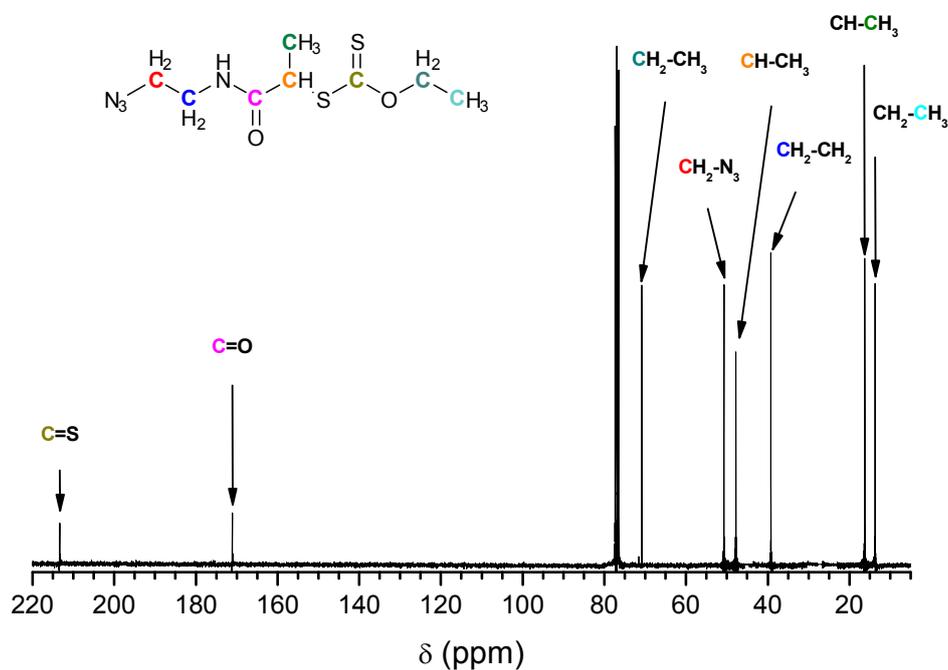


Figure II-24 : Spectre de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 298 K) de l'agent de couplage **20** porteur d'une fonction xanthate.

5. Conclusion

Pour développer notre méthodologie permettant d'associer une partie glucidique d'origine naturelle à une partie vinylique synthétique, dans une architecture de copolymères à blocs, deux approches ont été suivies. La première consiste à faire croître le bloc vinylique par polymérisation MADIX **à partir** du bloc saccharidique modifié (méthode « starting from »). Suivant une deuxième approche, chaque bloc est synthétisé séparément (par voie chimio-enzymatique et par polymérisation radicalaire contrôlée pour former le bloc glucidique et vinylique, respectivement) et les deux homopolymères sont **couplés** par « chimie click » (méthode « coupling onto »).

Dans le cadre de la méthode « starting from » (chapitre III), nous nous sommes fondés sur la glycochimie, la chimie enzymatique et la chimie « click », pour hydrolyser d'abord le

xyloglucane issu des graines de tamarin, puis pour le modifier au niveau de son extrémité réductrice, avant d'introduire un agent de couplage permettant l'obtention d'un macro-agent de transfert de chaîne ω , -monofonctionnel. Celui-ci permettra d'aboutir à des copolymères à blocs A-*b*-B après polymérisation MADIX. Selon la même méthode et en utilisant une lipase ainsi qu'une glycosynthase, une deuxième fonction xanthate a été introduite sur l'unité non réductrice d'un heptaxyloglucane (DP 7), offrant un macro-agent de transfert de chaîne α, ω -difonctionnel. Ce dernier ouvre la voie à des copolymères à blocs B-*b*-A-*b*-B avec un bloc glucidique central qui n'est pas décrite dans la littérature.

Dans le cadre de la méthode « coupling onto » (chapitre IV), un oligosaccharide de xyloglucane destiné à être couplé par chimie « click » a été synthétisé. Ce dernier sera couplé à un polymère vinylique obtenu par polymérisation MADIX avec un nouvel agent de transfert de chaîne α, ω -difonctionnel.

Références Bibliographiques

176. Gothelf, K. V.; Jorgensen, K. A., *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 863-910.
177. Tornøe, C. W.; Meldal, M., "Peptides 2001, Proc. Am. Pept. Symp.". In M. Lebl, R. A. Houghten, Eds., American Peptide Society and Kluwer Academic Publishers, San Diego, **2001**; pp 263–264.
178. Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.
179. Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M., *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057-3064.
180. Binder, W. H.; Sachsenhofer, R., *Macromol. Rapid Commun.* **2007**, *28*, 15-54.
181. Lutz, J.-F., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1018-1025.
182. Gil, M. V.; Arellano, M. J.; López, O., *Synthesis* **2007**, 1589-1620.
183. Li, Y.; Ju, Y.; Zhao, Y. F., *Chinese J. Org. Chem.* **2006**, *26*, 1640-1646.
184. Moses, J. E.; Moorhouse, A. D., *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1249-1262.
185. Meldal, M., *Macromol. Rapid Commun.* **2008**, *29*, 1016-1051.
186. Lecolley, F.; Tao, L.; Mantovani, G.; Durkin, I.; Lautru, S.; Haddleton, D. M., *Chemical Communications* **2004**, 2026-2027.
187. Benalil, A.; Carboni, B.; Vaultier, M., *Tetrahedron* **1991**, *47*, 8177-8194.
188. Vodenicarová, M.; Drímalová, G.; Hromádková, Z.; Malovíková, A.; Ebringerová, A., *Ultrason. Sonochem.* **2006**, *13*, 157-164.
189. Yaoi, K.; Kondo, H.; Noro, N.; Suzuki, M.; Tsuda, S.; Mitsuishi, Y., *Structure* **2004**, *12*, 1209-1217.
190. Lockhoff, O.; Stadler, P., *Carbohydr. Res.* **1998**, *314*, 13-24.
191. Spevak, W.; Dasgupta, F.; Hobbs, C. J.; Nagy, J. O., *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3417-3422.
192. Perez-Balderas, F.; Ortega-Munoz, M.; Morales-Sanfrutos, J.; Hernandez-Mateo, F.; Calvo-Flores, F. G.; Calvo-Asin, J. A.; Isac-Garcia, J.; Santoyo-Gonzalez, F., *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1951-1954.
193. Halila, S.; Manguian, M.; Fort, S.; Cottaz, S.; Hamaide, T.; Fleury, E.; Driguez, H., *Macromol. Chem. Phys.* **2008**, *209*, 1282-1290.
194. Duus, F., Thiocarbonyl compounds. In *Comprehensive Organic Chemistry*, Barton, D. H. R.; Ollis, W. D., Eds. Pergamon Press, Oxford, **1979**; Vol. 3, pp 373-487.

195. Zard, S. Z., The Radical Chemistry of Thiocarbonylthio Compounds: An Overview. In *Handbook of RAFT Polymerization*, Wiley-VCH, Weinheim, **2008**; pp 151-187.
196. Mielczarski, J.; Werfel, F.; Suoninen, E., *Applications of Surface Science* **1983**, *17*, 160-174.
197. Leppinen, J. O., *Int. J. Miner. Process.* **1990**, *30*, 245-263.
198. Jiang, X.; Schoenmakers, P. J.; van Dongen, J. L. J.; Lou, X.; Lima, V.; Brokken-Zijp, J., *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 5517-5524.
199. Lang, P.; Kajiwara, K., *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.* **1993**, *4*, 517-528.
200. Fort, S.; Boyer, V.; Greffe, L.; Davies, G. J.; Moroz, O.; Christiansen, L.; Schulein, M.; Cottaz, S.; Driguez, H., *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5429-5437.
201. Fort, S.; Christiansen, L.; Schulein, M.; Cottaz, S.; Driguez, H., *Isr. J. Chem.* **2000**, *40*, 217-221.
202. Fauré, R.; Cavalier, D.; Keegstra, K.; Cottaz, S.; Driguez, H., *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, *2007*, 4313-4319.
203. Fauré, R.; Saura-Valls, M.; Brumer, H.; Planas, A.; Cottaz, S.; Driguez, H., *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 5151-5161.
204. York, W. S.; Harvey, L. K.; Guillen, R.; Alberhseim, P.; Darvill, A. G., *Carbohydr. Res.* **1993**, *248*, 285-301.
205. Zaks, A.; Klivanov, A. M., *Science* **1984**, *224*, 1249-1251.
206. Zaks, A.; Klivanov, A. M., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1985**, *82*, 3192-3196.
207. Riva, S.; Chopineau, J.; Kieboom, A. P. G.; Klivanov, A. M., *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 584-589.
208. Lay, L.; Panza, L.; Riva, S.; Khitri, M.; Tirendi, S., *Carbohydr. Res.* **1996**, *291*, 197-204.

SYNTHESE DE
COPOLYMERES A BLOCS
« HYBRIDES »
XYLOGLUCANE
/POLYMERE VINYLIQUE
PAR LA VOIE « STARTING
FROM »

1.	Introduction	128
2.	Présentation de la polymérisation MADIX.....	130
3.	Synthèse de copolymères à blocs xyloglucane- <i>b</i> -polymère vinylique à partir du macro-agent de transfert de chaîne oligoxyloglucane ω -monofonctionnel 11	135
3.1.	Synthèse de copolymères à blocs XG- <i>b</i> -PAm par polymérisation MADIX de l'acrylamide.....	135
3.2.	Synthèse de copolymères à blocs XG- <i>b</i> -PAcV par polymérisation MADIX de l'acétate de vinyle.....	146
3.3.	Synthèse de copolymères à blocs XG- <i>b</i> -PNVP par polymérisation MADIX de la <i>N</i> -vinyl-2-pyrrolidone	151
4.	Synthèse de copolymères à blocs PAm- <i>b</i> -XG- <i>b</i> -PAm à partir du macro-agent de transfert de chaîne oligoxyloglucane α,ω -difonctionnel.....	155
5.	Conclusion.....	160

1. Introduction

Les propriétés des glucides telles que la biodégradabilité, la biocompatibilité, la reconnaissance moléculaire, ainsi que leur hydrophilie, ont conduit la communauté des polyméristes à s'intéresser à ces composés d'origine naturelle.²⁰⁹⁻²¹¹ Leur utilisation dans un composé macromoléculaire en association avec d'autres polymères (naturels ou non) a été étudiée afin de tirer profit de ces propriétés. Ainsi, comme illustré dans la partie bibliographique de ce manuscrit, trois types de polymères glycosidiques sont décrits dans la littérature : les copolymères greffés, les glycopolymères issus de glycomonomères et les copolymères à blocs. Ces derniers ont été assez peu étudiés (on dénombre une trentaine d'articles depuis le premier exemple de Pfannemüller en 1984) ; l'intérêt de ce type d'architecture est de pouvoir moduler leur auto-assemblage en solution.

Dans ce chapitre, nous décrivons la méthodologie « starting from » (Figure III-) permettant la synthèse des copolymères à blocs « hybrides » à partir des macro-agents de transfert de chaîne (macro-CTA) **11** et **19** à base d'oligoxyloglucanes ω -xanthate et α,ω -xanthate (Schéma III-). Rappelons que l'un des atouts d'une telle approche est de s'affranchir de l'utilisation de groupes protecteurs des fonctions hydroxyle de l'oligosaccharide, contrairement à ce qui est généralement décrit dans la littérature pour la synthèse de copolymères « hybrides » similaires.

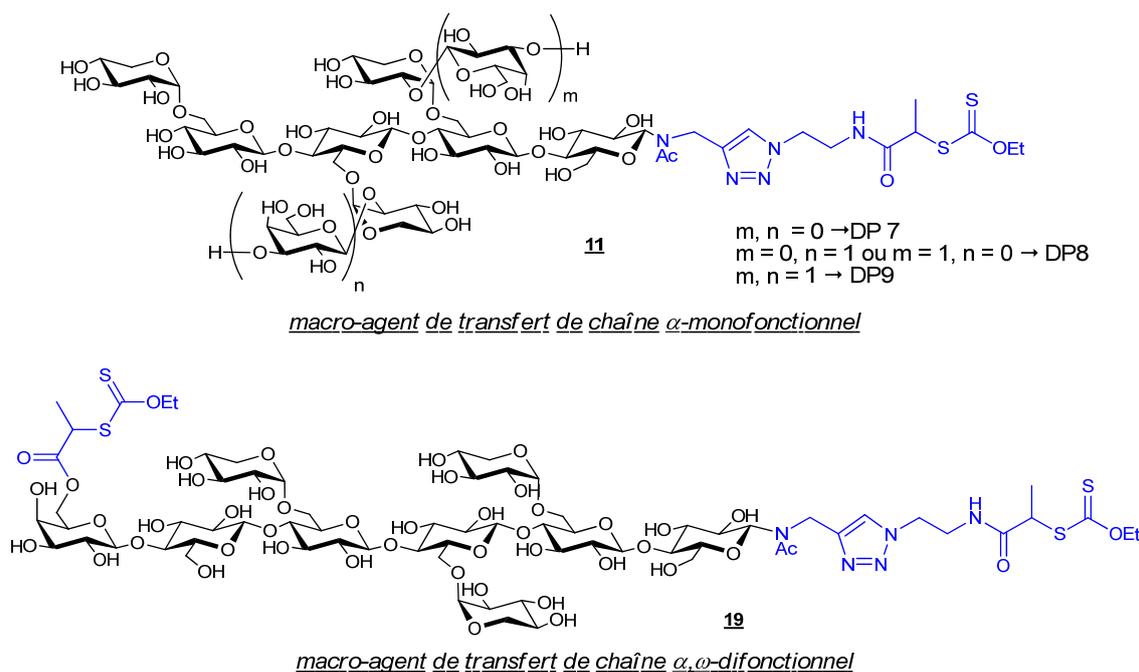


Schéma III-1 : Présentation des macro-agents de transfert de chaîne 11 et 19.

La croissance des blocs vinyliques s'effectue par polymérisation radicalaire contrôlée (PRC), fondée sur l'établissement d'un équilibre entre espèces actives (propageantes) et espèces dormantes (non propageantes).²¹²⁻²¹⁴ Parmi les principales méthodes de PRC existantes (ATRP, NMP et RAFT)²¹⁵, nous avons opté pour celle impliquant un transfert réversible procédant par addition-fragmentation désignée RAFT/MADIX pour « reversible addition fragmentation transfer » et « macromolecular design by interchange of xanthate ».²¹⁶ Les polymérisations ont été effectuées en solution, préférentiellement en milieu aqueux, selon la nature du bloc vinylique visé.

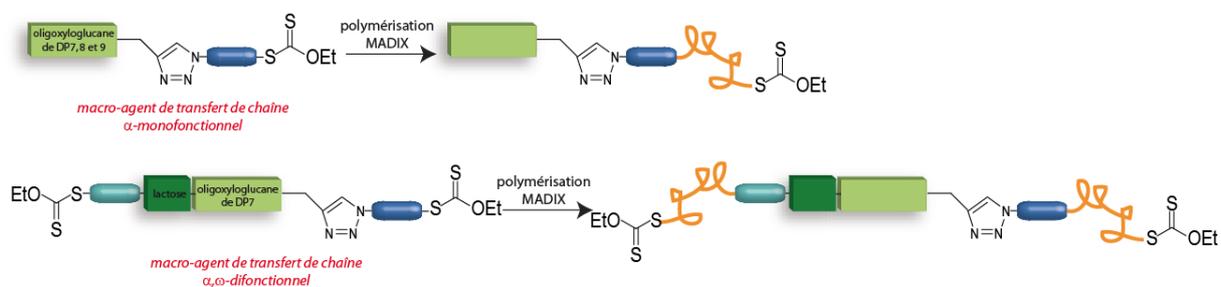


Figure III-1 : Méthodologie de synthèse « starting from ».

2. Présentation de la polymérisation MADIX

La méthode RAFT /MADIX est une technique de polymérisation radicalaire contrôlée qui repose sur la capacité d'un composé organique à induire un transfert « dégénératif », en ce sens que le transfert est réversible contrairement aux réactions de transfert classiques (irréversibles) produisant des chaînes « mortes », incapables de poursuivre la polymérisation (Schéma III-2).

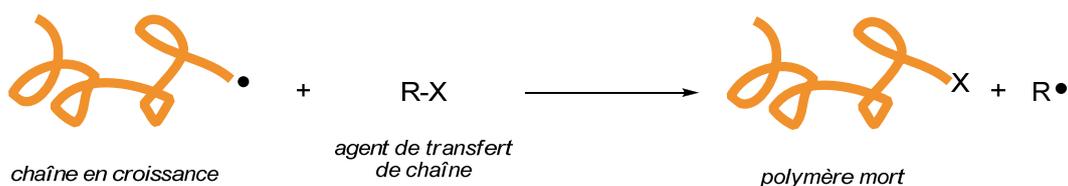


Schéma III-2 : Formation de chaînes « mortes » par transfert de chaîne irréversible.

Cette méthode trouve racine dans différents travaux, notamment de Tatemoto et al.²¹⁷ et de Matyjaszewski et al.²¹⁸ qui appliquèrent ce principe de transfert dégénératif en employant des iodures d'alkyles. Dans la même période, Rizzardo et al. ont développé des macromonomères de méthacrylate de méthyle non homopolymérisables opérant par addition-fragmentation réversible.²¹⁹

Zard, en collaboration avec Rhodia, a appliqué ses travaux concernant le transfert dégénératif de xanthates sur les alcènes²²⁰ à un processus de polymérisation, ce qui a donné naissance à la méthode MADIX.^{221, 222}

Les méthodes RAFT/MADIX utilisent un agent de transfert de chaîne porteur de groupements thiocarbonylthio (R-S(C=S)-Z) (Schéma III-3). Le terme RAFT est plus général et est employé pour décrire la technique mettant en jeu les composés thiocarbonylthio dans leur ensemble, tandis que l'appellation MADIX est spécifique de l'utilisation des xanthates.

Suivant le groupement Z activant (Schéma III-3), les agents de transfert de chaîne ne sont pas équivalents pour contrôler la polymérisation radicalaire d'un même monomère donné. Ainsi l'évolution des masses molaires avec la conversion du monomère, celle de l'indice de polymolécularité et la possibilité de synthétiser des copolymères à blocs ou d'autres architectures « complexes » peuvent différer d'un monomère à l'autre, selon la nature chimique de l'agent RAFT/MADIX.²²³⁻²²⁶

Par exemple, les dithioesters s'avèrent très efficaces avec les monomères (méth)acryliques et styréniques mais inhibent totalement la polymérisation de l'acétate de vinyle. A contrario, les xanthates n'exercent aucun effet sur la polymérisation des méthacrylates d'alkyle et sont, avec les dithiocarbamates, les seuls agents RAFT capables de contrôler la polymérisation de l'acétate de vinyle. D'autres systèmes, comme le cobalt (Co^{II})²²⁷ ou du tellure d'alkyle²²⁸ permettent également d'obtenir des poly(acétate de vinyle) bien définis.

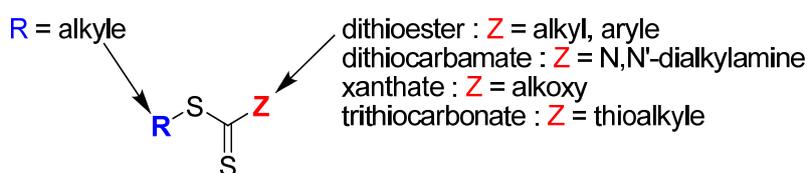


Schéma III-3 : Agents de transfert de chaîne thiocarbonylthio employés dans les méthodes RAFT/MADIX.

Du point de vue de leur mise en œuvre, les méthodes RAFT/MADIX s'apparentent aux polymérisations radicalaires conventionnelles avec les mêmes réactifs (amorceur, monomère(s), agent de transfert). Ces polymérisations peuvent être menées en masse, en milieu solvant organique, en solution aqueuse ou en milieu dispersé.^{229, 230} Les polymérisations sont conduites à des températures modérées, par amorçage thermique, photochimique ou redox.²³¹

Le mécanisme de la polymérisation RAFT/MADIX est le suivant (Schéma III-4) :

$$C_{tr}(X) = \frac{k_{add}}{k_p} \times \frac{k_\beta}{k_{-add} + k_\beta} \quad (\text{III-1})$$

Quand la totalité de l'agent de transfert est consommée, le macro-CTA entre dans l'équilibre principal. Etant donnée la symétrie du radical dans cet équilibre, $k_{-add} = k_\beta$, et par conséquent, C_{tr} peut s'exprimer de la manière suivante (Equation III-2) : ²²⁵

$$C_{tr}(PnX) = \frac{k_{add}}{2k_p} \quad (\text{III-2})$$

Deux conditions doivent être respectées pour conduire efficacement une polymérisation RAFT/MADIX :

- l'établissement d'un échange rapide du groupement dithiocarbonate $-S(C=S)Z$ entre radicaux propageants et agents de transfert (moléculaire, CTA et polymère, poly-CTA). En d'autres termes, $C_{tr}(X)$ et $C_{tr}(PnX)$ doivent être suffisamment élevés.
- une bonne gestion de la concentration initiale en amorceur : suffisamment élevée pour mener la polymérisation à son terme, mais relativement faible par rapport à $[X]_0$ pour minimiser la contribution des chaînes terminées de manière irréversible (chaînes mortes).

Le modèle cinétique établi par Müller et al.²³² pour prédire l'évolution de M_n et de l'indice de polymolécularité (I_p) pour des polymérisations reposant sur un mécanisme de transfert dégénératif (à l'époque, la polymérisation par transfert de groupe), est également applicable au cas de la polymérisation RAFT/MADIX. Ses hypothèses sont :

- (1) terminaison bimoléculaire négligeable,
- (2) $C_{tr}(X) = C_{tr}(PnX)$.

Il apparaît que plus C_{tr} est élevée, plus l'agent RAFT/MADIX est consommé rapidement. La consommation totale de l'agent RAFT/MADIX aux faibles conversions en monomère (condition à remplir pour une évolution linéaire de M_n avec la conversion) est obtenue si C_{tr} est supérieur à 10.

L'indice de polymolécularité varie aussi de manière significative en fonction de C_{tr} : un I_p voisin de 1,2 en fin de réaction est obtenu pour $C_{tr} > 10$ (Figure III-2). On peut également prédire l'évolution du \overline{DP}_n et de l' I_p en fonction de la conversion du monomère (équations III-3 et III-4)

$$\overline{DP}_n = \frac{[M]_0 \times \text{conversion}}{[X]_0 \times (1 - (1 - \text{conversion})^{C_{tr}(X)})} \quad (\text{III-3})$$

$$I_p = 1 + \frac{1}{C_{tr}(P_n X)} \quad (\text{III-4})$$

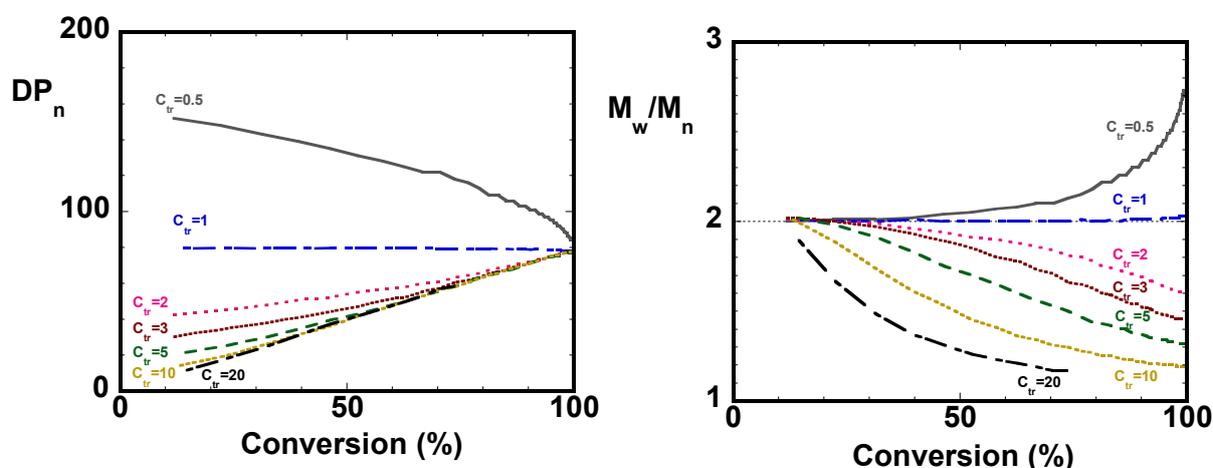


Figure III-2 : Evolution du \overline{DP}_n et de l'indice de polymolécularité en fonction de la constante de transfert.

Si on considère la polymérisation MADIX uniquement, il est important de relever que, contrairement aux agents RAFT de type dithiobenzoate (connus pour conduire à de forts ralentissements de la polymérisation, surtout pour les monomères acryliques), les *O*-éthyl xanthates ne semblent pas avoir d'effet importants sur la vitesse de polymérisation, et ceci sur une gamme très large de concentration initiale en xanthate.²³³

La réactivité modérée des *O*-éthylxanthates, notamment vis-à-vis des radicaux propageants de type polystyryle ou polyacryloyle, a été expliquée par l'existence de formes canoniques zwitterioniques induites par les doublets libres de l'oxygène et la liaison C=S (Schéma III-5). De ce fait, le caractère de la double liaison C=S est diminué, défavorisant l'addition radicalaire (k_{add}) mais diminuant la stabilité de l'intermédiaire radicalaire.

Cet effet peut être contrecarré par l'incorporation de groupements électro-attracteurs (1-diéthoxyphosphonyle, 2,2',2''-trifluorométhyle,...) dans le groupement activant Z'.²³⁴

Néanmoins, cette réactivité modérée des *O*-éthylxanthates permet de polymériser de manière contrôlée l'acétate de vinyle, la *N*-vinyl-2-pyrrolidone et d'autres monomères dont le radical propageant est très réactif.

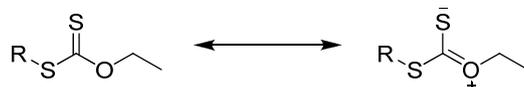


Schéma III-5 : Structures canoniques des *O*-éthyl xanthates.

Nous avons donc choisi d'utiliser la méthode MADIX ($Z = \text{alkoxy}$) développée par Rhodia car celle-ci est particulièrement attrayante lorsqu'il s'agit de polymériser des monomères comme l'acrylamide, l'acétate de vinyle (AcV) ou la *N*-vinyl-2-pyrrolidone (NVP). Ces polymérisations peuvent être menées en solution dans l'eau ou en milieu hydro-alcoolique pour les monomères hydrophiles ou dans l'acétate d'éthyle ou le dioxane pour l'AcV et la NVP, respectivement. Elle permet également de polymériser des familles de monomères (esters vinyliques et vinyl-lactames), réputés difficiles à contrôler par les autres agents RAFT et même par d'autres méthodes de PRC.

3. Synthèse de copolymères à blocs xyloglucane-*b*-polymère vinylique à partir du macro-agent de transfert de chaîne oligoxyglucane ω -monofonctionnel 11

Dans cette partie, nous nous intéressons à la polymérisation MADIX des monomères acrylamide (Am), acétate de vinyle (AcV) et *N*-vinyl-2-pyrrolidone (NVP) à partir du macro-agent de transfert de chaîne xyloglucane 11 (XG-Xa) décrit dans le chapitre précédent.

3.1. Synthèse de copolymères à blocs XG-*b*-PAm par polymérisation MADIX de l'acrylamide

Il a été montré que la technique de polymérisation RAFT/MADIX est aujourd'hui la seule qui permet un réel contrôle de la polymérisation de l'acrylamide.²³⁵⁻²³⁹ Taton et al. ont réalisé pour la première fois en 2001 la polymérisation statistique de l'acrylamide et de

l'acide acrylique en présence d'un agent de transfert MADIX mono- et difonctionnel (Figure III-6).²³⁹

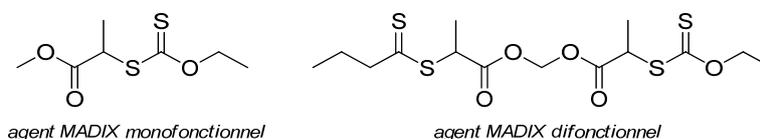


Schéma III-6 : Agent de transfert de chaîne MADIX pour la polymérisation de l'Am.²³⁹

Par la suite Thomas et al. ont réalisé la polymérisation radicalaire contrôlée de l'acrylamide à partir de différents agents RAFT et dans différents solvants : les réactions d'hydrolyse et d'aminolyse de l'agent de transfert de chaîne observées dans l'eau peuvent être diminuées en travaillant à un pH < 7 ou dans le DMSO.²³⁵⁻²³⁷ Convertine et al. ont également obtenu du polyacrylamide de manière contrôlée en réalisant la réaction dans une solution tampon pH 5,5 à température ambiante, à partir d'un agent de transfert trithiocarbonate, supprimant au maximum les réactions secondaires.

Dans ce chapitre, et de façon générale, l'acrylamide a été polymérisé à 70°C, en testant différents solvants et différents amorceurs (Schéma III-7).

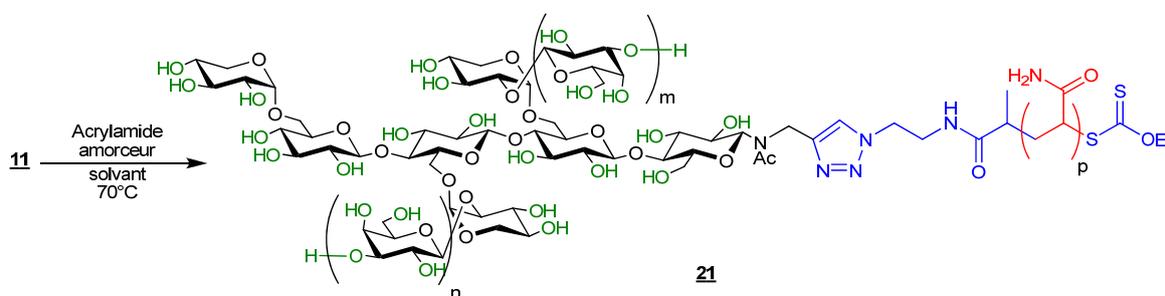


Schéma III-7 : Synthèse de XG-*b*-PAm à partir du macro-agent de transfert de chaîne 11.

Dans un premier temps, la polymérisation a été effectuée dans des conditions discontinues, c'est-à-dire en introduisant dès le début de la polymérisation, le macro agent de transfert de chaîne 7 (noté XG-Xa), l'acrylamide et l'acide 4,4'-Azobis(4-cyanopentanoïque) (ACP) comme générateur de radicaux et en utilisant l'eau comme solvant. Afin d'obtenir différentes longueurs de blocs poly(acrylamide) (PAm), le rapport Am/XG-Xa a été modulé,

tout en gardant constant le rapport amorceur/XG-Xa égal à 0,2. Le volume d'eau introduit a été calculé afin d'obtenir un extrait sec (ES) final de 10%. Ce dernier paramètre est pris en compte car il est couramment employé chez Rhodia et est facilement utilisable à l'échelle industrielle. Il s'agit de la fraction massique totale en réactifs fixée dans le mélange réactionnel (Equation III-5). La durée de la polymérisation a été fixée à 24 h, puis le copolymère a été récupéré après précipitation dans l'acétone.

$$ES (\%) = \frac{\sum_i m_i}{\sum_i m_i + \sum_s m_s} \times 100 \quad (\text{III-5})$$

où m_i et m_s désignent respectivement la masse des réactifs et celle du solvant (ou du mélange de solvant).

Trois copolymères à blocs de type XG-*b*-PAm ont ainsi été synthétisés. Les résultats des analyses par chromatographie d'exclusion stérique (CES) sont présentés sur la Figure III-3, tandis que les différentes expériences effectuées et les caractéristiques des copolymères obtenus sont rassemblés dans le Tableau III-1.

Tableau III-1 : Polymérisation MADIX de l'Am à partir de 11 (H₂O, ACP, 70°C).

Echantillon	[Am]/[XG-Xa]	ES (%)	M _n ^a (g/mol)	I _p ^a	Conversion ^b (%)	\overline{DP}_{nth}	\overline{DP}_n^b
<u>21</u> -1	25	10	9300	1,2	96	24	30
<u>21</u> -2	50	10	17700	1,3	96	48	60
<u>21</u> -3	100	10	31600	1,3	96	96	125

^a déterminée par CES dans l'eau sur le pic majoritaire (étalonnage avec du PEO linéaire) ; ^b composition du bloc PAm déterminée par spectrométrie de RMN ¹H dans le D₂O.

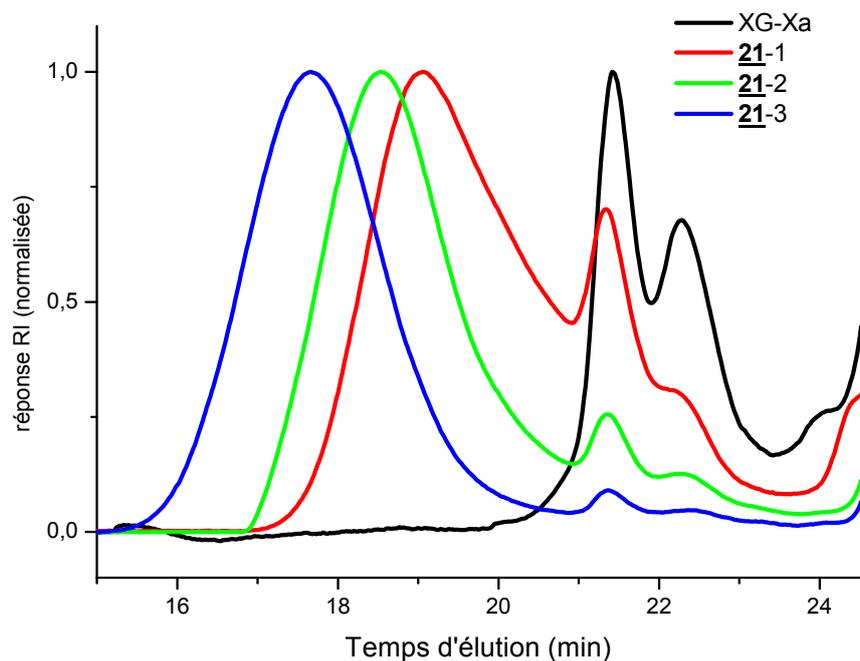


Figure III-3 : Analyse par CES des copolymères XG-*b*-PAm dans l'eau (cf. Tableau III- pour la méthode de synthèse) – réponse réfractométrique.

Pour chaque copolymère synthétisé, une augmentation des masses molaires apparentes avec l'augmentation de la quantité initiale en monomère et la disparition progressive du macro-CTA précurseur sont observées. Ceci confirme l'amorçage de la polymérisation de l'acrylamide et la formation des copolymères à blocs ciblés. De plus, les pics d'élution correspondant à la population majoritaire possèdent une distribution relativement étroite ($I_p < 1,3$). Cependant, un épaulement dans le domaine des faibles masses molaires montre la présence du macro-CTA XG-Xa résiduel, c'est-à-dire celui n'ayant pas contribué à la formation de copolymères.

Par spectrométrie de RMN ^1H , la conversion du monomère peut être établie en calculant le rapport de l'aire des signaux dus aux protons vinyliques du monomère résiduel sur celle du signal dû au proton CH du polymère. Ainsi, il est possible d'établir que la conversion de l'acrylamide est égale à 96 %. Par cette méthode, il est également possible d'accéder au degré

de polymérisation moyen en nombre du PAm en utilisant la formule suivante (Equation III-6) :

$$\overline{DP}_n = \frac{2 \times A_2}{51 \times A_1} \quad (\text{III-6})$$

où A_1 et A_2 sont les aires des intégrales des protons CH_2 et de l'ensemble des protons des oligoxyloglucanes, entre 3,1 et 4,3 ppm et $\text{CH}_2\text{-CH}_2$, respectivement.

Un exemple de spectre de RMN ^1H du copolymère à blocs **21-1** XG-*b*-PAm₅₀ dans le D_2O est donné ci-dessous (Figure III-4). On peut noter que les \overline{DP}_n calculés sont légèrement supérieurs aux valeurs théoriques $\overline{DP}_{n\text{th}}$ (par exemple, pour le copolymère à bloc **21-2**, $\overline{DP}_{n\text{exp}} = 60$ pour un de 48), ce qui s'explique par la surestimation des protons des oligoxyloglucanes dû au macro-amorceur résiduel.

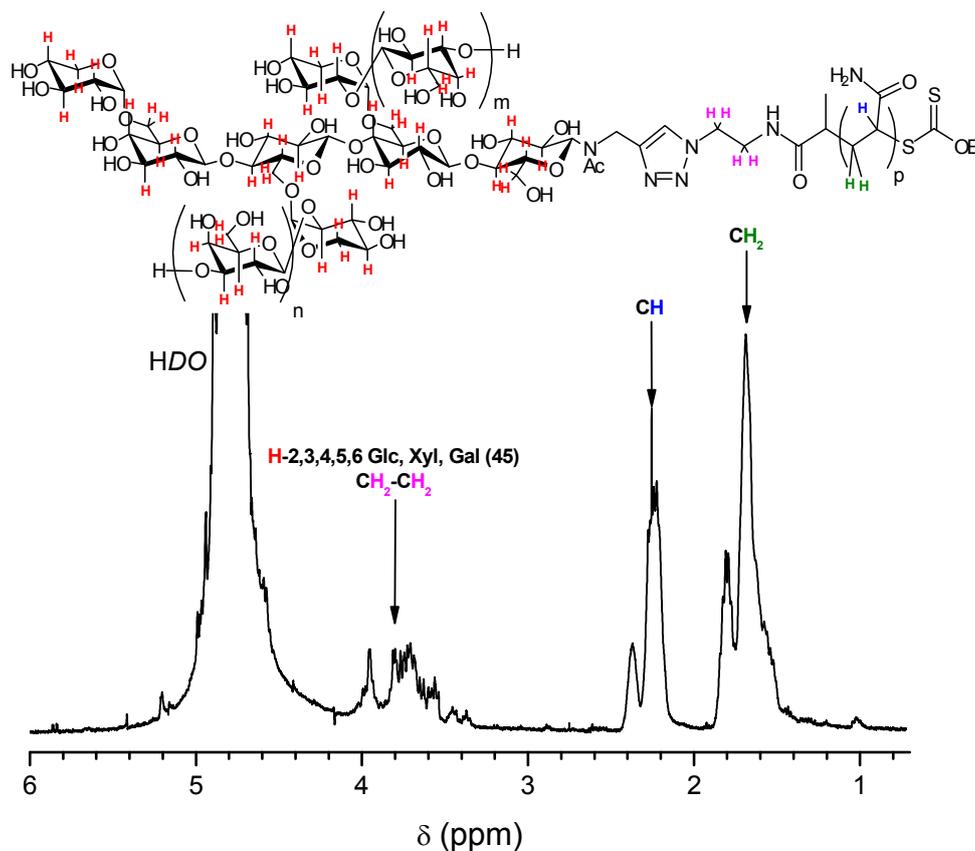


Figure III-4 : Spectre de RMN ^1H (D_2O , 298 K) du copolymère à blocs XG-*b*-PAm **21-1**.

Plusieurs pistes ont été envisagées pour tenter de pallier le problème de consommation partielle de l'agent de transfert de chaîne :

- une augmentation de la constante de transfert C_{tr} en ajoutant le monomère en continu,
- un changement du système solvant/amorceur pour prévenir la possible aminolyse de la fonction xanthate,
- un changement de solvant pour améliorer la solvation du macro-CTA.

En effet, une des hypothèses qui a été formulée est que l'oligomère provenant de l'amorçage de l'acrylamide transfère difficilement sur le macro-CTA. L'intérêt d'introduire le monomère en continu est donc de diminuer la concentration instantanée en espèces actives. De cette manière, le transfert est favorisé par rapport à la propagation, permettant une consommation rapide du macro-CTA (il s'agit d'une augmentation « artificielle » de la constante de transfert C_{tr}).

Cette méthode a été appliquée en introduisant dans le réacteur la totalité du XG-Xa et une partie de l'amorceur et de l'eau, suivi d'un ajout séquentiel d'amorceur de même qu'un ajout d'un mélange Am/H₂O à l'aide d'un pousse-seringue, avec un débit de 0,25 ml/h pendant 5 h (Figure III-5). Différentes tailles de bloc poly(acrylamide) ont ainsi été visées.

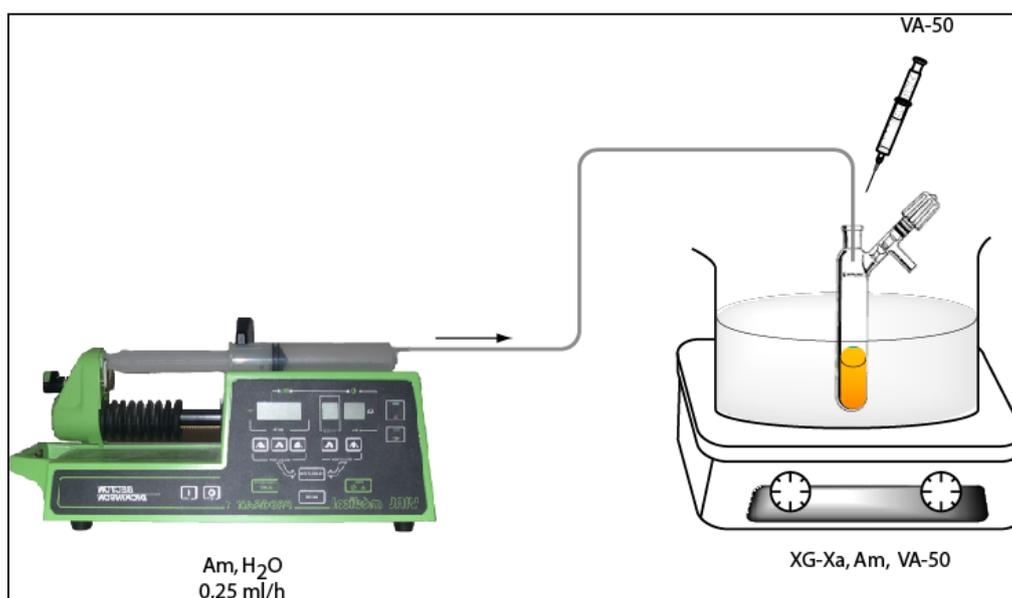


Figure III-5 : Système d'ajout en continu de l'acrylamide.

Ce procédé continu n'a cependant pas permis d'aboutir à de meilleurs résultats : l'analyse des produits obtenus par CES révèle en effet à nouveau la présence d'oligosaccharides xanthatés résiduels.

Une autre cause possible du transfert partiel de l'Am sur le XG-Xa est la dégradation du xanthate par réaction d'aminolyse. McCormick et al. ont en effet montré que la polymérisation RAFT de l'acrylamide en solvant aqueux à $\text{pH} > 7$ peut entraîner une hydrolyse partielle du monomère engendrant la perte du groupement xanthate.^{235, 237} Même une petite quantité de monomère hydrolysé peut produire de l'ammoniaque et ainsi augmenter le pH du milieu réactif.

Nous nous sommes donc placés dans les conditions décrites par ces auteurs, à savoir que la polymérisation a été effectuée dans un milieu tampon acétate à pH 5, en utilisant le 2,2'-azobis[2-méthyl-N-(2-hydroxyéthyl)propionamide] (VA-086) comme amorceur. A $\text{pH} < 7$, l'ammoniaque produit de l'hydrolyse du monomère est neutralisé par l'excès d'acide. D'autre part, la décomposition lente de l'amorceur VA-086 nécessite l'introduction d'une plus grande quantité ($[\text{amorceur}/\text{XG-Xa}] = 0,87$ contre 0,2 précédemment) que dans le cas de l'utilisation d'un amorceur moins stable thermiquement. Les différentes expériences effectuées sont résumées dans le tableau ci-dessous (Tableau III-2) :

Tableau III-2 : Polymérisation MADIX de l'Am à partir de 11 (tampon pH 5, VA-086, 70°C).

Echantillon	[Am]/[XG-Xa]	ES (%)	M_n^a (g/mol)	I_p^a	Conversion ^b (%)	$\overline{DP}_{n\text{th}}$	\overline{DP}_n^b	Rmq.
<u>21</u> -4	25	10	10 900	1,16	95	24	30	R
<u>21</u> -5	100	10	26 400	1,36	85	85	90	R
<u>21</u> -6	125	10	31 200	1,40	97	121	115	R
<u>21</u> -7	150	10	37 300	1,44	93	140	145	R
<u>21</u> -8	200	10	42 900	1,52	84	168	170	R

^a déterminée par CES dans l'eau sur le pic majoritaire (étalonnage avec du PEO linéaire) ;

^b composition du bloc Am déterminée par spectrométrie de RMN ¹H dans le D₂O – R : XG-CTA résiduel après polymérisation.

Des résultats sensiblement identiques à ceux obtenus précédemment sont observés : les conversions sont entre 85 et 97 %, et les valeurs de \overline{DP}_n sont proches des valeurs théoriques. Le macro-CTA résiduel est malheureusement à nouveau observé par CES dans l'eau (Figure

III-6), même pour de très fortes masses molaires visées. Ce n'est pas montré dans ce manuscrit, mais les mêmes conditions ont été appliquées en ajoutant le monomère en continu sur une durée de 5 heures, sans améliorer notablement les résultats.

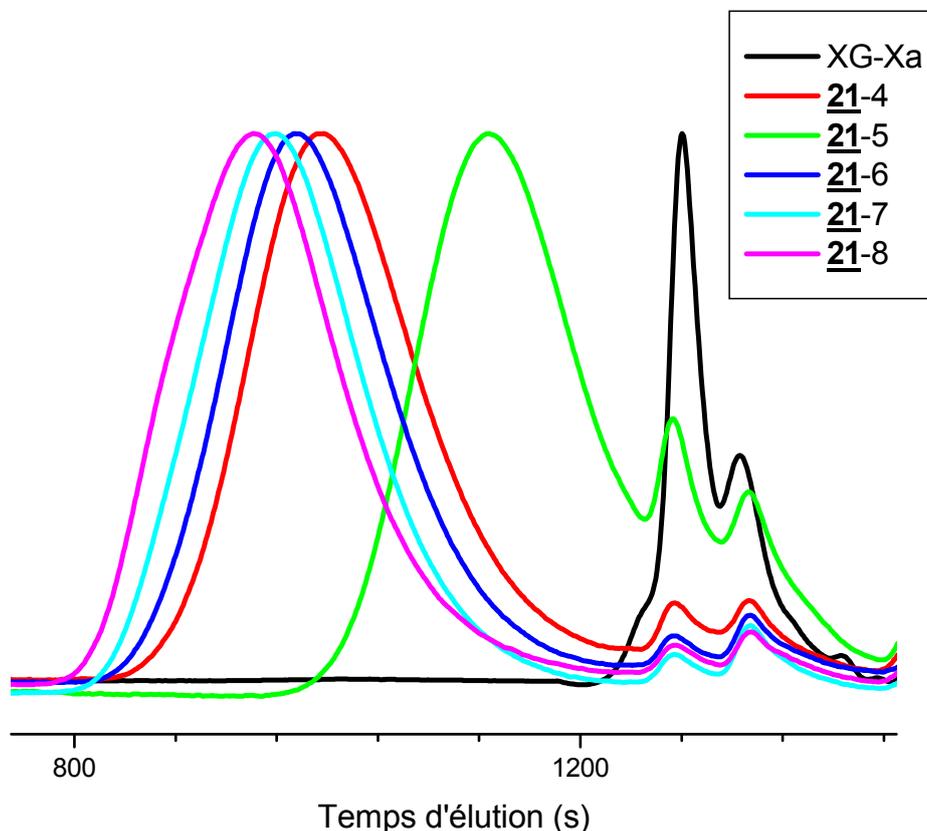


Figure III-6 : Analyse par CES des copolymères XG-*b*-PAm dans l'eau (cf. Tableau III-2 pour la méthode de synthèse) – réponse réfractométrique.

Comme cela a été discuté dans la partie bibliographique, les oligoxyloglucanes forment des agrégats en solution aqueuse. Ils ont pour origine les liaisons hydrogène entre les différentes chaînes. Les liaisons H sont plus importantes pour les oligoxyloglucanes de DP 7 et DP 8 qui ne contiennent aucun résidu ou bien qui possèdent un seul résidu galactosyle. Ces agrégats sont mis en évidence lorsque le macro-CTA est analysé par CES dans l'eau (voir figure II-13). Ils ne sont cependant plus visibles lorsque le produit est analysé par CES dans le DMF à 70°C (voir figure II-14). On peut donc penser que l'accessibilité à la fonction xanthate sur la chaîne en croissance est rendue difficile dans l'eau pure. Sur la base de cette hypothèse

et, sachant que le DMF est un non-solvant du poly(acrylamide), il a été tenté de polymériser l'acrylamide dans des mélanges H₂O/DMF, avec l'ACP comme générateur de radicaux (Tableau III-3).

Tableau III-3 : Polymérisation MADIX de l'Am à partir de 11 (H₂O/DMF, ACP, 70°C).

Echantillon	[Am]/[XG-Xa]	ES (%)	H ₂ O/DMF (v/v)	M _n ^a (g/mol)	I _p ^a	Conv. ^b (%)	$\overline{DP}_{n^{th}}$	\overline{DP}_n^b	Rmq.
<u>21</u> -9	50	20	1-1	12 000	1,32	98	49	70	R
<u>21</u> -10	50	20	1-2	-	-	-	-	-	Se
<u>21</u> -11	50	10	1-1	17 700	1,34	97	49	65	R
<u>21</u> -12	50	10	1-2	-	-	-	-	-	Se
<u>21</u> -13	50	5	1-1	13 000	1,33	98	49	70	R

^a déterminée par CES dans l'eau sur le pic majoritaire (étalonnage avec du PEO linéaire) ;

^b composition du bloc Am déterminée par spectrométrie de RMN ¹H dans le D₂O – R : XG-CTA résiduel après polymérisation ; Se : séparation de phase.

Un ES de 20 % a d'abord été visé, ce qui n'a pas conduit, là encore, à la consommation totale du XG-Xa. L'augmentation de la proportion de DMF (jusqu'à 66% en volume) ne permet plus d'obtenir une solution homogène et induit une séparation de phase au cours de polymérisation.

La diminution de la concentration des réactifs (ES de 10 %) ne permet pas d'améliorer les résultats, que ce soit avec un rapport H₂O/DMF (v/v) 1-1 (ce qui a conduit à du XG-Xa résiduel, noté R) ou 1-2 (ce qui a conduit à une séparation de phase, noté Se). Il en est de même lorsque la réaction est menée avec un ES de 5 % et un rapport H₂O/DMF (v/v) 1-1 : le macro-agent de transfert de chaîne résiduel est toujours visible par CES dans l'eau (Figure III-7).

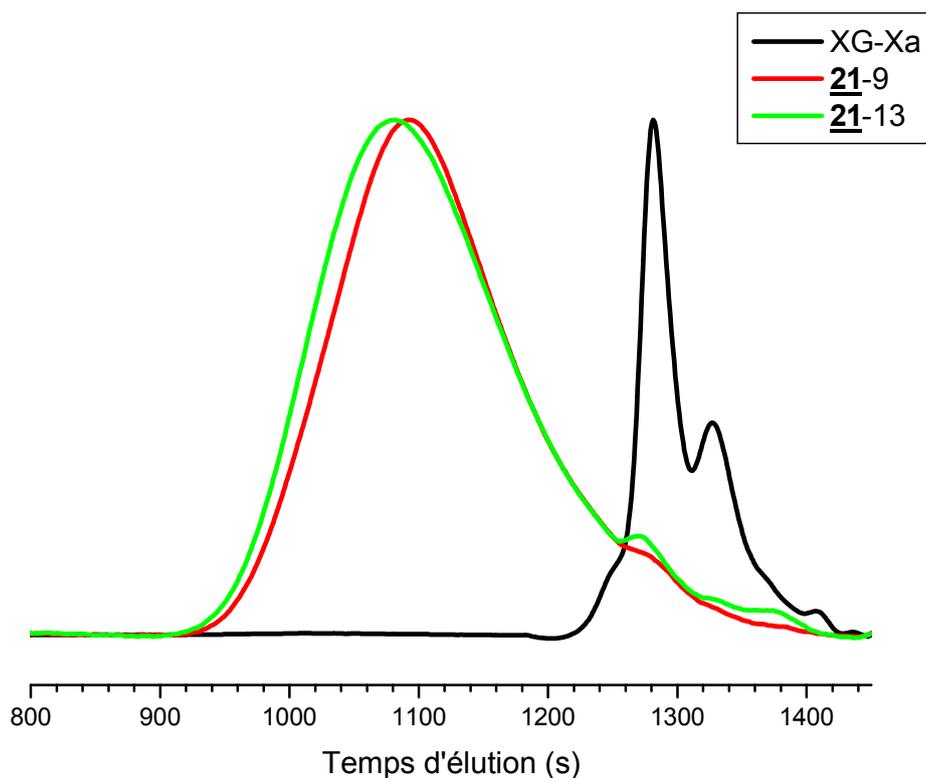


Figure III-7 : Analyse par CES des copolymères XG-*b*-PAM dans l'eau (cf. Tableau III-3 pour la méthode de synthèse) – réponse réfractométrique.

Afin d'obtenir des copolymères à blocs XG-*b*-PAM purs, des composés issus de la première méthode de polymérisation (ACP, H₂O, ES = 10 %, 70°C), conduisant à un mélange de copolymères diblocs et de XG-Xa, ont été repris, puis ont été purifiés par dialyse afin d'éliminer le maximum d'agent de transfert de chaîne résiduel XG-Xa (Tableau III-4).

Tableau III-4 : Polymérisation MADIX de l'Am à partir de 11 après dialyse (H₂O, ACP, 70°C).

Echantillon	[Am]/[XG-Xa]	ES (%)	M _n ^a (g/mol)	I _p ^a	Conversion ^b (%)	\overline{DP}_{nth}	\overline{DP}_n^b
<u>21</u> -14	25	10	9900	1,2	97	24	23
<u>21</u> -15	50	10	17840	1,3	98	49	75
<u>21</u> -16	100	10	31400	1,3	96	96	150
<u>21</u> -17	200	10	52200	1,3	96	192	210

^a déterminée par CES dans l'eau (étalonnage avec du PEO linéaire) ; ^b composition du bloc PAm déterminée par spectrométrie de RMN ¹H dans le D₂O.

Après polymérisation, le mélange brut de réaction a été dialysé dans l'eau durant trois jours, sans précipitation préalable avant d'être lyophilisé. Comme l'atteste l'analyse par CES, la disparition totale de l'oligoxyloglucane résiduel est avérée.

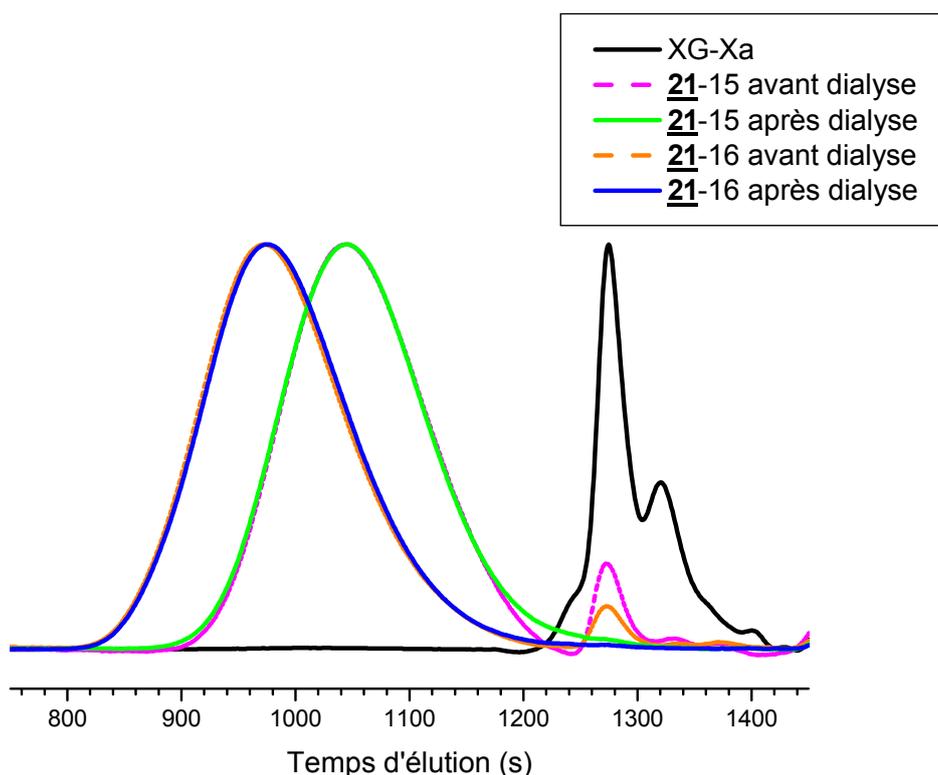


Figure III -8 : Analyse par CES des copolymères XG-*b*-PAm dans l'eau (cf. Tableau III-3 pour la méthode de synthèse) avant et après dialyse – réponse réfractométrique.

Ainsi, à partir du macro-agent de transfert à base d'oligoxyloglucanes, la polymérisation de l'acrylamide a pu être menée directement en milieu aqueux. Cependant, la totalité de l'agent MADIX n'est pas consommé, probablement en raison de l'agrégation des oligoxyloglucanes, rendant difficile l'accès aux fonctions xanthate. L'augmentation « artificielle » de la constante de transfert par ajout en continu du monomère ne permet pas d'augmenter la consommation du xyloglucane porteur du xanthate. La polymérisation dans une solution tampon à $\text{pH} < 7$ afin de prévenir toute dégradation intempestive des groupements xanthate n'a pas non plus permis d'améliorer les résultats. Il a alors été suggéré que la conformation de l'oligosaccharide dans l'eau, à savoir la formation d'agrégats, implique une mauvaise accessibilité de la fonction xanthate. En employant le DMF comme cosolvant, on finit par provoquer la précipitation du PAm formé.

La purification par dialyse du mélange contenant le copolymère à blocs XG-*b*-PAm et le macro-agent de transfert XG-Xa résiduel a finalement permis d'obtenir différents types de copolymère à blocs « hybrides » purs XG-*b*-PAm avec des tailles de longueur de chaîne PAm différentes.

3.2. Synthèse de copolymères à blocs XG-*b*-PAcV par polymérisation MADIX de l'acétate de vinyle

La polymérisation de l'acétate de vinyle (AcV) est difficile à contrôler. Seules quelques méthodes comme MADIX ou les polymérisations en présence de cobalt (Co^{II})²²⁷ ou de tellure d'alkyle²²⁸ ont permis d'obtenir des poly(acétate de vinyle) (PAcV) de structure bien contrôlée.

Le PAcV possède de nombreuses applications dans l'industrie (dans les adhésifs et additifs pour matériaux de construction mais aussi dans le domaine pharmaceutique). Le PAcV est aussi le précurseur du poly(alcool vinylique) (PVA), polymère hydrosoluble, non toxique, non cancérigène et présentant des propriétés de bioadhésion.

Puisque le radical en croissance issu de l'acétate de vinyle est très réactif, un agent de transfert de chaîne avec une faible stabilisation du radical, et donc une fragmentation β rapide (étape (4), Schéma III-4), est requis.

La première PRC de l'acétate de vinyle (croissance linéaire de M_n avec la conversion, $I_p < 1,5$) a été réalisée en masse ou en solution à l'aide des *S*-alkyl-*O*-éthyl xanthates, moins réactifs que d'autres agents de transfert de chaîne RAFT.^{221, 240, 241}

Dans le cadre de ce travail, la polymérisation MADIX de l'acétate de vinyle à partir du composé **11** a été menée pendant 24 h dans le DMF afin que les réactifs et le copolymère formé restent solubles. La température de réaction est de 60°C et l'amorceur utilisé est l'azobisisobutyronitrile (AIBN). L'extrait sec visé est de 20 % (Schéma III-8).

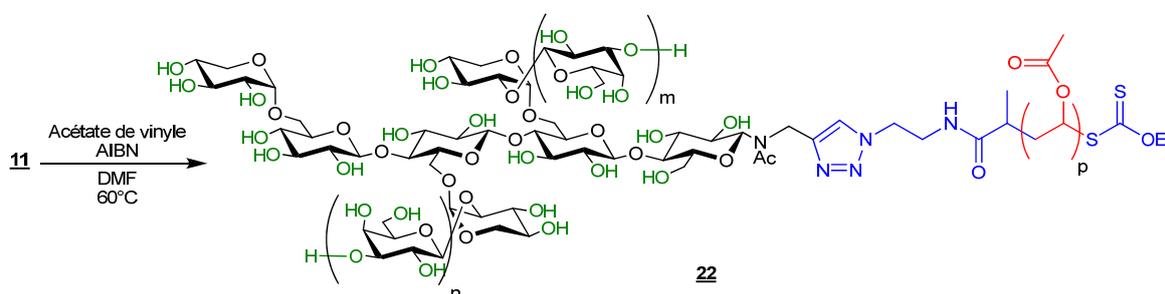


Schéma III-8 : Formation du bloc PACv à partir du macro-agent de transfert de chaîne 11.

Les différentes réactions sont résumées dans le Tableau III-5.

Tableau III-5 : Polymérisation MADIX de l'AcV à partir de 11 (DMF, AIBN, 60°C).

Echantillon	[AcV]/[XG-Xa]	[AIBN]/[XG-Xa]	ES (%)	M_n^a (g/mol)	I_p^a	Conv. ^b (%)	\overline{DP}_{nth}	\overline{DP}_n^c	Rmq.
<u>22</u> -1	25	0,2	20	4600	1,02	16	1	1	E
<u>22</u> -2	50	0,2	20	5100	1,02	23	12	9	E
<u>22</u> -3	100	0,2	20	7000	1,01	23	23	18	E
<u>22</u> -4	50	0,4	20	6000	1,02	35	18	12	E
<u>22</u> -5	50	3×0,2 ^d	20	5900	1,02	40	20	23	E

^a I_p de la population principale déterminé par CES dans le DMF (étalonnage PS) ; ^b déterminée par gravimétrie ; ^c composition du bloc AcV déterminée par spectrométrie de RMN ¹H dans le DMSO ; ^d l'amorceur est introduit au début de la polymérisation et une solution d'amorceur est ajoutée deux fois au cours de la polymérisation – E : observation par CES d'un épaulement dans les fortes masses molaires.

L'incorporation des unités acétate de vinyle est mise en évidence par spectrométrie de RMN ¹H du produit formé (Figure III-9). On observe les signaux à 1,75 ppm correspondant

aux protons CH_2 de la chaîne vinylique du PAcV et les pics de résonance entre 4 et 6 ppm correspondant aux protons des oligosaccharides (42 H) et aux protons CH du PAcV. Le $\overline{\text{DP}}_n$ peut être calculé à partir de l'Equation III-7.

$$\overline{\text{DP}}_n = \frac{A_1}{2 \times A_2 - A_1} \times 42 \quad (\text{III-7})$$

où A_1 et A_2 sont les aires des intégrales des protons CH_2 et de l'ensemble des protons du xyloglucane et CH , respectivement.

Des $\overline{\text{DP}}_n$ relativement faibles sont obtenus par rapport à ceux visés pour 100 % de conversion mais ils sont en accord avec les conversions modérées obtenues. Des conversions en monomère plus élevées, jusqu'à 35-40%, ont été observées en augmentant la quantité d'amorceur en début de réaction ou bien par ajout d'amorceur au cours de la polymérisation.

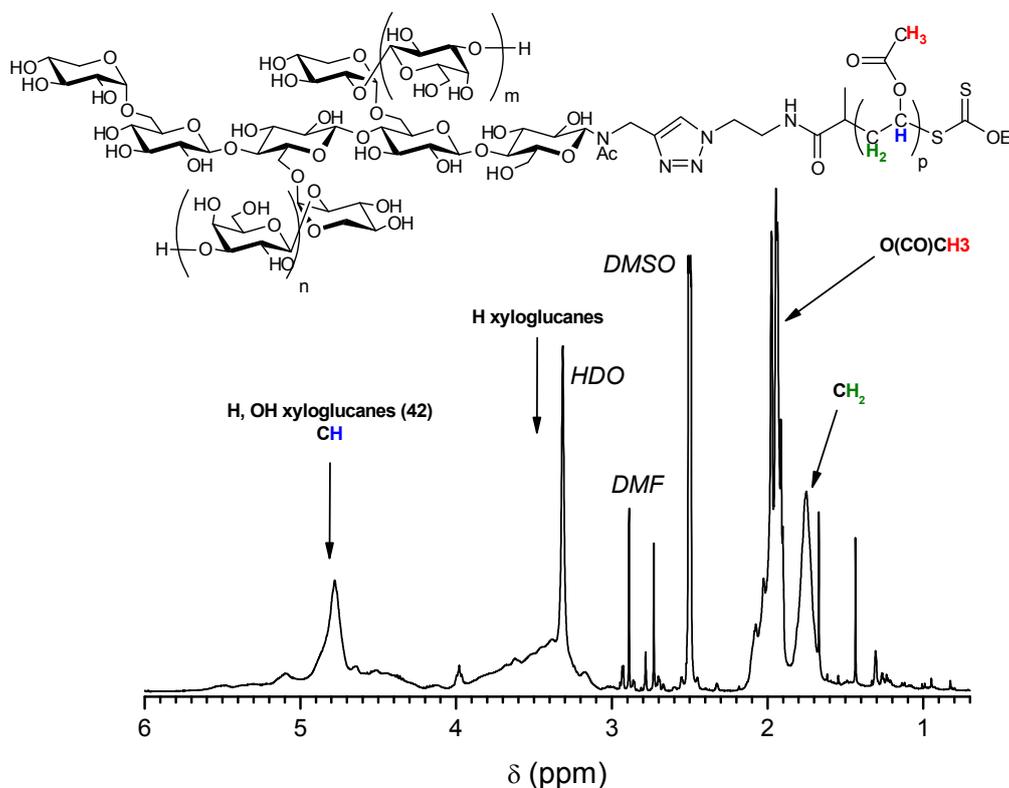


Figure III-9 : Spectre de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 298 K) du copolymère à blocs 22-6.

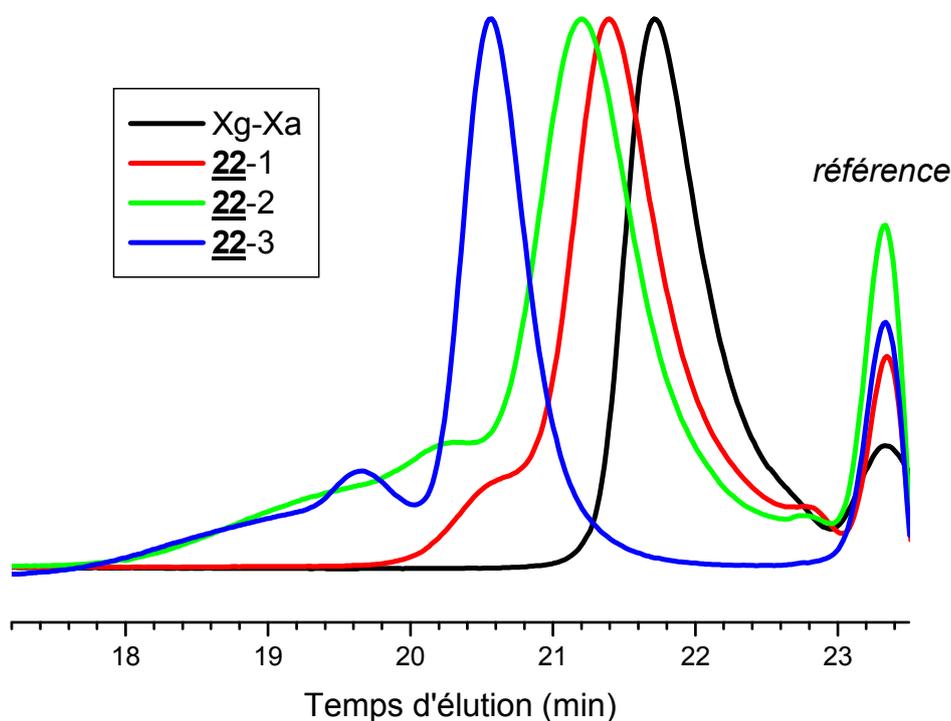


Figure III-10 : Analyse par CES des copolymères XG-*b*-PAcV dans le DMF (cf. Tableau III-5 pour la méthode de synthèse) – réponse réfractométrique.

Les chromatogrammes des copolymères à blocs XG-*b*-PAcV montrent que, contrairement à la polymérisation de l'acrylamide, le macro-CTA est entièrement consommé lors de la polymérisation de l'acétate de vinyle dans le DMF (Figure III-10). Aucune trace du macro-agent de transfert de chaîne XG-Xa n'est en effet observée. Cela conforte l'idée que le macro-CTA est mieux solvato dans le DMF que dans l'eau, l'ensemble des fonctions xanthate étant accessibles aux oligo-PAcV en croissance. Les copolymères obtenus possèdent par ailleurs une polymolécularité relativement faible. Cependant, un épaulement dans le domaine des masses molaires élevées est noté, signe de l'occurrence de réactions secondaires au cours de la polymérisation MADIX. Deux hypothèses peuvent être avancées pour tenter d'expliquer ce phénomène.

La première est celle d'un transfert intra- et/ou intermoléculaire aux chaînes de PAcV elles-mêmes. Le transfert de chaîne au poly(acétate de vinyle) a été mis en évidence de

manière indirecte, en évaluant la différence de \overline{DP}_n des chaînes polymères observées avant et après méthanolyse pour former le poly(alcool vinylique).^{242, 243} Plus particulièrement, Lovell et al. ont étudié en détail par spectrométrie de RMN ^{13}C ce transfert de chaîne au polymère lors de la polymérisation de l'acétate de vinyle en masse et en émulsion.²⁴⁴ Ces auteurs ont montré que l'arrachement du proton du groupe méthyle est prédominant par rapport à l'arrachement du proton du groupe CH du squelette (Schéma III-9), le taux de ramification augmentant avec la conversion. Cette dernière observation s'explique par l'augmentation du rapport concentration en polymère sur concentration en monomère.

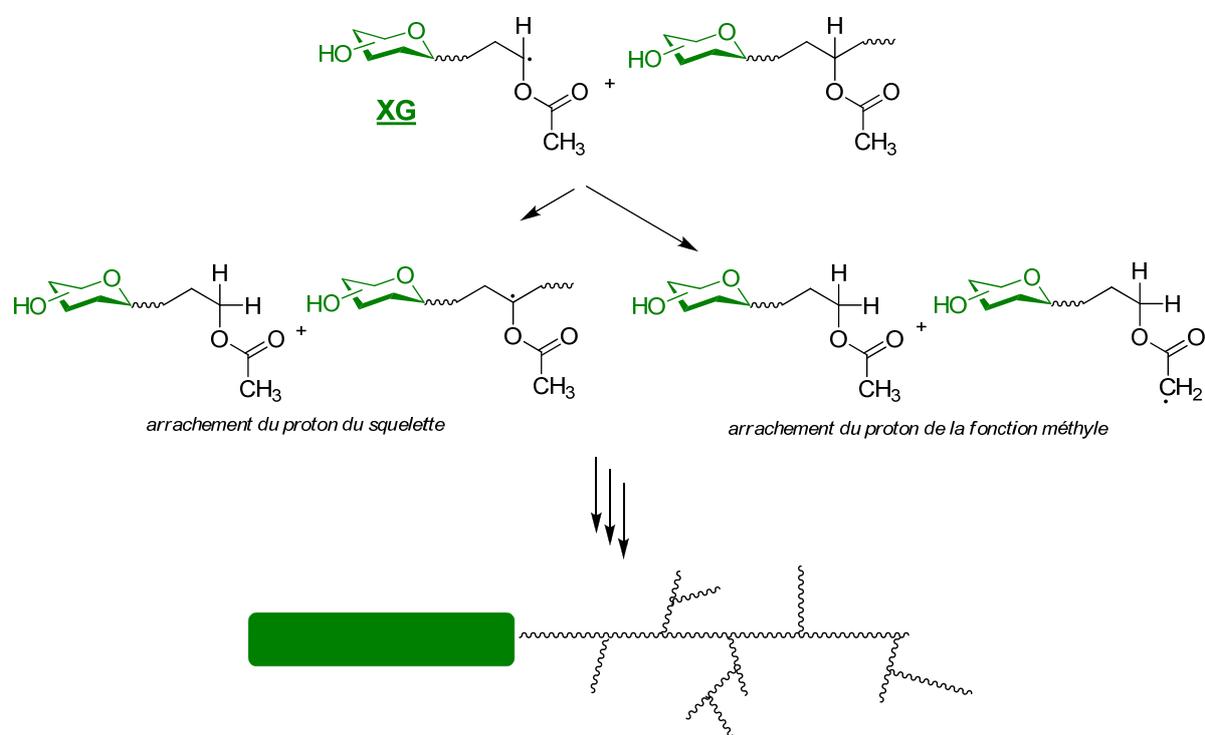


Schéma III-9 : Transfert au polymère lors de la polymérisation de l'acétate de vinyle.

La seconde hypothèse attribue la deuxième population à des chaînes de PAcV générées par le transfert de la chaîne en croissance aux fonctions hydroxyle du xyloglucane non protégées. Durant la polymérisation, le radical de la chaîne en croissance peut effectivement arracher les protons de ces fonctions en formant des chaînes de PAcV greffées sur le squelette de l'oligosaccharide (Schéma III-10).

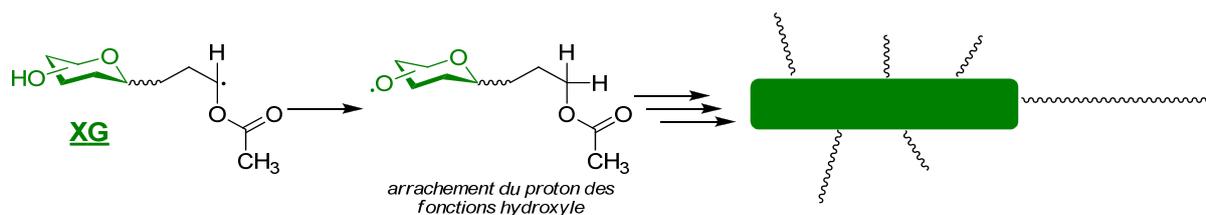


Schéma III-10 : Transfert aux fonctions hydroxyle des oligoxyglucanes lors de la polymérisation de l'acétate de vinyle.

Nous n'avons pas eu le temps d'étudier plus en détails ces aspects de la polymérisation de l'acétate de vinyle. Afin de confirmer le transfert du radical de la chaîne en croissance aux fonctions hydroxyle du xyloglucane, il serait envisageable de polymériser l'acétate de vinyle en présence d'un agent MADIX « classique » (par exemple, le Rhodixan, nom du xanthate de *O*-éthyl-*S*-(2-propanoate de méthyle) chez Rhodia) et de xyloglucane natif (non fonctionnalisé) ou même d'un disaccharide modèle. Une autre possibilité serait de polymériser l'acétate de vinyle en présence d'un agent de transfert de chaîne xyloglucane protégé par des fonctions acétate et de vérifier l'absence d'épaulement lors de l'analyse par CES. Il faut d'ailleurs relever que, dans la littérature, la plupart des exemples traitant de copolymères comportant une partie glucidique, font intervenir des sucres protégés.²⁴⁵⁻²⁴⁸

En conclusion, la polymérisation de l'acétate de vinyle à partir du macro-agent de transfert de chaîne à base d'oligoxyglucanes XG-Xa a pu être menée dans le DMF. Dans ces conditions, l'ensemble de l'oligosaccharide participe à la polymérisation MADIX. Des copolymères à blocs XG-*b*-PACV amphiphiles ont ainsi été obtenus. La conversion est cependant limitée (< 50 %) et une deuxième population attribuable à du transfert au polymère et/ou aux fonctions hydroxyle des oligoxyglucanes, apparaît pour les fortes masses molaires visées.

3.3. Synthèse de copolymères à blocs XG-*b*-PNVP par polymérisation MADIX de la *N*-vinyl-2-pyrrolidone

La poly(*N*-vinyl-2-pyrrolidone) (PNVP) possède de nombreuses applications, notamment dans le domaine biomédical et dans l'industrie cosmétique.²⁴⁹⁻²⁵³ Cet attrait

provient de sa solubilité dans les solvants aqueux et les solvants organiques et de sa biocompatibilité : ce polymère a été utilisé comme substitut du plasma sanguin lors de la seconde guerre mondiale.²⁵⁴ Il existe peu d'études sur la polymérisation radicalaire contrôlée de la *N*-vinyl-2-pyrrolidone.²⁵⁵⁻²⁶²

La polymérisation MADIX de ce monomère suit les mêmes tendances que celles de l'acétate de vinyle : avec un groupe R judicieusement choisi, les agents de transfert de chaîne xanthate conviennent particulièrement au radical en croissance très réactif (Schéma III-11). Le groupe du CAMD (Centre for Advanced Macromolecular Design) en Australie a montré que l'utilisation d'agents MADIX avec un groupe R de type *S*-benzyle ou *S*-phényléthyle permet la synthèse en masse de PNVP d'architecture bien définie (linéaire, en étoile, à blocs).²⁵⁶ Kamigaito et al. ont obtenu des résultats similaires en masse et dans des solvants fluorés mais ont noté une période d'inhibition de 6 et 1h, respectivement, tandis que Stenzel et al. ont observé une période d'inhibition de 1h pour la polymérisation en masse à partir d'agents MADIX.²⁶³ La NVP a également été polymérisée avec succès soit dans le toluène, soit le dioxane, par l'intermédiaire de *S*-phtalimidométhyle xanthate ou de diphényldithiocarbamate de diéthylmalonate, respectivement.²⁵⁷ Par ailleurs, Klupermann et al. ont étudié la polymérisation de la NVP et ont identifié plusieurs sous-produits issus de cette polymérisation.²⁶⁰ Il est par exemple conseillé de ne pas effectuer de polymérisation de la NVP au-delà de 60°C pour éviter l'hydrolyse de la fonction xanthate.

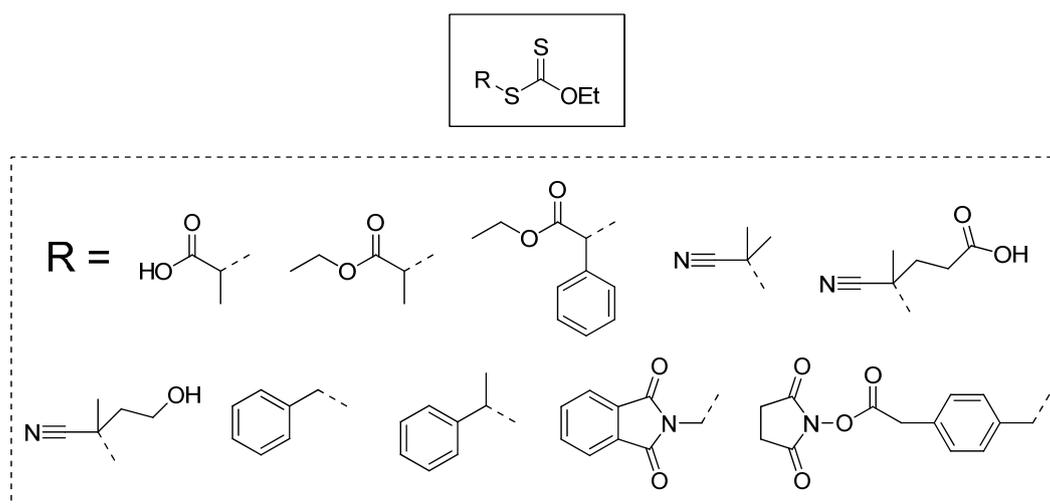


Schéma III-11 : agents MADIX utilisés pour la polymérisation de la NVP.

Dans notre cas, la polymérisation de la NVP a été réalisée dans différents solvants à 60°C en présence du macro-agent de transfert de chaîne **11** et amorcée par l'ACP (Schéma III-12).

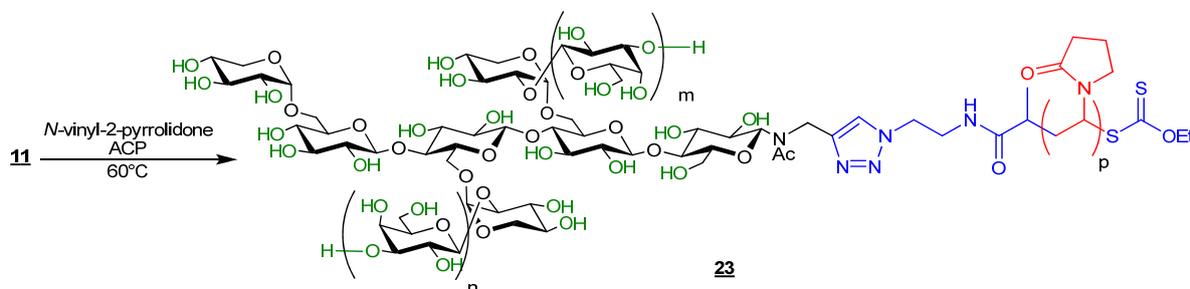


Schéma III-12 : Formation du bloc PNVP à partir du macro-agent de transfert de chaîne **11.**

Les réactions de polymérisation représentatives de notre étude sont regroupées dans le Tableau III-6.

Tableau III-6 : Polymérisation MADIX de la NVP à partir de **11 (ACP, 60°C).**

Echantillon	Solvant de réaction	[NVP]/[XG-Xa]	[ACP]/[XG-Xa]	ES (%)	Rmq.
23-1	H ₂ O	100	0,4	50	R/P
23-2^a	H ₂ O	100	0,4	50	R/P
23-3	H ₂ O/MeOH	100	0,4	50	R/P
23-4	DMF	100	0,4	40	R/P

^a polymérisation réalisée par ajout continue du monomère - R : XG-CTA résiduel après polymérisation ; P : perte de la fonction xanthate.

La NVP a tout d'abord été polymérisée dans l'eau pure (expérience **23-1**). L'analyse par CES dans le DMF avec détecteur réfractométrique du produit formé (Figure III-11-a) révèle que la PNVP est formée durant la réaction, mais il reste du XG-Xa n'ayant pas réagi.

Tout comme dans le cas de la polymérisation de l'acrylamide, le monomère a alors été additionné en continu (expérience **23-2**) à l'aide d'un pousse-seringue, mais aucune amélioration notable n'a été observée.

Par ailleurs, l'analyse du chromatogramme d'exclusion stérique muni d'un détecteur UV à 290 nm (Figure III-11-b), ne révèle aucune population dans les fortes masses molaires. Seule une réponse très faible aux temps de rétentions correspondant au XG-Xa apparaît (les

chromatogrammes ont été normalisés). Il semble donc que le copolymère formé ne soit pas doté de la fonction xanthate en bout de chaîne. La modification du solvant de réaction avec un mélange H₂O/MeOH (1-1, v/v) (**23-3**) ou dans le DMF (**23-4**) conduit à des chromatogrammes présentant les mêmes allures.

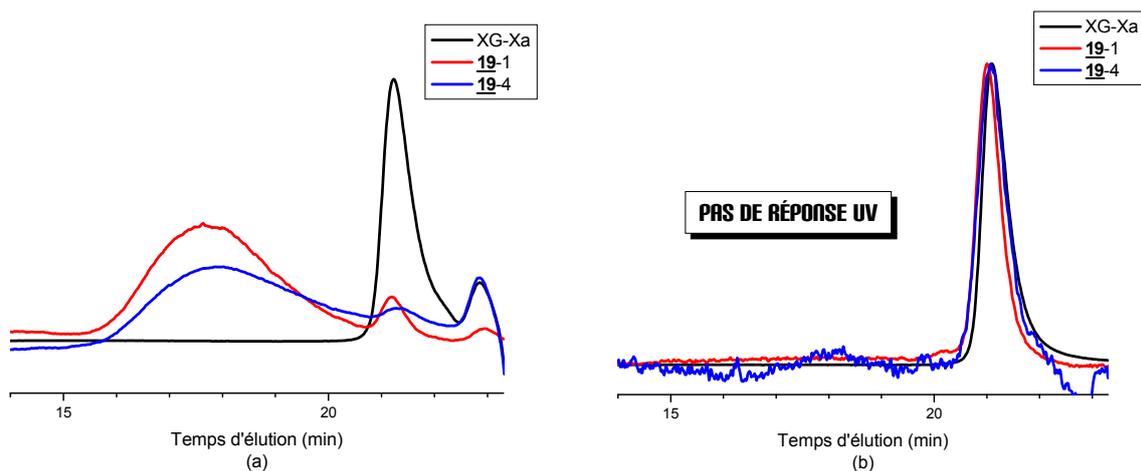


Figure III-11 : Analyse par CES des copolymères XG-*b*-PNVP dans le DMF (cf. Tableau III-6 pour la méthode de synthèse) – réponse (a) réfractométrique ; (b) UV à 290 nm.

Sur la base des travaux de Pound et al.^{260, 261} parus au cours de ce travail, une explication peut être apportée à ces observations. Les auteurs décrivent en effet un phénomène de dégradation de la fonction xanthate en bout de chaîne de PNVP par hydrolyse. Par exemple, la PNVP placée dans l'eau à 40°C pendant 16h est totalement hydrolysée et laisse apparaître une fonction hydroxyle en bout de chaîne (Schéma III-13).

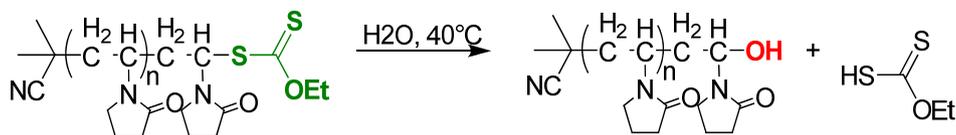


Schéma III-13 : Hydrolyse de la fonction xanthate lors de la polymérisation de la NVP dans l'eau à 40°C.^{260, 261}

Cette réaction serait spécifique de la présence du substituant *N*-pyrrolidone. Des résultats similaires ont été obtenus pour la polymérisation de la NVP dans le DMF, ce qui

semble indiquer que cette réaction secondaire pourrait être propre à l'utilisation de solvants polaires.

En résumé, la polymérisation de la NVP à partir de l' ω -xanthate-oligoxyloglucane XG-Xa n'a pas pu être réalisée directement dans l'eau, en raison de réactions secondaires pouvant intervenir. Il a ainsi été observé, par analyse UV à 290 nm, une perte de la fonction xanthate de l'oligosaccharide. D'autres solvants, comme le DMF conduisent aux mêmes résultats. L'utilisation d'un agent MADIX de transfert de chaîne, de faible masse molaire et soluble dans d'autres solvants sera utilisé dans le chapitre IV. En sa présence et dans le 1,4-dioxane à 60°C, des PNVP bien définis ont pu être obtenus.

4. Synthèse de copolymères à blocs PAm-*b*-XG-*b*-PAm à partir du macro-agent de transfert de chaîne oligoxyloglucane α,ω -difonctionnel

Dans cette partie, nous nous intéressons à la polymérisation MADIX de l'acrylamide (Am) à partir du macro-agent de transfert de chaîne xyloglucane α,ω -difonctionnel **19** (Xa-XG-Xa) décrit dans le chapitre II, dans l'optique d'accéder à une nouvelle famille de copolymères à blocs « hybrides », composés de deux blocs vinyliques hydrophiles de part et d'autre d'un bloc central glucidique.

La disponibilité d'une faible quantité de composé difonctionnel **19** nous a imposé un nombre limité de réactions.

La polymérisation de l'acrylamide à partir du macro-agent de transfert **19** a été conduite dans les mêmes conditions que celles utilisées pour le macro-agent de transfert ω -monofonctionnel **11**. La réaction a été effectuée à 70°C dans l'eau pure avec l'ACP comme générateur de radicaux (Schéma III-14). Deux copolymères ont ainsi été élaborés, avec 30 et 100 équivalents d'acrylamide par rapport à l'oligosaccharide porteur des deux fonctions xanthate (Tableau III-7).

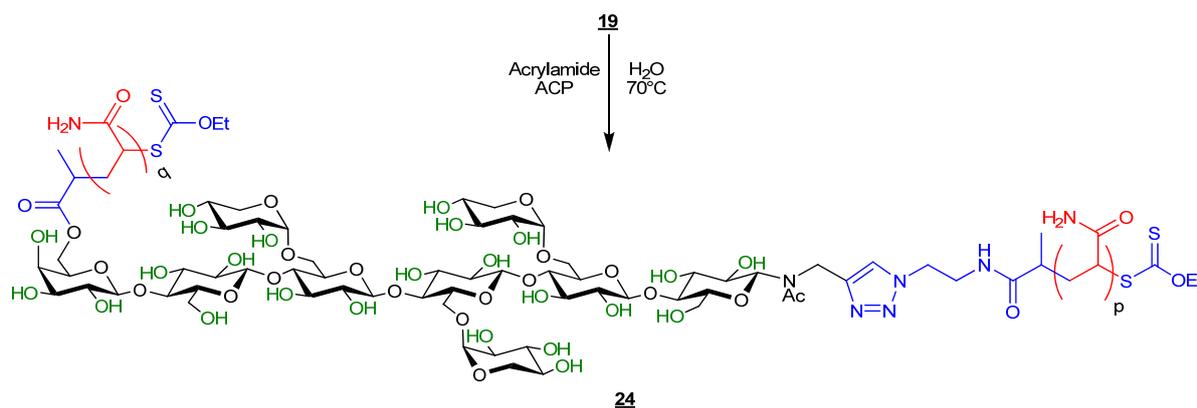


Schéma III-14 : Formation des blocs PAm à partir du macro-agent de transfert de chaîne difonctionnel 19.

Tableau III-7 : Polymérisation MADIX de l'Am à partir de 19 (H₂O, ACP, 70°C).

Echantillon	[Am]/[XG-Xa]	[ACP]/[XG-Xa]	ES (%)	M _n ^a (g/mol)	I _p ^a	Conv. ^b (%)	DP _n th	DP _n ^b
<u>24</u> -1	30	0,2	20	3600	1,56	95	29	32
<u>24</u> -2	100	0,2	20	11500	1,26	96	96	100

^a déterminée par CES dans l'eau (étalonnage avec du PEO linéaire) ; ^b composition du bloc Am déterminée par spectrométrie de RMN ¹H dans le D₂O.

La polymérisation suit les mêmes tendances générales que pour l'obtention du copolymère diblocs XG-*b*-PAm. La conversion de l'acrylamide est de l'ordre de 95 % et une augmentation des masses molaires moyennes est effectivement observée sur le chromatogramme d'exclusion stérique par rapport au pic d'élution du macro-agent de transfert de chaîne 19 (Figure III-12). Il apparaît là encore, un épaulement dans les faibles masses molaires correspondant à une assez faible quantité d'oligosaccharide n'ayant pas participé à la polymérisation.

De la même manière que pour le macro-CTA 11, des phénomènes d'agrégation dans l'eau sont observés dans le cas du macro-CTA difonctionnel 19. Ils ont pour origine les liaisons hydrogène entre les différents oligosaccharides présents dans la solution. Les unités galactose (qui permettent de réduire la force des interactions hydrogène) absentes du composé 19 favorisent probablement cette agrégation.

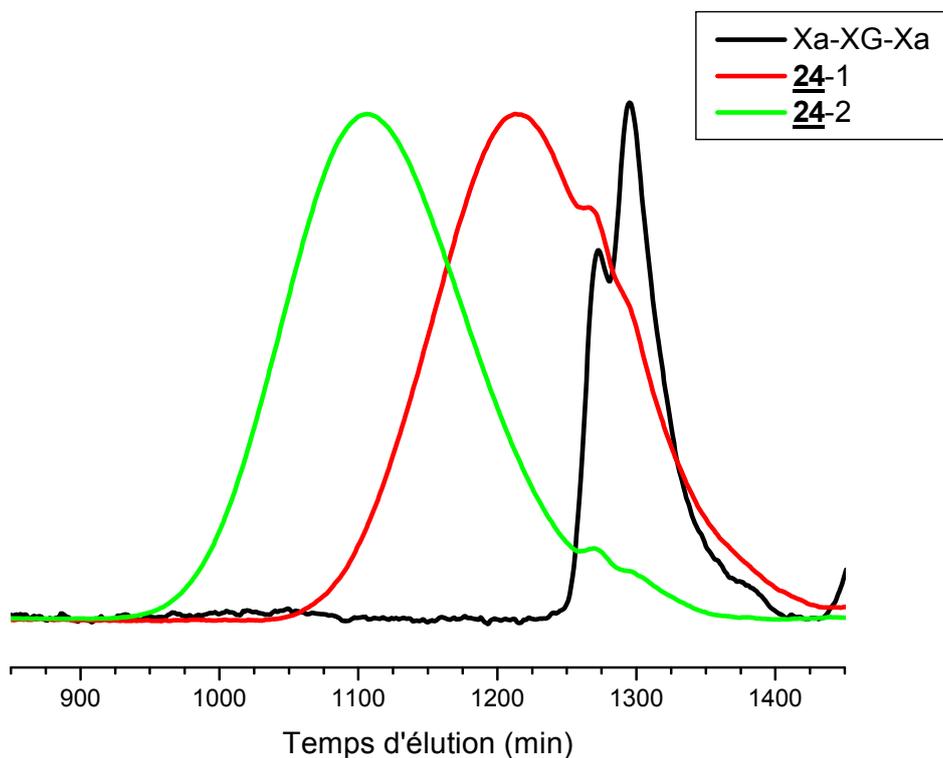


Figure III-12 : Analyse par CES des copolymères PAM-*b*-XG-*b*-PAM dans l'eau (cf. Tableau III-7 pour la méthode de synthèse) – réponse réfractométrique.

Les \overline{DP}_n des blocs PAm ont néanmoins été calculés par spectroscopie de RMN 1H , en déterminant le rapport entre la valeur de l'intégration des protons entre 3,2 ppm et 4,1 ppm (correspondant aux protons H-2,3,4,5,6 des Glc, Xyl, Gal et aux protons du groupe CH_2-CH_2 de l'agent de couplage amide, soit 55 protons) et la valeur de l'intégration du groupe CH_2 du squelette vinylique (Figure III-13). Les \overline{DP}_n obtenus sont relativement en bon accord avec les valeurs attendues à partir du rapport $[Am]/[19]$ (Equation III-8 ; Tableau III-7).

$$\overline{DP}_n = \frac{55 \times A_1}{2 \times A_2} \quad (\text{III-8})$$

où A_1 et A_2 sont les aires des intégrales des protons CH_2 et de l'ensemble des protons de l'oligoxyglucane (entre 3,1 et 4,3 ppm) et CH_2-CH_2 , respectivement.

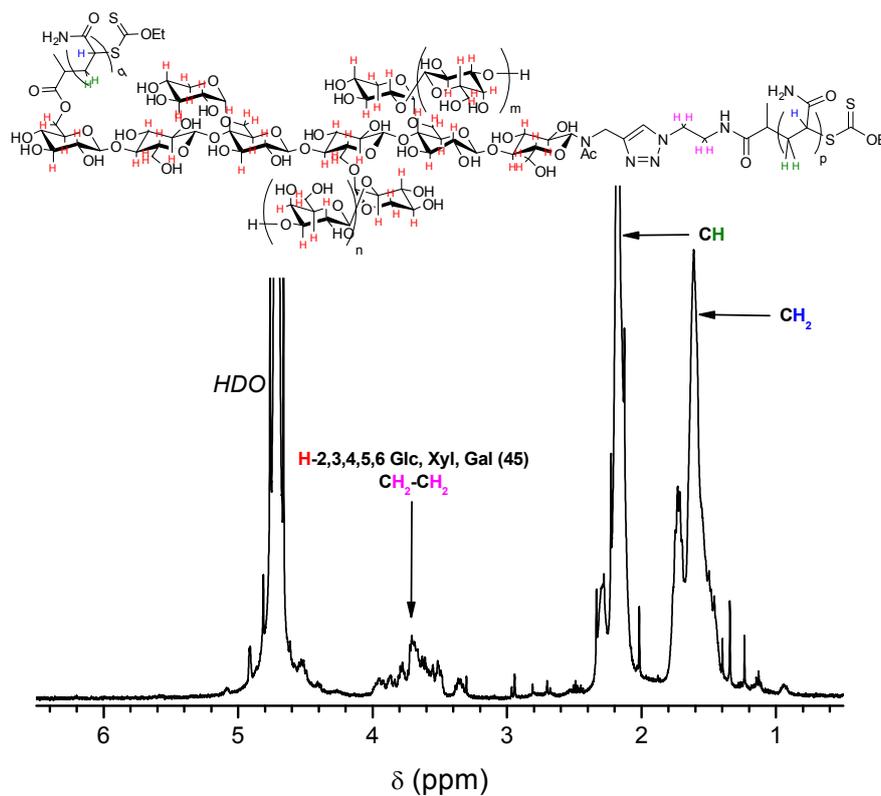


Figure III-13 : Spectre de RMN ^1H (D_2O , 298K) du copolymère à blocs 24-2.

A l'instar des synthèses des copolymères diblocs XG-*b*-PAAm, il a été possible d'isoler un copolymère triblocs PAAm-*b*XG-*b*-PAAm pur en effectuant une purification du mélange par dialyse dans l'eau. Après cette opération, l'analyse des produits par CES montre, en effet, la disparition totale du précurseur α,ω ,difonctionnalisé (Figure III-14).

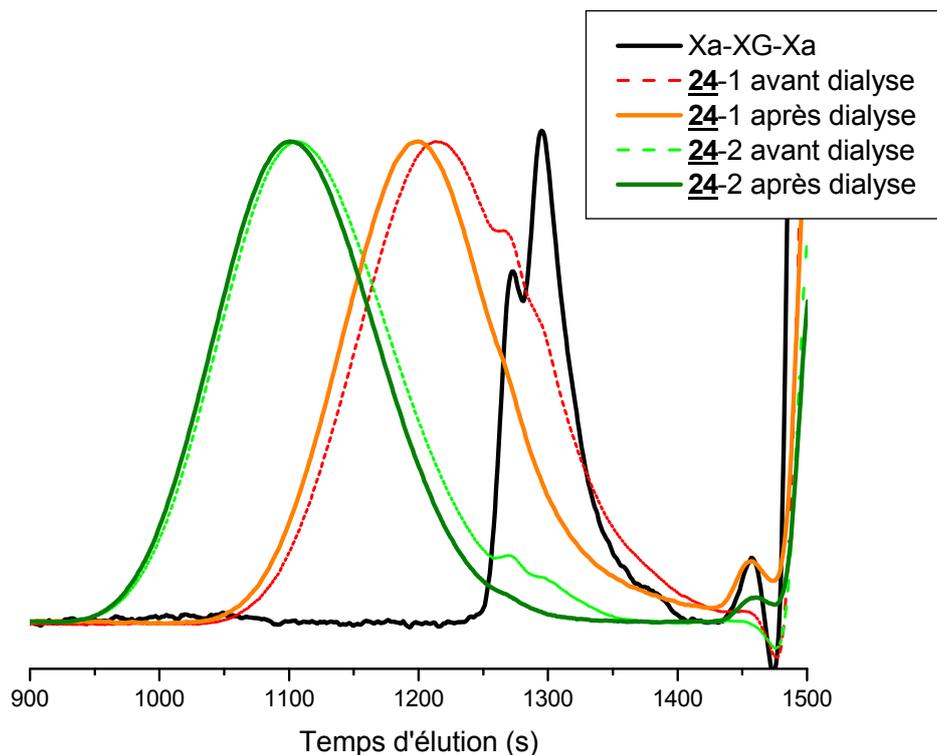


Figure III-14 : Analyse par CES des copolymères PAm-*b*-XG-*b*-PAm dans l'eau avant et après dialyse – réponse réfractométrique.

Ainsi, à partir d'un précurseur oligoxyloglucane α,ω , difonctionnalisé par des fonctions xanthate, on peut faire croître deux blocs de PAm par polymérisation radicalaire contrôlée *via* MADIX. Ceci permet d'obtenir, pour la première fois, un copolymère triblocs PAm-*b*-XG-*b*-PAm. La polymérisation menée directement dans l'eau induit cependant l'agrégation du glucide et une consommation partielle de ce dernier au cours de la polymérisation MADIX. Le copolymère triblocs pur peut être isolé après une étape de purification par dialyse, éliminant le précurseur glucidique résiduel.

5. Conclusion

En combinant la modification chimio-enzymatique du xyloglucane et la polymérisation radicalaire contrôlée *via* MADIX, des copolymères à blocs « hybrides » naturel/synthétique ont pu être obtenus par la méthode « starting from ». Trois types de monomères (acrylamide, acétate de vinyle, *N*-vinyl-2-pyrrolidone) ont ainsi été polymérisés *via* MADIX à partir d'oligoxyloglucanes de DP 7, 8 et 9 modifiés sur l'unité réductrice par une fonction xanthate. Pour chaque monomère, les conditions de polymérisation MADIX ont été adaptées.

- Ainsi, la polymérisation de l'acrylamide a été menée en milieu aqueux. Dans ces conditions, la formation d'agrégats des macro-CTA à base de xyloglucanes rend difficile l'accessibilité à la fonction xanthate de l'oligosaccharide. En conséquence, une petite proportion du macro-agent de transfert de chaîne n'est pas consommée au cours de la polymérisation. Des copolymères diblocs purs xyloglucane-*b*-PAm ont néanmoins été obtenus en effectuant une dialyse de la solution contenant les copolymères diblocs et contaminée par le macro-CTA résiduel. En terme de perspectives, il serait intéressant de polymériser l'acrylamide en présence de sels pour casser les liaisons hydrogène entre les molécules de xyloglucane et améliorer sa solubilité et avoir un meilleur accès aux fonctions xanthate.

- La polymérisation de la *N*-vinyl-2-pyrrolidone conduite dans l'eau induit l'hydrolyse de la fonction xanthate terminale portée par les oligoxyloglucanes, comme le confirme la perte de réponse du produit formé lors de son analyse par CES avec réponse UV à 290 nm. Dans ces conditions, les copolymères à blocs ciblés n'ont pas pu être obtenus. Le chapitre suivant donnera une alternative à la synthèse de tels copolymères à doubles blocs hydrophiles.

- La polymérisation de l'acétate de vinyle permet d'obtenir des copolymères à blocs sans xyloglucane résiduel. L'analyse par CES dans le DMF souligne cependant l'existence d'une seconde population de plus fortes masses molaires, suggérant l'occurrence de réactions de transfert au polymère et/ou aux fonctions hydroxyle de l'oligosaccharide lors de la croissance du bloc PAcV. Une analyse de spectrométrie RMN 2D du proton ¹H et du carbone ¹³C pourrait probablement nous renseigner sur la présence de greffons PAcV. Par ailleurs, l'utilisation de xyloglucane « natif » (non modifié) ou d'un disaccharide modèle lors de la polymérisation de l'acétate de vinyle pourrait permettre de vérifier la présence de la seconde population lors de l'analyse par CES. Un autre moyen de vérifier l'hypothèse de réactions de

transfert aux fonctions hydroxyle serait de protéger ces dernières (par des fonctions acétate ou triméthylsilyle) et polymériser ainsi l'acétate de vinyle à partir du xyloglucane protégé.

A partir de l'heptaxyloglucane (DP 7) modifié à la fois sur les extrémités réductrices et non réductrices par une fonction xanthate, l'acrylamide a été polymérisé directement dans l'eau ce qui a permis d'accéder, pour la première fois à notre connaissance, à un copolymère triblocs « hybride » naturel/synthétique de type PAm-*b*-XG-*b*-PAm. De la même manière que pour le macro-CTA monofonctionnel, l'agrégation des oligosaccharides difonctionnels entraîne la présence de précurseur résiduel en fin de polymérisation. Ce dernier peut toutefois être éliminé par dialyse pour conduire à un copolymère triblocs pur. Cette méthodologie ouvre la voie à une nouvelle variété de copolymères à blocs « hybrides » impliquant la double fonctionnalisation du bloc glucidique.

Pour compléter cette étude, il serait intéressant d'évaluer les propriétés physico-chimiques d'auto-assemblage en solution des différents composés synthétisés et notamment des systèmes amphiphiles XG/PAcV.

Références Bibliographiques

209. Varki, A., *Glycobiology* **1993**, *3*, 97-130.
210. Heinze, T., Polysaccharides I. In Heidelberg, S. B., Ed. *Advances in Polymer Science*, **2005**; Vol. 186, p 185.
211. Klemm, D., Polysaccharides II. In Heidelberg, S. B., Ed. *Advances in Polymer Science*, **2006**; Vol. 205, p 205.
212. Otsu, T.; Yoshida, M., *Die Makromolekulare Chemie, Rapid Communications* **1982**, *3*, 127-132.
213. Greszta, D.; Mardare, D.; Matyjaszewski, K., *Macromolecules* **1994**, *27*, 638-644.
214. Goto, A.; Fukuda, T., *Prog. Polym. Sci.* **2004**, *29*, 329-385.
215. Matyjaszewski, K., *Handbook of Radical Polymerization*. In *Handbook of Radical Polymerization*, Wiley Interscience, New York, **2002**; p 361.
216. Barner-Kowollik, C., *Handbook of RAFT Polymerization*. Wiley-VCH, Weinheim: **2008**.
217. Yutani, Y.; Tatemoto, M. EP0489370 (A1), **1992**.
218. Matyjaszewski, K.; Gaynor, S.; Wang, J.-S., *Macromolecules* **1995**, *28*, 2093-2095.
219. Krstina, J.; Moad, G.; Rizzardo, E.; Winzor, C. L.; Berge, C. T.; Fryd, M., *Macromolecules* **1995**, *28*, 5381-5385.
220. Zard, S., Z., *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *36*, 672-685.
221. Corpart, P.; Charmot, D.; Biadatti, T.; Zard, S.; Michelet, D. WO9858974, **1998**.
222. Taton, D.; Destarac, M.; Zard, S. Z., *Macromolecular Design via the Interchange of Xanthates*. In *Handbook of RAFT Polymerization*, Wiley-VCH, Weinheim, **2008**; pp 373-422.
223. Moad, G.; Rizzardo, E.; Thang, S. H., *Aust. J. Chem.* **2005**, *58*, 379-410.
224. Moad, G.; Rizzardo, E.; Thang, S. H., *Aust. J. Chem.* **2006**, *59*, 669-692.
225. Moad, G.; Rizzardo, E.; Thang, S. H., *Polymer* **2008**, *49*, 1079-1131.
226. Perrier, S.; Takolpuckdee, P., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2005**, *43*, 5347-5393.
227. Debuigne, A.; Caille, J.-R.; Jérôme, R., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1101-1104.
228. Kwak, Y.; Goto, A.; Fukuda, T.; Kobayashi, Y.; Yamago, S., *Macromolecules* **2006**, *39*, 4671-4679.

229. Lowe, A. B.; McCormick, C. L., *Prog. Polym. Sci.* **2007**, *32*, 283-351.
230. Zetterlund, P. B.; Kagawa, Y.; Okubo, M., *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 3747-3794.
231. Zheng, H.; Bai, W.; Hu, K.; Bai, R.; Pan, C., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2008**, *46*, 2575-2580.
232. Mueller, A. H. E.; Zhuang, R.; Yan, D.; Litvinenko, G., *Macromolecules* **1995**, *28*, 4326-4333.
233. Destarac, M.; Brochon, C.; Catala, J.-M.; Wilczewska, A.; Zard, S. Z., *Macromol. Chem. Phys.* **2002**, *203*, 2281-2289.
234. Chiefari, J.; Mayadunne, R. T. A.; Moad, C. L.; Moad, G.; Rizzardo, E.; Postma, A.; Thang, S. H., *Macromolecules* **2003**, *36*, 2273-2283.
235. Thomas, D. B.; Convertine, A. J.; Hester, R. D.; Lowe, A. B.; McCormick, C. L., *Macromolecules* **2004**, *37*, 1735-1741.
236. Thomas, D. B.; Convertine, A. J.; Myrick, L. J.; Scales, C. W.; Smith, A. E.; Lowe, A. B.; Vasilieva, Y. A.; Ayres, N.; McCormick, C. L., *Macromolecules* **2004**, *37*, 8941-8950.
237. Thomas, D. B.; Sumerlin, B. S.; Lowe, A. B.; McCormick, C. L., *Macromolecules* **2003**, *36*, 1436-1439.
238. Convertine, A. J.; Lokitz, B. S.; Lowe, A. B.; Scales, C. W.; Myrick, L. J.; McCormick, C. L., *Macromol. Rapid Commun.* **2005**, *26*, 791-795.
239. Taton, D.; Wilczewska, A.-Z.; Destarac, M., *Macromol. Rapid Commun.* **2001**, *22*, 1497-1503.
240. Destarac, M.; Taton, D.; Zard, S. Z.; Saleh, T.; Six, Y., On the importance of xanthate substituents in the MADIX process. In *ACS Symposium Series*, Matyjaszewski, K., Ed. **2003**; Vol. 854, pp 536-550.
241. Theis, A.; Davis, T. P.; Stenzel, M. H.; Barner-Kowollik, C., *Polymer* **2006**, *47*, 999-1010.
242. Daniels, W., Vinyl acetate polymers. In *Encyclopaedia of Polymer Science and Technology*, Wiley-Interscience, John Wiley & Sons: New York, **1989**; Vol. 17, pp 402-425.
243. Vandezande, G. A.; Smith, O. W.; Bassett, D. R., Vinyl acetate polymerization. In *Emulsion Polymerization and Emulsion Polymers*, John Wiley & Sons: Chichester, U.K., **1997**; pp 563-587.
244. Britton, D.; Heatley, F.; Lovell, P. A., *Macromolecules* **1998**, *31*, 2828-2837.
245. Narumi, A.; Miura, Y.; Otsuka, I.; Yamane, S.; Kitajyo, Y.; Satoh, T.; Hirao, A.; Kaneko, N.; Kaga, H.; Kakuchi, T., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2006**, *44*, 4864-4879.

246. Houga, C.; Meins, J. F. L.; Borsali, R.; Taton, D.; Gnanou, Y., *Chem. Commun.* **2007**, 3063-3065.
247. Li, B.-G.; Zhang, L.-M., *Carbohydr. Polym.* **2008**, *74*, 390-395.
248. Haddleton, D. M.; Ohno, K., *Biomacromolecules* **2000**, *1*, 152-156.
249. Kristinsson, K. G., *J. Med. Microbiol.* **1989**, *28*, 249-257.
250. Francois, P.; Vaudaux, P.; Nurdin, N.; Mathieu, H. J.; Descouts, P.; Lew, D. P., *Biomaterials* **1996**, *17*, 667-678.
251. Tunney, M. M.; Gorman, S. P., *Biomaterials* **2002**, *23*, 4601-4608.
252. Friedrich, G.; Vogle, M., *Soap, Cosmet. Chem. Spec.* **1989**, *4*, 42-46.
253. Vogel, F., *Cosmetic Toiletries* **1985**, *100*, 43.
254. Robinson, B. V.; Sullivan, F. M.; Borzelleca, J. F.; Schwartz, S. L., In *PVP: A Critical Review of the Kinetics and Toxicology of Polyvinylpyrrolidone (Povidone)*, Lewis Publishers, **1990**.
255. Ray, B.; Kotani, M.; Yamago, S., *Macromolecules* **2006**, *39*, 5259-5265.
256. Nguyen, T. L. U.; Eagles, K.; Davis, T. P.; Barner-Kowollik, C.; Stenzel, M. H., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2006**, *44*, 4372-4383.
257. Postma, A.; Davis, T. P.; Li, G.; Moad, G.; O'Shea, M. S., *Macromolecules* **2006**, *39*, 5307-5318.
258. Devasia, R.; Bindu, R. L.; Borsali, R.; Mouglin, N.; Gnanou, Y., *Macromol. Symp.* **2005**, *229*, 8-17.
259. Pound, G.; Aguesse, F.; McLeary, J. B.; Lange, R. F. M.; Klumperman, B., *Macromolecules* **2007**, *40*, 8861-8871.
260. Pound, G.; Eksteen, Z.; Pfukwa, R.; McKenzie, J. M.; Lange, R. F. M.; Klumperman, B., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2008**, *46*, 6575-6593.
261. Pound, G.; McKenzie, J. M.; Lange, R. F. M.; Klumperman, B., *Chem. Commun.* **2008**, 3193-3195.
262. Bilalis, P.; Pitsikalis, M.; Hadjichristidis, N., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2006**, *44*, 659-665.
263. McDowall, L.; Chen, G.; Stenzel, M. H., *Macromol. Rapid Commun.* **2008**, *29*, 1666-1671.

SYNTHESE DE
COPOLYMERES A BLOCS
« HYBRIDES »
XYLOGLUCANE/
POLYMERE VINYLIQUE
PAR LA VOIE « COUPLING
ONTO »

1.	Introduction	168
2.	Synthèse de copolymères à blocs xyloglucane- <i>b</i> -PAm par « chimie click ».....	169
2.1.	Synthèse des homopolymères α -azido-PAm par polymérisation MADIX	169
2.2.	Réaction de couplage par « chimie click »	173
3.	Synthèse de copolymères à blocs xyloglucane- <i>b</i> -PAcV par « chimie click »	176
3.1.	Synthèse des homopolymères α -azido-PAcV par polymérisation MADIX.....	177
3.2.	Réaction de couplage par « chimie click »	180
3.3.	Etude en solution aqueuse d'un copolymère à blocs XG- <i>b</i> -PAcV	183
4.	Synthèse de copolymères à blocs xyloglucane- <i>b</i> -PNVP par « chimie click ».....	189
4.1.	Synthèse des homopolymères α -azido-PNVP par polymérisation MADIX	189
4.2.	Réaction de couplage par « chimie click »	192
4.3.	Etude en solution hydro-organique d'un copolymère à blocs XG- <i>b</i> -PNVP	196
5.	Conclusion.....	198

1. Introduction

Dans le chapitre précédent, il a été noté que l'oligosaccharide joue un rôle non négligeable au cours de la synthèse de copolymères à blocs « hybrides » naturel/synthétique réalisée par la voie « starting from ».

Ce nouveau chapitre est consacré à la synthèse de copolymères diblocs similaires, mais selon une voie différente, désignée ici « coupling onto ». Il s'agit d'abord de synthétiser séparément les deux blocs, glucidique d'une part et vinylique d'autre part, puis de coupler ensuite les deux types d'homopolymères par « chimie click » (Schéma IV-).

Le bloc vinylique est obtenu à partir d'un agent de transfert de chaîne α -azido (Xa, composé **20**) par polymérisation MADIX de différents monomères : acrylamide (Am), acétate de vinyle (AcV) et *N*-vinyl-2-pyrrolidone (NVP). L'emploi de cet agent MADIX est motivé par la stabilité de la « rotule » amide vis-à-vis des traitements acides ou basiques, en comparaison à une « rotule » ester. Le bloc oligoxyloglucane, quant à lui, est doté d'une fonction alcyne en position ω –antagoniste à la fonction azoture- (composé **9**), tel que décrit dans le chapitre II (Schéma IV-2).

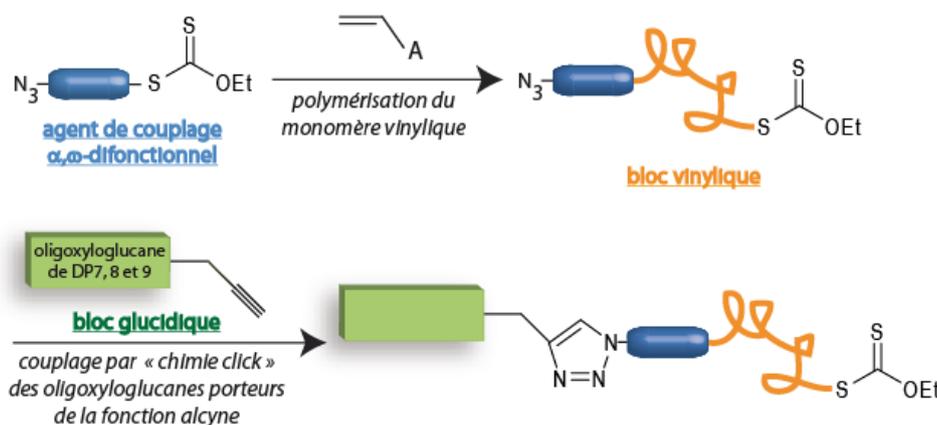


Schéma IV-1 : Stratégie « coupling onto » pour la synthèse de copolymères à blocs XG-*b*-polymère vinylique.

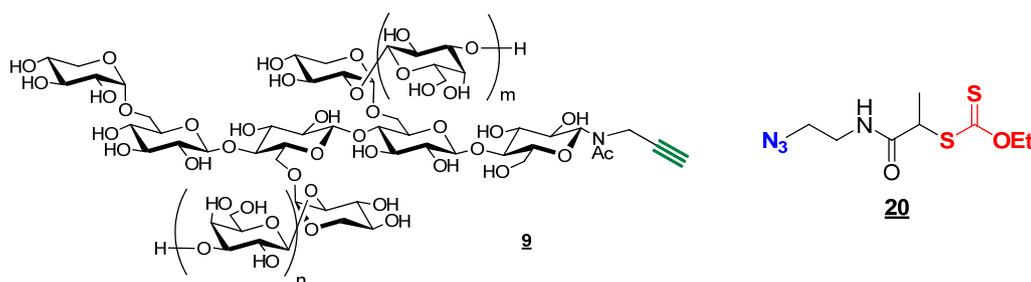


Schéma IV-2 : Oligosaccharide et agent de transfert de chaîne MADIX porteurs des fonctions antagonistes alcyne et azoture.

La méthodologie qui consiste à coupler un bloc glucidique à un bloc vinylique a déjà été quelque peu étudiée. Elle nécessite cependant l'utilisation d'un excès d'un des deux blocs ainsi qu'une purification après couplage pour éliminer cet excès. La méthode la plus utilisée repose sur la réaction d'amination réductrice entre la fonction aldéhyde du glucide et un composé porteur d'une fonction amine.²⁶⁴⁻²⁶⁸ D'autres méthodes, comme le couplage par addition de Michael²⁶⁹ ou le couplage radicalaire²⁷⁰ ont été employées. Dernièrement, le couplage par « chimie click » a également permis au groupe de Driguez d'obtenir des copolymères à blocs hybrides à base d'oligosaccharides et de polysiloxane.²⁷¹ C'est cette dernière méthode que nous avons utilisée pour la suite de ce travail de thèse.

2. Synthèse de copolymères à blocs xyloglucane-*b*-PAm par « chimie click »

La première famille de copolymères à blocs « hybrides » naturel/synthétique obtenue par « chimie click » est celle composée d'oligoxyloglucanes et de poly(acrylamide) (PAm) afin d'obtenir des copolymères à doubles blocs doubles hydrophiles, notés XG-*b*-PAm.

2.1. Synthèse des homopolymères α -azido-PAm par polymérisation MADIX

L'acrylamide étant hydrophile, l'objectif a été de mettre en œuvre la polymérisation en milieu aqueux. Néanmoins, la molécule Xa **20** porteuse de la fonction xanthate est hydrophobe et l'emploi du méthanol comme cosolvant organique miscible à l'eau s'est avéré nécessaire. Le mode opératoire retenu utilise donc un mélange H₂O/MeOH 1-1 (v/v) et la

réaction a été effectuée à 70°C avec l'acide 4,4'-Azobis(4-cyanopentanoïque) (ACP) comme amorceur. L'extrait sec a été fixé à 20 % et la quantité d'ACP ajoutée est égale à 20 % par rapport à la concentration en fonction xanthate (Schéma IV-3).

Plusieurs homopolymères ont ainsi été synthétisés après 24h de réaction, en faisant varier le taux d'agent de transfert de chaîne (entre 1 et 4 % molaire). Les conditions et les caractéristiques de l'ensemble des polymères synthétisés sont résumées dans le Tableau III-7.

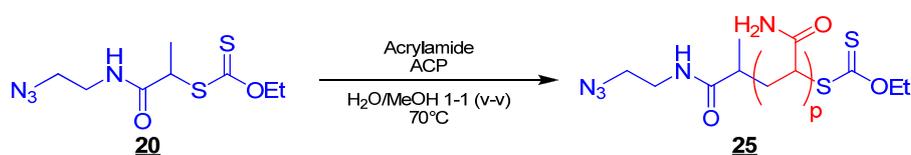


Schéma IV-3 : Synthèse d'homopolymères PAM à partir de l'agent MADIX 20.

Tableau IV-1 : Polymérisation MADIX de l'Am à partir de 20 (H₂O/MeOH 1-1 (v/v), ACP, 70°C).

Echantillon	[Am]/[<u>20</u>]	[ACP]/[<u>20</u>]	ES (%)	M _n ^a (g/mol)	I _p ^a	Conv. ^b (%)	\overline{DP}_{nth}	\overline{DP}_n^b
<u>25</u> -1	25	0,2	20	2320	1,81	99	25	32
<u>25</u> -2	50	0,2	20	4660	1,71	99	50	65
<u>25</u> -3	100	0,2	20	7540	1,66	99	99	110

^a déterminée par CES dans l'eau (étalonnage avec du PEO linéaire), ^b composition du bloc Am déterminée par spectrométrie de RMN ¹H dans le D₂O.

La conversion des fonctions acryliques a été déterminée par spectrométrie de RMN ¹H dans le D₂O. L'intégration des signaux relatifs au monomère a permis de conclure à une conversion de 99 %. Par ailleurs, la valeur de l'intégration des protons du PAM (entre 2,1 et 2,5 ppm pour les protons CH et entre 1,4 et 1,9 ppm pour les protons CH₂) par rapport à la valeur de l'intégration des protons du xanthate (3,45 ppm pour les protons CH₂-CH₂) a permis de vérifier que les degrés de polymérisation moyens en nombre \overline{DP}_n sont proches des valeurs théoriques (données par le rapport [Am]/[20]) (équation IV-1).

La Figure IV- présente le spectre de RMN ¹H type d'un homopolymère dans le D₂O avec les signaux caractéristiques du produit formé.

$$\overline{DP}_n = \frac{A_1}{A_2} \times 2 \quad (\text{IV-1})$$

où A_1 et A_2 sont les aires des intégrales des protons CH_2 et $\text{CH}_2\text{-CH}_2$, respectivement.

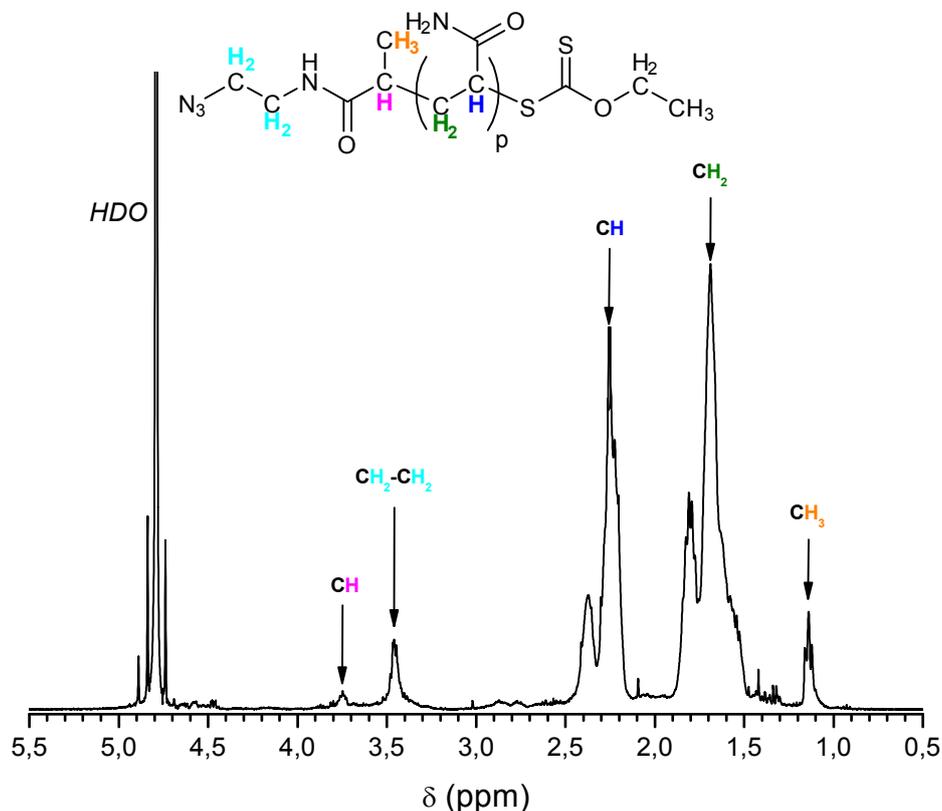


Figure IV-1 : Spectre de RMN ^1H (D_2O , 298 K) du PAm 25-1 (D_2O , 298K).

Après purification par précipitation dans l'acétone, les polymères ont été analysés par chromatographie d'exclusion stérique en milieu aqueux avec détecteurs réfractométrique et UV réglé à 290 nm, longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption des fonctions xanthate (Figure IV-2). Les chromatogrammes révèlent une distribution unimodale et un indice de polymolécularité entre 1,6 et 1,8 signe d'un relatif bon contrôle de la polymérisation MADIX de l'acrylamide. Ces indices sont proches de ceux trouvés par Taton et al. pour la polymérisation de l'acrylamide avec un agent de transfert de type xanthate mono- ou difonctionnel.²⁷² Ces valeurs sont typiques d'un contrôle *via* RAFT/MADIX pour un agent de transfert de chaîne dont la constante de transfert (C_{tr}) entre 1 et 10 (voir chapitre II, partie 2).

On constate par ailleurs que les masses molaires apparentes augmentent avec la diminution de la concentration en agent de transfert de chaîne. De plus, les populations de chaînes sont visibles par détection UV, ce qui rend bien compte de la présence de fonctions xanthate en bout de chaîne, et atteste à nouveau du caractère contrôlé de la polymérisation MADIX de l'acrylamide (Figure IV-2b).

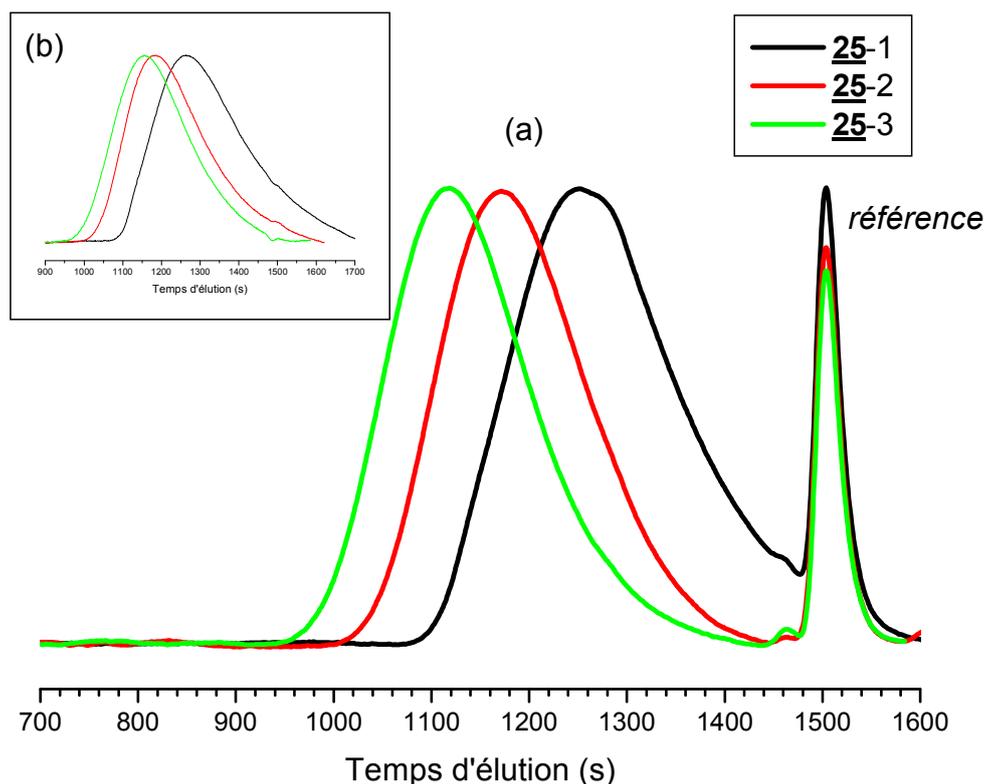


Figure IV-2 : Analyse par CES des homopolymères PAm 25 dans l'eau – (a) réponse réfractométrique, (b) réponse UV à 290 nm.

Ces homopolymères montrent également la présence de la fonction azoture, comme le confirme leur analyse par spectrométrie IR avec l'adsorption caractéristique à 2100 cm^{-1} (Figure IV-4). Il est alors possible d'envisager de coupler ces PAm α -azido sur des oligoxyloglucanes comportant la fonction alcyne.

2.2. Réaction de couplage par « chimie click »

Les réactions de couplage entre les α -azoture-PAm **25** et l' ω -alcyne-XG **9** (noté XG-prop) ont été effectuées dans l'eau à température ambiante. La cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen est catalysée par le cuivre sous la forme d'un système sulfate de cuivre/ascorbate de sodium (Schéma IV-4).^{273, 274} Le sulfate de cuivre est ajouté par le biais d'une solution concentrée à 1M. La réaction est réalisée ici avec un excès d'oligoxyloglucanes (2 éq.). Après 8 h d'agitation, l'excès de glucide de même que les sels de cuivre sont éliminés par dialyse dans l'eau.

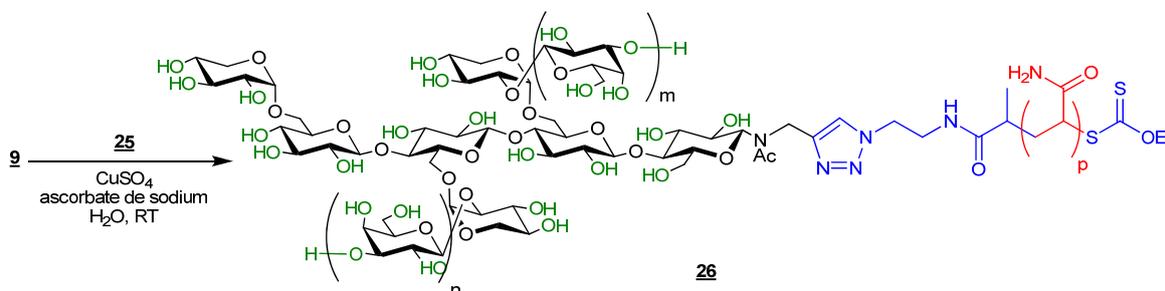


Schéma IV-4 : Formation de copolymères à blocs XG-*b*-PAm par « chimie click ».

Trois types de copolymères à blocs ont ainsi été obtenus à partir du même ω -alcyne-XG **9** et des trois α -azido-PAm précédemment synthétisés. Les caractéristiques moléculaires des réactifs et des produits formés sont décrites dans le Tableau IV-2.

Tableau IV-2 : Couplage par « chimie click » entre le ω -alcyne-XG **9** et les α -azoture-PAm **25**.

Echantillon	XG-prop (9)		\overline{DP}_n^b	N ₃ -PAm (25)		XG- <i>b</i> -PAm	
	Mn (g/mol) ^a	I _p ^a		Mn (g/mol) ^a	I _p ^a	Mn (g/mol) ^a	I _p ^a
26-1			32	2 320	1,81	5 630	1,18
26-2	1 215	1,04	65	4 660	1,71	7 540	1,25
26-3			110	7 540	1,66	12 055	1,22

^a déterminée par CES dans l'eau (étalonnage avec du PEO linéaire), ^b déterminé par spectrométrie de RMN ¹H dans le D₂O.

La Figure IV-3 présente les analyses par chromatographie d'exclusion stérique des précurseurs et des copolymères à blocs ainsi obtenus. La réponse réfractométrique présente un déplacement vers les fortes masses molaires après la réaction de couplage, par comparaison avec les PAm précurseurs et les oligoxyloglucanes ω -alcynés (en pointillé sur la figure). L'allure des chromatogrammes après couplage et purification est unimodale et symétrique.

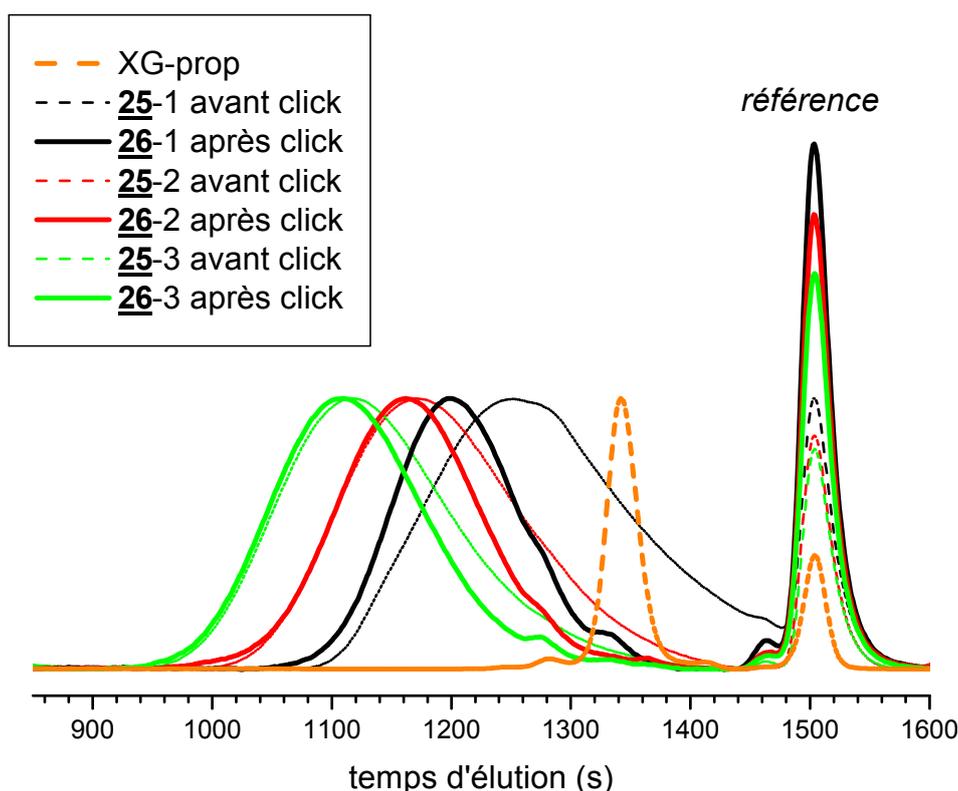


Figure IV-3 : Analyse par CES des copolymères à blocs XG-*b*-PAm 26 dans l'eau – réponse réfractométrique.

L'efficacité de la réaction de couplage par « chimie click » est également vérifiée par spectroscopie IR avant et après couplage. La Figure IV-4 montre les spectres du copolymère à blocs XG-*b*-PAm 26-1 et de l'homopolymère PAm 25-1 dont il est issu. La disparition complète de la bande azoture à 2100 cm^{-1} ainsi que le maintien des autres pics d'absorption caractéristiques du PAm attestent de l'efficacité du couplage (Figure IV-4).

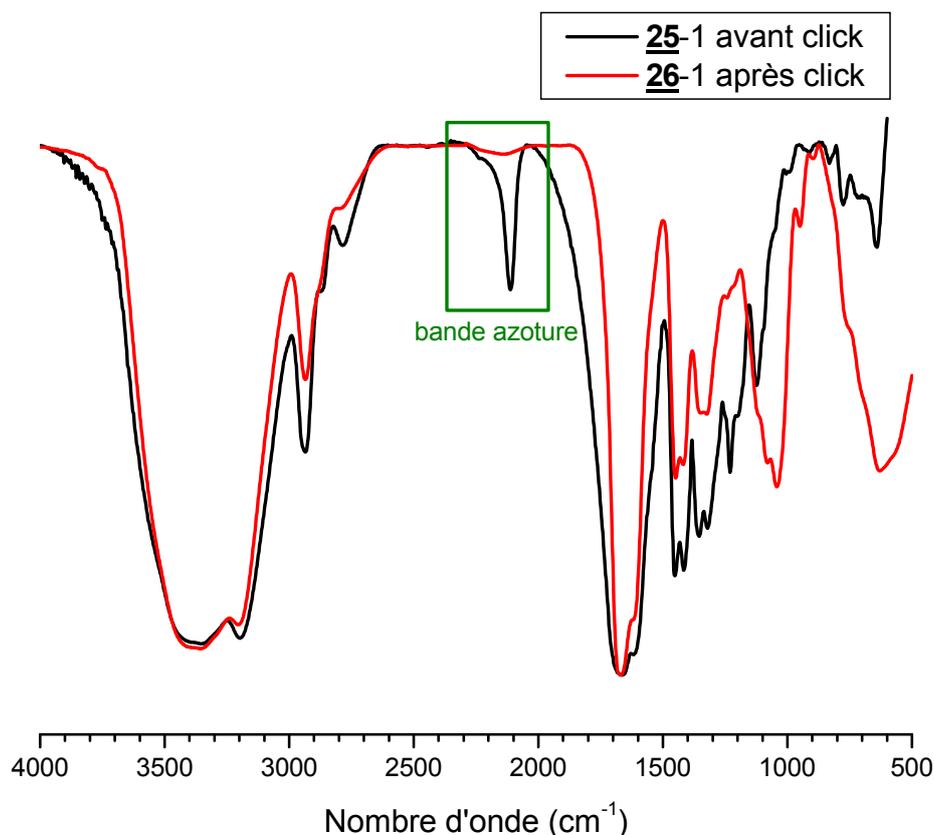


Figure IV-4 : Analyse par spectrométrie IR du copolymère à blocs XG-*b*-PAm et de l'homopolymère PAm 25-1.

Enfin, la Figure IV-5 décrit la caractérisation du copolymère à blocs XG-*b*-PAm₃₂ 26-1 par spectrométrie de RMN ¹H dans le D₂O. Les signaux caractéristiques des oligoxyloglucanes (entre 3,1 et 4,3 ppm) et du PAm (entre 2,1 et 2,5 ppm pour les CH et entre 1,4 et 1,9 ppm pour les CH₂) sont mis en évidence. Ces spectres permettent de déterminer la composition globale du copolymère (équation IV-2). Celle-ci est en parfait accord avec la composition initiale des précurseurs avant couplage.

$$\overline{DP}_n = \frac{51 \times A_1}{2 \times A_2} \quad (\text{IV-2})$$

où A₁ et A₂ sont les aires des intégrales des protons CH₂ et de l'ensemble des protons des oligoxyloglucanes (entre 3,1 et 4,3 ppm) et CH₂-CH₂, respectivement.

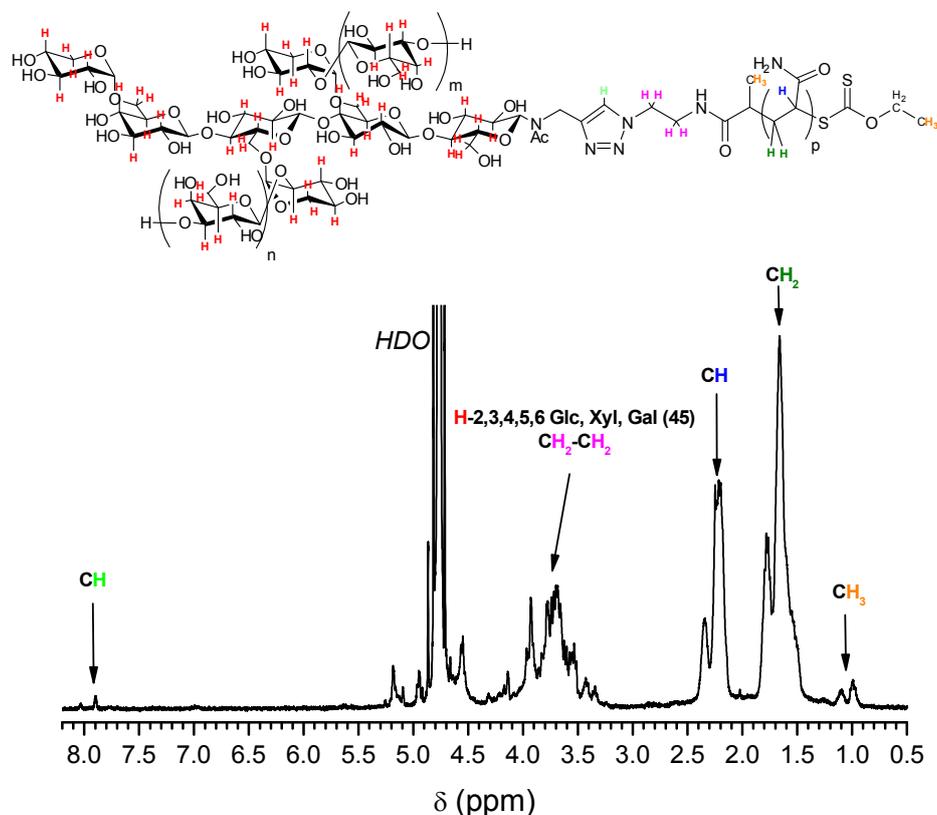


Figure IV-5 : Spectre de RMN ^1H du copolymère à blocs XG-*b*-PAM 26-1 (D_2O , 298 K).

Par la voie « couplage onto » utilisant la « chimie click », a ainsi été préparée une série de trois copolymères naturel/synthétique XG-*b*-PAM, à doubles blocs hydrophiles de structure bien définie.

3. Synthèse de copolymères à blocs xyloglucane-*b*-PACV par « chimie click »

La seconde famille de copolymères à blocs « hybrides » naturel/synthétique visée est composée d'oligoxyloglucanes et de poly(acétate de vinyle) (PACV). Il s'agit ici d'obtenir des copolymères à blocs amphiphiles dans l'idée de moduler leurs propriétés d'auto-assemblage en solution aqueuse, pour une utilisation potentielle comme nanovecteurs dans le domaine des

applications médicales ou cosmétiques. Rappelons que ces polymères n'ont pas pu être obtenus purs par la voie « starting from » décrite dans le chapitre précédent.

3.1. Synthèse des homopolymères α -azido-PAcV par polymérisation MADIX

L'acétate de vinyle a été polymérisé à partir de l'agent de transfert de chaîne Xa **20** dans l'acétate d'éthyle. L'acétate d'éthyle est un très bon solvant du PAcV et la polymérisation de l'AcV en présence de xanthates (différents de notre composé **20**) a déjà été étudiée dans ce solvant.^{275, 276} La réaction a été réalisée à 60°C pendant 24 h avec l'azobisisobutyronitrile (AIBN) en tant que générateur de radicaux (Schéma IV-5).

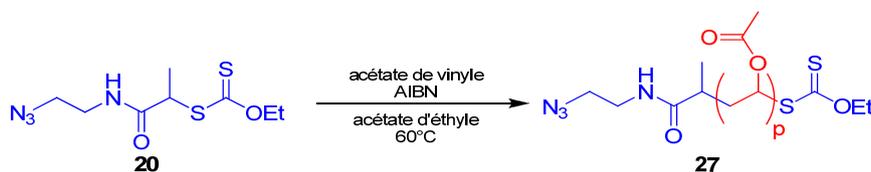


Schéma IV-5 : Synthèse d'homopolymères PAcV à partir de l'agent MADIX **20**.

Trois homopolymères ont ainsi été synthétisés en faisant varier la longueur du bloc PAcV visée et en fixant l'extrait sec à 20 %. Le taux d'amorceur est également fixé à 20 % molaire par rapport à l'agent MADIX **20** (Tableau IV-3).

Tableau IV-3 : Polymérisation MADIX de l'AcV à partir de **20** (acétate d'éthyle, AIBN, 60°C).

Echantillon	[AcV]/[20]	[ACP]/[20]	ES (%)	M _n ^a (g/mol)	I _p ^a	Conv. ^b (%)	\overline{DP}_{nth}	\overline{DP}_n^b
27 -1	25	0,2	20	6 250	1,12	86	22	23
27 -2	50	0,2	20	10 430	1,23	87	44	41
27 -3	100	0,2	20	17 500	1,35	87	87	93

^a déterminée par CES dans le DMF (étalonnage PS), ^b composition du bloc AcV déterminée par spectrométrie de RMN ¹H dans le CDCl₃.

On peut déjà observer que les conversions sont plus élevées que les valeurs obtenues en polymérisant l'AcV à partir d'un xyloglucane portant les fonctions xanthate suivant la voie « starting from » (conversion < 50 %, voir chapitre précédent). La Figure IV-6 montre les

analyses des trois homopolymères effectuées par chromatographie d'exclusion stérique dans le DMF. Par détection réfractométrique, on note une augmentation des masses molaires avec l'augmentation du rapport [AcV]/[**20**]. La distribution des masses molaires est unimodale et la polymolécularité est relativement faible ($I_p < 1,4$). Le contrôle de la polymérisation est également avéré de par la présence de la fonction xanthate en fin de polymérisation, comme l'atteste la réponse obtenue avec le détecteur UV réglé à 290 nm.

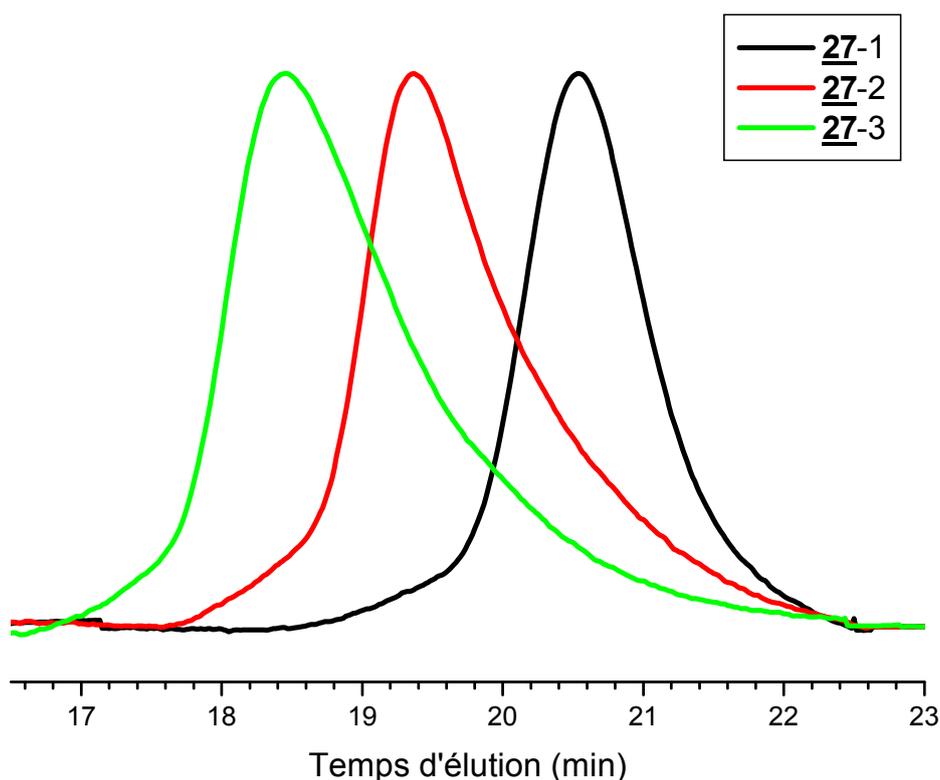


Figure IV-6 : Analyse par CES des homopolymères PAcV **27 dans le DMF – réponse réfractométrique.**

Par ailleurs, la structure de l'homopolymère a été confirmée par spectroscopie de RMN ^1H dans le CDCl_3 . Le degré de polymérisation moyen a pu être déterminé en calculant le rapport des intégrations des protons de la chaîne éthylénique du PAcV (par exemple l'intégration des **CH** à 4,86 ppm) sur celle des protons de l'agent de transfert de chaîne (par exemple l'intégration du **CH₂-CH₂** à 3,45 ppm.) (Equation IV-3).

$$\overline{DP}_n = \frac{A_1}{A_2} \times 4 \quad (\text{IV-3})$$

où A_1 et A_2 sont les aires des intégrales des protons CH et $\text{CH}_2\text{-CH}_2$, respectivement.

Enfin, l'analyse par spectrométrie infrarouge a permis de rendre compte, par le pic d'absorption à 2100 cm^{-1} , de la présence de la fonction azoture sur les homopolymères formés (Figure IV-9).

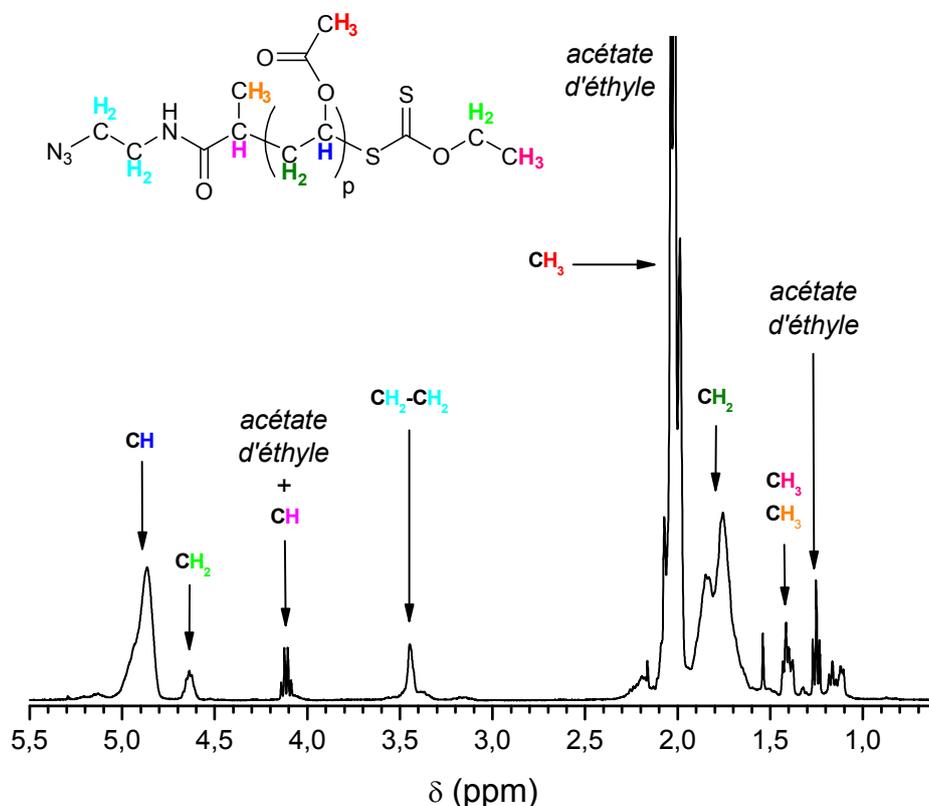


Figure IV-7 : Spectre de RMN ^1H de l'homopolymère PAcV 27-1 (CDCl_3 , 298 K).

L'obtention d'homopolymères de type α -azido-PAcV de structure relativement bien définie est donc aisée par polymérisation MADIX. La rétention des fonctions xanthate et azoture a été vérifiée, ce qui permet d'envisager le couplage par « chimie click » de ces composés avec les oligoxyloglucanes porteurs de la fonction alcyne (produit **9**).

3.2. Réaction de couplage par « chimie click »

La réaction de couplage a été réalisée dans un mélange de solvants afin de garantir la solubilité du poly(acétate de vinyle), polymère insoluble dans l'eau. Le DMSO est un bon solvant des oligoxyloglucanes et du PAcV. L'utilisation de l'eau est néanmoins nécessaire pour solubiliser le système catalytique de la réaction de « chimie click » (sulfate de cuivre et ascorbate de sodium). Un mélange H₂O/DMSO 1-9 (v/v) a donc été employé. La réaction a été réalisée en présence d'un excès (2 éq.) d'oligoxyloglucanes. Après 8h d'agitation à température ambiante, l'excès de glucide de même que les sels de cuivre sont facilement éliminés par dialyse dans l'eau (Schéma IV-6).

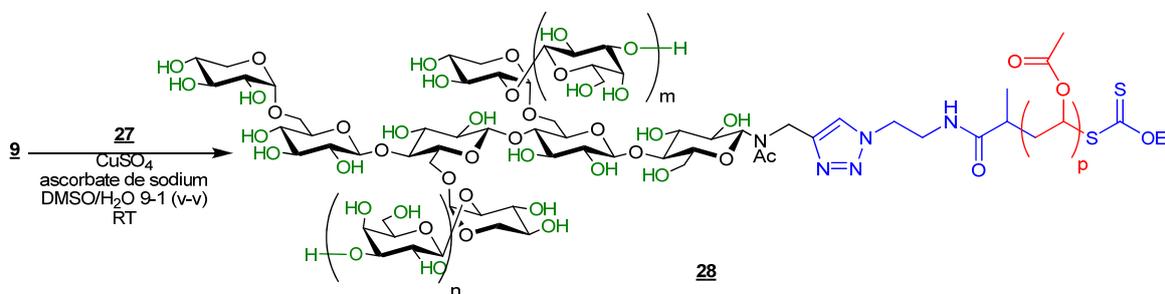


Schéma IV-6 : Formation de copolymères à blocs XG-*b*-PAcV par « chimie click ».

L' ω -alcyne-xyloglucane a ainsi été couplé aux trois homopolymères α -azido-PAcV décrits précédemment. Les caractéristiques moléculaires des réactifs et des produits formés sont décrites dans le Tableau IV-4.

Tableau IV-4 : Couplage par « chimie click » entre le ω -alcyne-XG **9** et les α -azoture-PAcV **27**.

Echantillon	XG-prop (9)		N ₃ -PAcV (27)			XG- <i>b</i> -PAcV	
	Mn (g/mol) ^a	I _p ^a	\overline{DP}_n ^b	Mn (g/mol) ^a	I _p ^a	Mn (g/mol) ^a	I _p ^a
28-1			23	6 250	1,12	7 810	1,12
28-2	2 300	1,01	41	10 430	1,23	11 700	1,19
28-3			93	17 506	1,35	18 300	1,31

^a déterminé par CES dans le DMF (étalonnage PS), ^b déterminé par spectrométrie de RMN ¹H dans le CDCl₃.

La Figure IV-8 montre les chromatogrammes obtenus par CES dans le DMF des homopolymères et des copolymères synthétisés. Une augmentation des masses molaires

moyennes apparentes après couplage est observée ; on note la présence d'une seule population avec une répartition unimodale. L'ensemble des données confirment la formation des copolymères à blocs ciblés.

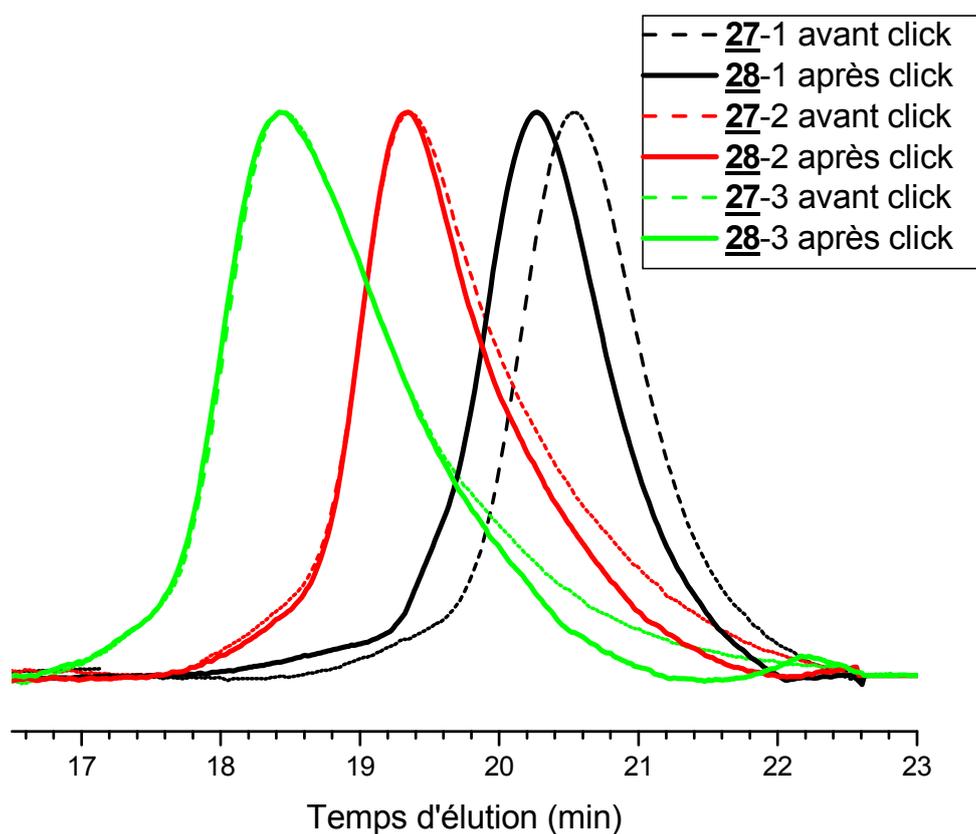


Figure IV-8 : Analyse par CES des copolymères à blocs XG-*b*-PAcV **28 dans le DMF – réponse réfractométrique.**

L'efficacité du couplage par « chimie click » est corroborée par l'analyse infrarouge des copolymères formés. La Figure IV-9 montre la disparition de la bande d'absorption de la fonction azoture sur le copolymère après couplage avec l' α -azido-PAcV, de même que l'apparition de la bande d'absorption des fonctions hydroxyle issues du glucide.

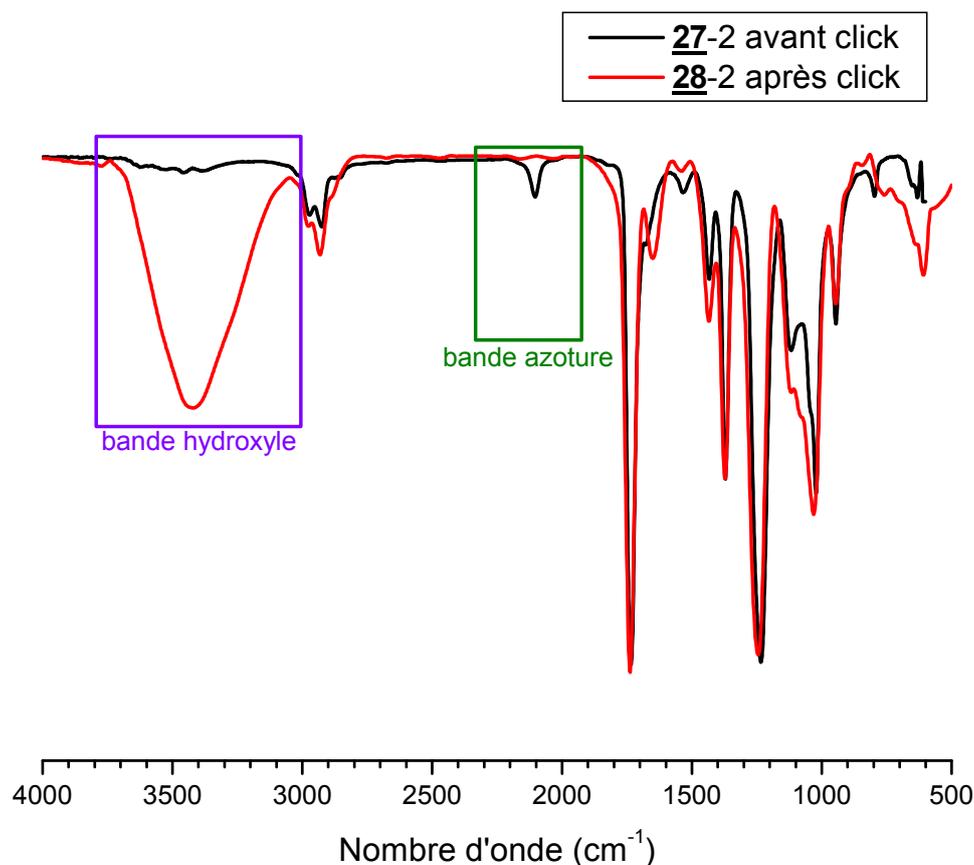


Figure IV-9 : Analyse par spectrométrie IR du copolymère à blocs XG-*b*-PAcV et de l'homopolymère PAcV.

L'étude par spectrométrie de RMN ¹H dans le DMSO-d₆ des copolymères permet de distinguer la résonance des protons des deux blocs (Figure IV-10). La région entre 4,2 et 5,7 ppm est attribuable à la résonance des protons du glucide et à celle des protons **CH** du poly(acétate de vinyle). Le calcul du \overline{DP}_n du bloc PAcV à partir de l'équation IV-4 permet de retrouver les mêmes valeurs que celles déterminées dans le calcul du \overline{DP}_n de l'homopolymère.

$$\overline{DP}_n = \frac{A_1}{2 \times A_2 - A_1} \times 42 \quad (\text{IV-4})$$

où A₁ et A₂ sont les aires des intégrales des protons **CH₂** et de l'ensemble des protons du xyloglucane et **CH**, respectivement.

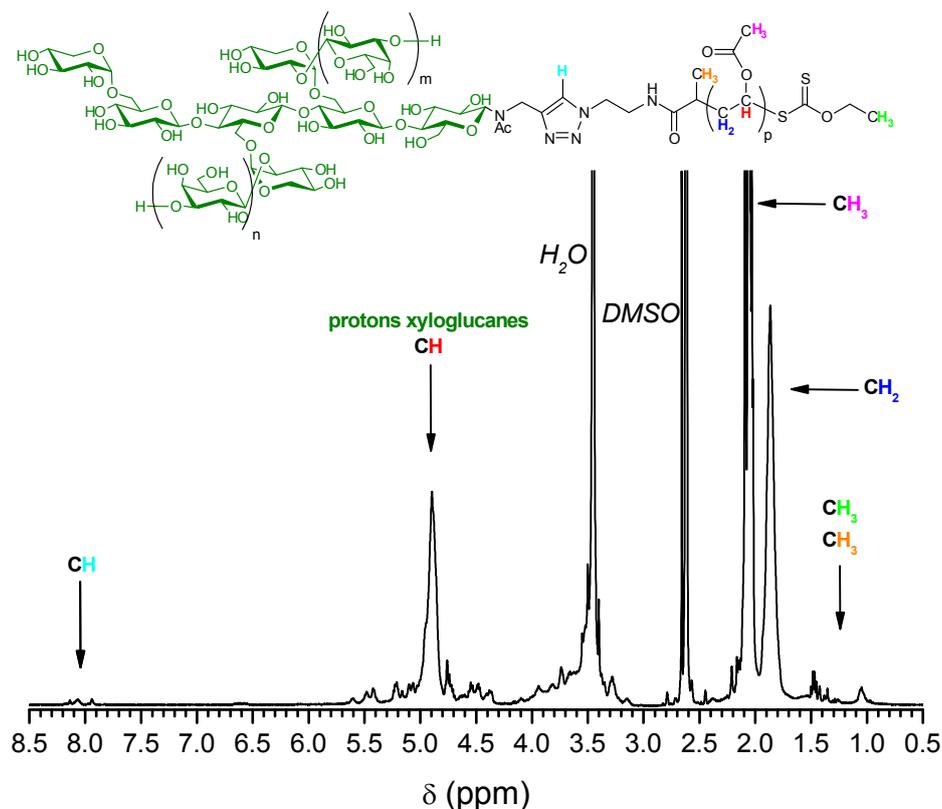


Figure IV-10 : Spectre de RMN ^1H du copolymère à blocs XG-*b*-PAcV 28-2 (DMSO- d_6 , 298 K).

En couplant ainsi un bloc glucidique hydrophile et un bloc vinylique hydrophobe par « chimie click », on accède à une série de copolymères à blocs « hybrides » présentant un caractère amphiphile. Dans une étude préliminaire, les propriétés d'auto-assemblage en milieu aqueux de l'un de ces composés ont été évaluées.

3.3. Etude en solution aqueuse d'un copolymère à blocs XG-*b*-PAcV

Les propriétés d'auto-assemblage du copolymère à blocs XG-*b*-PAcV₉₇ 28-3 possédant la balance hydrophile/hydrophobe la plus faible (la fraction en masse de la partie hydrophile est égale à $f = 14\%$) ont plus particulièrement été étudiées.

Au-delà des caractéristiques moléculaires, la méthode de préparation des nanoparticules est un facteur clé pour contrôler le processus d'auto-assemblage des copolymères à blocs.²⁷⁷⁻²⁸² En réalité, il n'existe pas de méthode universelle permettant de préparer des nanostructures en solution à base de copolymères. Les quatre méthodes de préparation les plus utilisées dans ce domaine sont les suivantes :

- Dissolution directe : Cette technique consiste à solubiliser le copolymère à blocs amphiphile directement dans l'eau. En général, l'auto-assemblage a lieu progressivement sous agitation jusqu'à ce que l'équilibre thermodynamique soit atteint.

- Méthode des « cosolvants » ou « dissolution indirecte » : Pour les copolymères peu solubles dans l'eau, l'emploi d'un solvant organique miscible à l'eau devient nécessaire. Cette technique comprend trois étapes. Dans un premier temps, le copolymère est solubilisé dans un solvant organique non sélectif (thermodynamiquement bon pour les deux blocs) miscible avec l'eau (DMF, DMSO, THF, acétone,...). L'eau est ensuite ajoutée progressivement sous agitation dans la phase organique, en contrôlant la vitesse et la quantité. L'auto-organisation a lieu de manière progressive de façon à minimiser le contact entre les blocs hydrophobes et l'eau. Par cette méthode, la morphologie des objets formés après micellisation n'est cependant pas nécessairement à l'équilibre thermodynamique. En effet, la taille et la forme des agrégats peut évoluer en fonction du temps, mais également de la quantité d'eau ajoutée.²⁸³ La dernière étape consiste à éliminer le solvant organique par dialyse ou par évaporation s'il s'agit d'un solvant volatil.

- Réhydratation de film : Ce processus consiste à solubiliser le copolymère dans un solvant organique volatil, puis à évaporer ce dernier. Les chaînes de polymères vont ainsi s'auto-assembler en masse, en raison de l'incompatibilité des deux blocs. Après avoir ainsi obtenu un film nano-organisé, la quantité d'eau nécessaire est ajoutée et la solution est agitée pendant au moins une semaine, avant d'être analysée. L'eau ajoutée provoque ainsi l'hydratation progressive du film induisant la formation de structures auto-assemblées dans l'eau à partir d'un système pré-organisé.

- Méthode de l'émulsification : La méthode de l'émulsification « huile dans l'eau » pour la préparation de nanoparticules à base de copolymères à blocs nécessite tout d'abord la dissolution des composés dans un mélange contenant de l'eau et un solvant organique non miscible à l'eau (par exemple le dichlorométhane). Les blocs hydrophiles présentent ainsi une affinité pour la phase aqueuse alors que les segments hydrophobes sont dissous dans les nano-

gouttes formées par la phase organique. Par conséquent, il est nécessaire d'agiter vigoureusement la solution afin d'obtenir une bonne dispersion de la phase organique dans la phase continue. L'utilisation des ultrasons est souvent requise pour optimiser cette dispersion. Les agrégats micellaires sont obtenus après élimination du solvant organique par évaporation ou par dialyse.

Bien que la méthode de mise en solution des copolymères à blocs soit primordiale pour obtenir des nanostructures par auto-assemblage, d'autres paramètres peuvent perturber le phénomène d'auto-assemblage. Par exemple, l'addition d'une espèce, telle un sel, peut influencer la morphologie des nanoparticules en solution.

Dans le cas du copolymère à blocs XG-*b*-PACV₉₇ **28-3**, la balance hydrophile/hydrophobe est faible, rendant difficile la dissolution directe dans l'eau. Cependant, la technique de mise en solution indirecte convient parfaitement à ce composé. Le copolymère à blocs a donc tout d'abord été solubilisé dans une solution de DMSO (solvant non sélectif) avant d'ajouter, goutte à goutte, de l'eau distillée pour aboutir à une concentration finale en copolymère à blocs de 1 mg/ml. La solution se trouble au fur et à mesure de l'addition d'eau, indiquant une auto-organisation des chaînes de copolymères. Par la suite, le DMSO est éliminé par dialyse dans l'eau. Les tailles des particules ainsi générées ont alors été mesurées par diffusion dynamique de la lumière (DLS) à différents angles. La Figure IV-11 montre la distribution du temps de relaxation à un angle de $\Theta = 90^\circ$ (a) ainsi que la dépendance angulaire (b) du copolymère à 25°C.

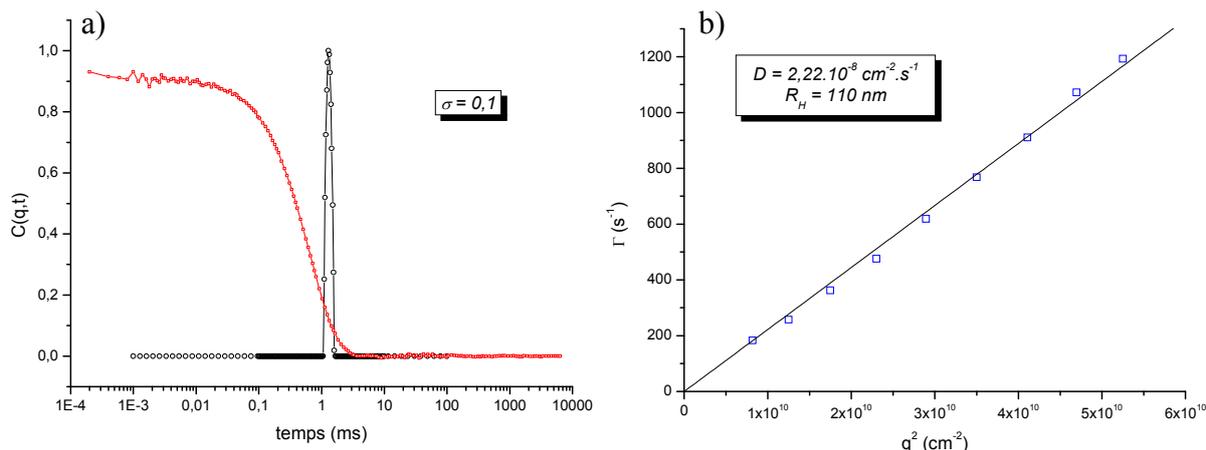


Figure IV-11 : a) Fonction d'auto-corrélation $C(q,t)$ et distribution du temps de relaxation $G(t)$ (Contin) pour $\Theta = 90^\circ$ et b) Fréquence de relaxation en fonction de q^2 , pour une solution de copolymères XG-*b*-PAcV₉₇ dans l'eau à 25°C ($c = 1 \text{ mg/ml}$).

Une distribution unique et étroite ($\sigma = 0,1$) des temps de relaxation est observée. L'évolution linéaire de la fréquence de relaxation avec q^2 traduit la présence d'un mode diffusif, indiquant que les agrégats concernés sont sphériques et homogènes en taille. Cette technique permet de mesurer le rayon hydrodynamique (R_H) des nanoparticules. On trouve ici une valeur à $R_H = 110 \text{ nm}$.

Par microscopie électronique en transmission (MET), la présence de particules sphériques et creuses de type vésiculaire a pu être observée (Figure IV-12). Le diamètre moyen calculé pour ces « polymersomes »^{*(284)} est de 80 nm, soit nettement inférieur à celui calculé par DLS (220 nm). Il est vrai que pour un système micellaire possédant une distribution en taille donnée, les analyses menées par MET peuvent conduire à des tailles inférieures à celles mesurées par DLS. A cela, deux explications peuvent être avancées :

- (i) en DLS, ce qui est mesuré est le rayon hydrodynamique. En ce sens, le rayon de la couronne d'hydratation est pris en compte dans la valeur de la taille, ce qui n'est pas le cas en MET où les échantillons sont étudiés à l'état de film non hydraté ;

* Le terme « polymersome » a été introduit par Discher et al. en 1999. Il définit les polymersomes comme une classe de vésicules formées de copolymères à blocs amphiphiles. Les polymersomes diffèrent des liposomes (vésicules constituées d'une membrane phospholipidique), qui sont constitués d'une couche hydrophobe lipidique, par une plus grande stabilité et une imperméabilité accrue.

- (ii) pour les études de MET, les tailles obtenues se réfèrent à une distribution en nombre tandis qu'il s'agit d'une distribution en intensité en DLS. Comme l'intensité diffusée est proportionnelle à la taille des particules, les tailles mesurées par DLS sont normalement supérieures à celles observées par MET.

Discher et Eisenberg ont proposé en 2002 une loi générale et empirique qui stipule que les copolymères à blocs amphiphiles possédant une fraction massique de bloc hydrophile (f) $>$ 45% forment habituellement des micelles sphériques, tandis que les copolymères à blocs avec $f < 25$ % s'auto-assemblent en nanostructures inverses. Entre ces deux valeurs, des morphologies de polymersomes sont observées.²⁸⁵ Ces propositions ont été faites pour des copolymères à blocs de type « flexible-flexible ». Dans notre cas, $f = 14$ % et, selon les prévisions de Discher et Eisenberg, on doit s'attendre à obtenir des micelles inverses. Or les photographies de MET montrent clairement des vésicules. Comme cela a déjà été décrit pour un système semblable par Houga et al.²⁸⁶ (copolymères à blocs dextrane-*b*-PS), il est fort probable que l'oligoxyloglucane n'adopte pas une conformation de type pelote statistique (flexible) mais plutôt une conformation rigide induisant la formation des polymersomes.

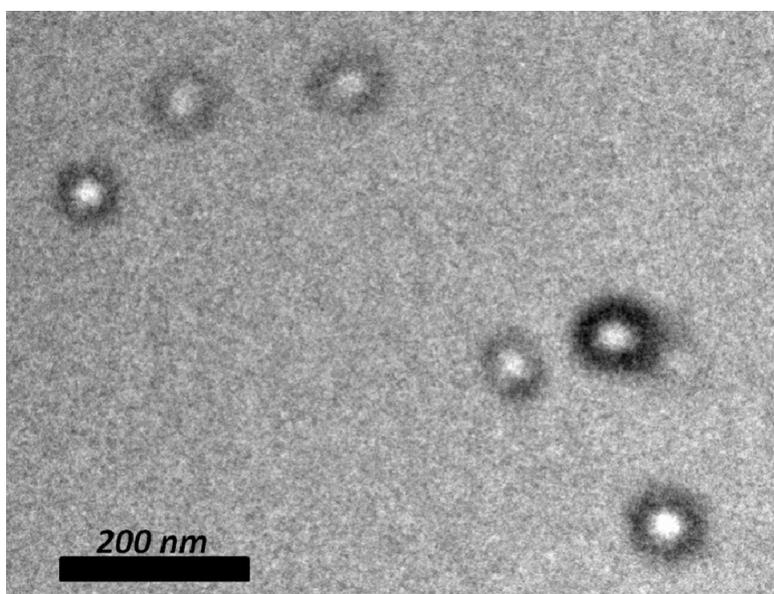


Figure IV-12 : Clichés de MET montrant la formation de vésicules de XG-*b*-PAcV₉₇.

Concernant la morphologie, il y a peu de doute que ces polymersomes se caractérisent par une membrane hydrophobe formée de PAcV et que les oligoxyglucanes constituent la couronne stabilisant les nanoparticules. La Figure IV-13 illustre une telle structure vésiculaire à base des copolymères diblocs hybrides XG-*b*-PAcV.

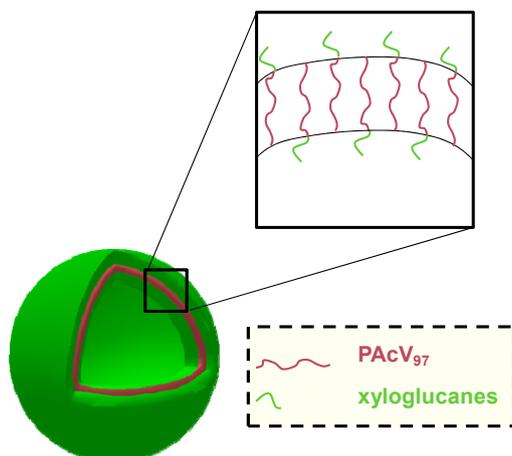


Figure IV-13 : Représentation schématique des polymersomes formés de copolymères à blocs XG-*b*-PAcV₉₇.

En conclusion, la combinaison de la polymérisation MADIX de l'acétate de vinyle à partir d'un agent de transfert de chaîne α -azido avec la « chimie click » impliquant des ω -alcyne-oligoxyglucanes a permis d'accéder à des copolymères à blocs « hybrides » bien définis. Leur caractère amphiphile et leur auto-association en solution aqueuse ont pu être étudiés sommairement pour l'un d'entre eux (XG-PAcV₉₇, **28-3**) par DLS et par MET. Les résultats montrent la formation d'une morphologie de type vésiculaire même si des analyses physico-chimiques plus approfondies seront nécessaires (calcul du R_g par diffusion statique de la lumière puis évaluation du rapport R_g/R_H égal à 1 pour des vésicules). L'étude des autres copolymères à blocs, avec un taux de PAcV différent, donc une valeur de HLB différente, devraient permettre de visualiser les variations de morphologie issues de l'auto-assemblage en solution aqueuse de ces nouveaux copolymères à blocs renfermant un bloc glucidique d'origine naturelle.

4. Synthèse de copolymères à blocs xyloglucane-*b*-PNVP par « chimie click »

La troisième famille de copolymères à blocs ciblée est constituée d'oligoxyloglucanes et de poly(*N*-vinyl-2-pyrrolidone) (PNVP).

4.1. Synthèse des homopolymères α -azido-PNVP par polymérisation MADIX

Il a été noté dans le chapitre III que la polymérisation de la *N*-vinyl-2-pyrrolidone (NVP) doit être réalisée dans des conditions spécifiques. En particulier, il faut éviter la présence d'eau et réaliser la réaction de polymérisation en-deçà de 60°C pour prévenir la perte de la fonction xanthate au bout des chaînes.^{287, 288} En nous inspirant des travaux antérieurs de Gnanou et al., décrivant la polymérisation radicalaire contrôlée de la NVP avec un agent RAFT de type dithiocarbamate,²⁸⁹ mais aussi sur la base des travaux récents de Kluperman et al.,^{287, 288, 290} la NVP a été polymérisée dans les conditions suivantes : le 1,4-dioxane a été employé comme solvant et l'AIBN a servi de générateur de radicaux, la réaction étant menée pendant 24 h à 60°C (Schéma IV-7).

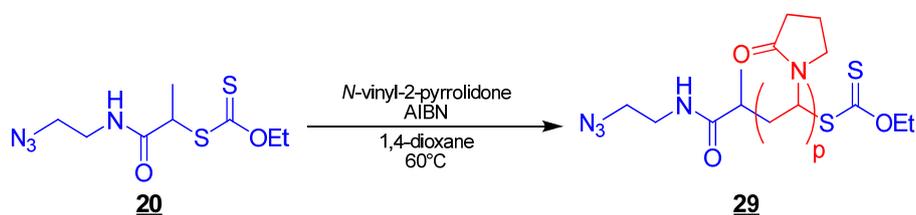


Schéma IV-7 : Synthèse d'homopolymères PNVP à partir de l'agent MADIX 20.

De la même manière que précédemment, trois homopolymères PNVP ont été synthétisés, en faisant varier le taux d'agent xanthate de 1 à 4% molaire par rapport au monomère, et en fixant l'extrait sec à 50 %. Les conditions de réactions, de même que les propriétés moléculaires des homopolymères obtenus sont données dans le Tableau IV-5.

Tableau IV-5 : Polymérisation MADIX de la NVP à partir de 20 (1,4-dioxane, AIBN, 60°C).

Echantillon	[NVP]/[<u>20</u>]	[ACP]/[<u>20</u>]	ES (%)	M _n ^a (g/mol)	I _p ^a	Conv. ^b (%)	\overline{DP}_{nth}	\overline{DP}_n^b
<u>29-1</u>	25	0,2	50	5 910	1,12	90	22	16
<u>29-2</u>	50	0,2	50	10 140	1,14	96	48	46
<u>29-3</u>	100	0,2	50	18 740	1,19	96	96	119

^a déterminée par CES dans le DMF (étalonnage PS), ^b composition du bloc NVP déterminée par spectrométrie de RMN ¹H dans le CDCl₃.

La conversion du monomère est déterminée par spectrométrie de RMN ¹H dans le CDCl₃. L'intégration des signaux du monomère a permis de conclure à une conversion entre 90 et 96 %. La Figure IV-14 présente le spectre de RMN ¹H type d'un homopolymère dans le CDCl₃, avec les signaux caractéristiques de la chaîne éthylénique et du cycle pyrrolidone. La longueur de chaîne et le \overline{DP}_n ont été obtenus en calculant le rapport de la valeur de l'intégration du CH₃ de l'agent MADIX sur la valeur de l'intégration des protons du polymère (Equation IV-5).

$$\overline{DP}_n = \frac{2 \times A_1}{3 \times A_2} \times 42 \quad (\text{IV-5})$$

où A₁ et A₂ sont les aires des intégrales des protons CH₃ et CH₂, respectivement.

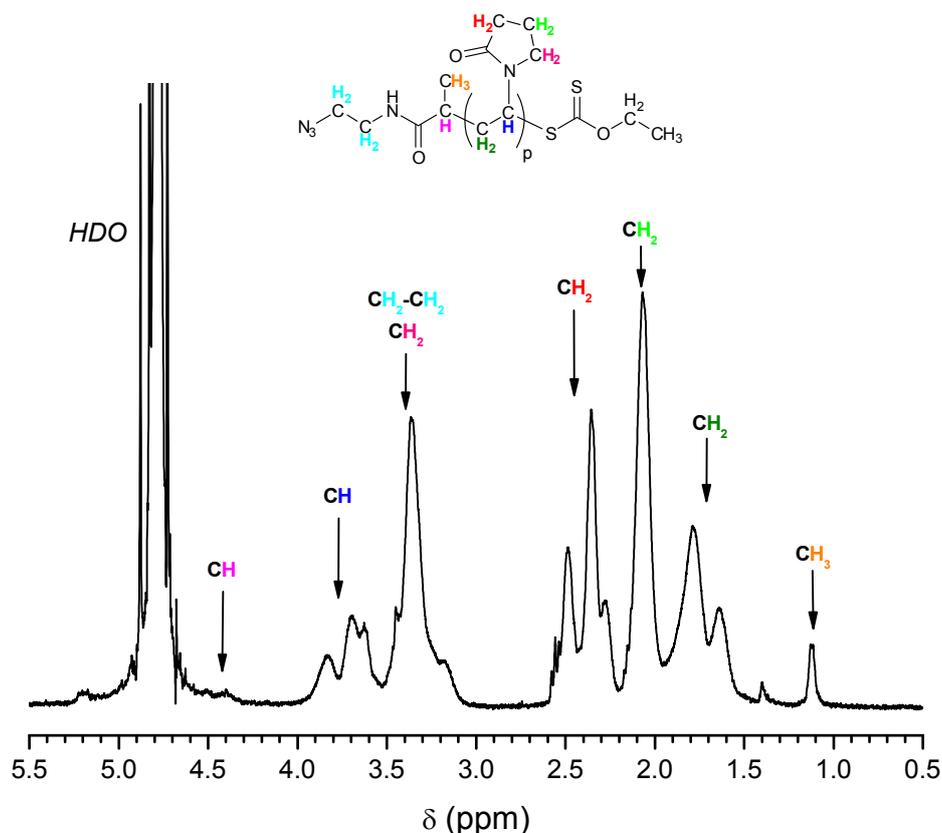


Figure IV-14 : Spectre de RMN ^1H de l'homopolymère PNVP 29-1 (D_2O , 298 K).

Les chromatogrammes CES dans le DMF par réponse réfractométrique des α -azido-PNVP sont présentés sur la Figure IV-15. Pour les trois homopolymères synthétisés, un déplacement vers le domaine des fortes masses molaires est observé. La distribution des masses apparaît unimodale et étroite ($I_p < 1,4$). La rétention de la fonction xanthate après polymérisation est confirmée par la détection à 290 nm par spectrométrie UV. De même la fonction azoture est clairement identifiée par spectrométrie infrarouge de par la présence d'un pic d'absorption à $2\ 100\ \text{cm}^{-1}$.

Ces trois copolymères peuvent donc être utilisés pour la réaction de cycloaddition 1,3 dipolaire de Huisgen catalysée par le cuivre avec les ω -alcyne-oligoxyglucanes 9.

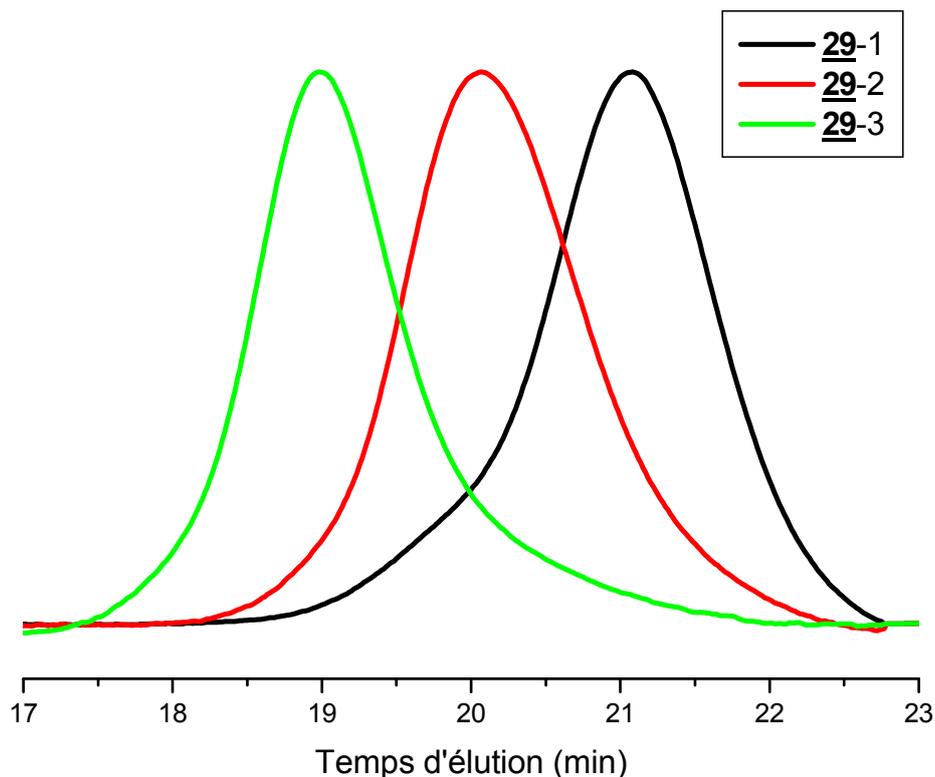


Figure IV-15 : Analyse par CEC des homopolymères PNVP 29 dans le DMF – réponse réfractométrique.

4.2. Réaction de couplage par « chimie click »

La réaction de cycloaddition 1,3 dipolaire de Huisgen est dans ce cas réalisée dans un mélange H₂O/DMSO 1-1 (v/v) à température ambiante pendant 8h. Le système catalytique est le même que celui utilisé précédemment, à savoir un système sulfate de cuivre/ ascorbate de sodium (Schéma IV-8). L'excès d'oligoxyloglucanes introduits en début de réaction, de même que les sels de cuivre sont aisément éliminés par dialyse dans l'eau.

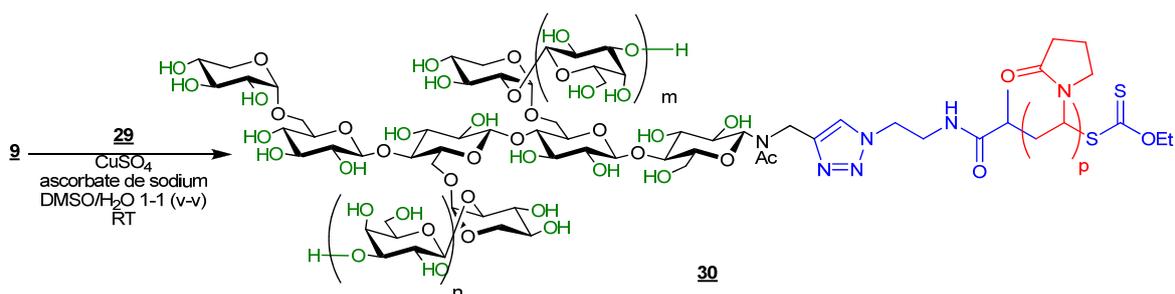


Schéma IV-8 : Formation de copolymères à blocs XG-*b*-PNVP par « chimie click ».

Les ω -alcyne-oligoxyglucanes ont été couplés aux trois homopolymères α -azido-PNVP. Les caractéristiques moléculaires des réactifs et des produits formés sont décrites dans le Tableau IV-6.

Tableau IV-6 : Couplage par « chimie click » entre le ω -alcyne-XG 9 et les α -azoture-PNVP 29.

Echantillon	XG-prop (<u>9</u>)		N ₃ -PNVP (<u>29</u>)			XG- <i>b</i> -PNVP	
	Mn (g/mol) ^a	I _p ^a	\overline{DP}_n ^b	Mn (g/mol) ^a	I _p ^a	Mn (g/mol) ^a	I _p ^a
<u>30</u> -1			16	5 910	1,12	7 740	1,10
<u>30</u> -2	2 300	1,01	48	8 820	1,14	10 480	1,11
<u>30</u> -3			119	15 430	1,19	17 210	1,15

^a déterminée par CES dans le DMF (étalonnage PS), ^b déterminé par spectrométrie de RMN ¹H dans le D₂O.

Les chromatogrammes d'exclusion stérique des produits formés montrent, là encore, un déplacement vers les fortes masses molaires, en comparaison avec les homopolymères précurseurs. L'allure des chromatogrammes est unimodale avec un faible indice de polymolécularité.

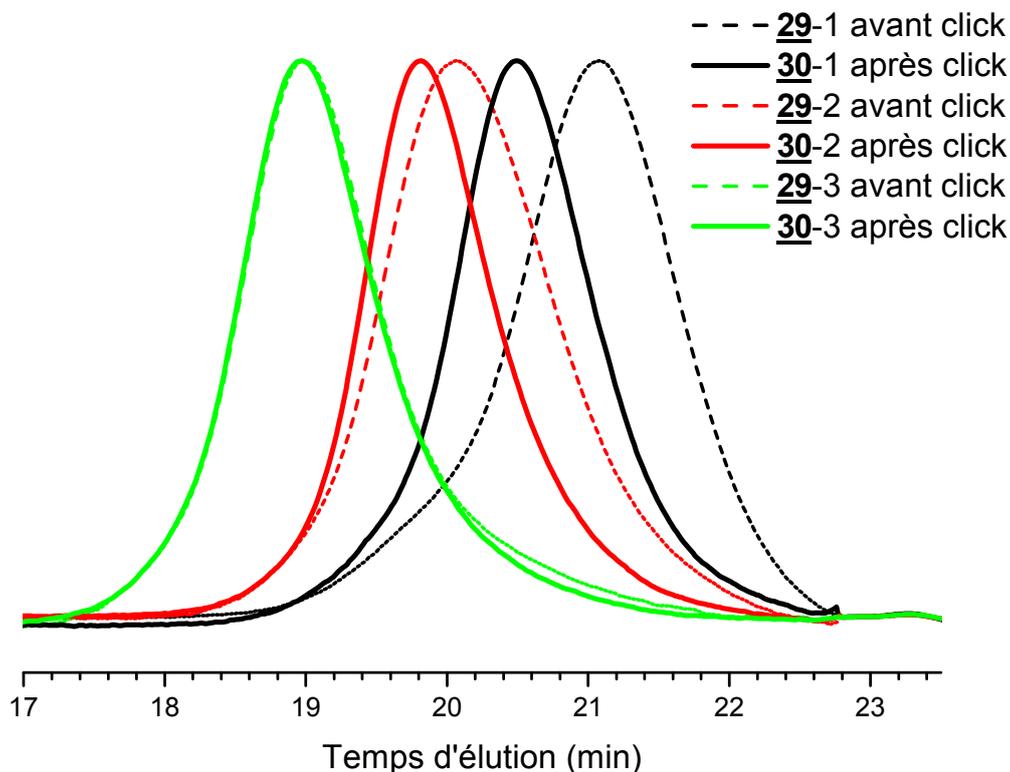


Figure IV-16 : Analyse par CES des copolymères à blocs XG-*b*-PNVP 30 dans le DMF – réponse réfractométrique.

Les copolymères obtenus ont également été analysés par spectrométrie infrarouge (Figure IV-17). La disparition de la bande d'absorption de la fonction azoture est observée sans que les autres bandes d'absorption ne disparaissent, attestant du succès du couplage.

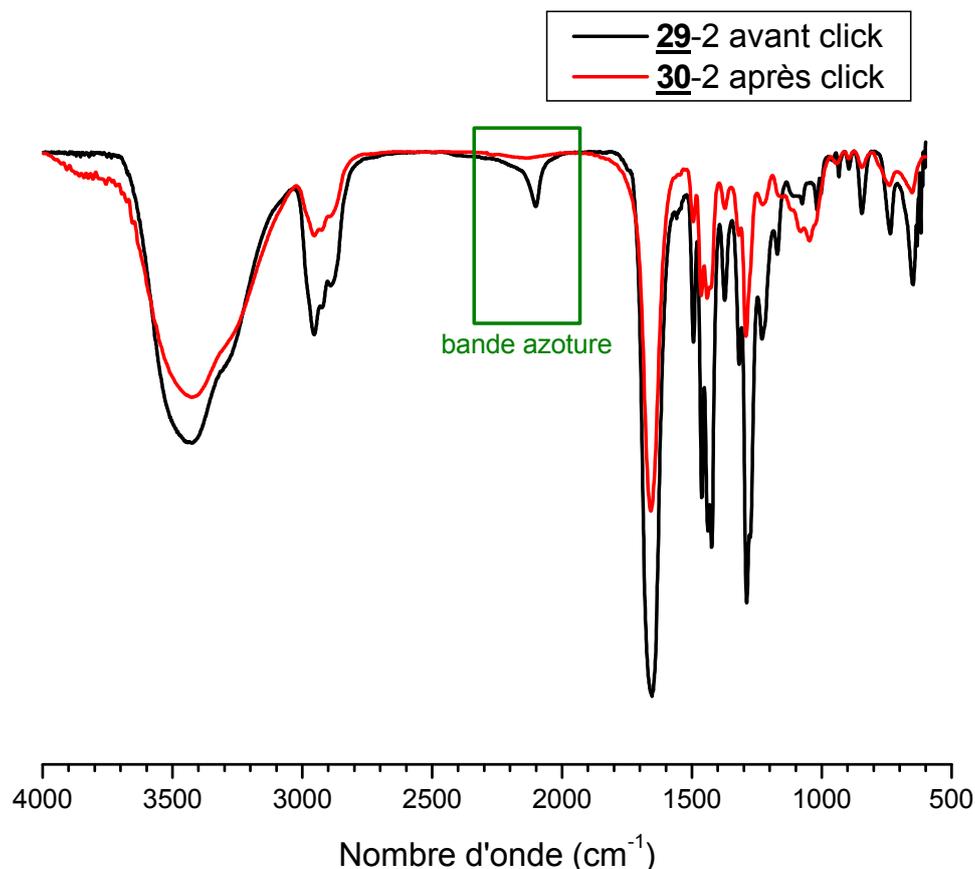


Figure IV-17 : Analyse par spectrométrie IR du copolymère à blocs XG-*b*-PNVP et de l'homopolymère PNVP.

La spectrométrie de RMN ^1H dans le D_2O des copolymères à blocs permet d'identifier les protons des deux blocs. La Figure IV-18 montre l'analyse du copolymère XG-*b*-PNVP₁₆ **30-1**. On calcule ainsi le $\overline{\text{DP}}_n$ du bloc PNVP, de même valeur que le précurseur (équation IV-6).

$$\overline{\text{DP}}_n = \frac{52 \times A_1}{2 \times \left(A_2 - \frac{3}{2} \times A_1\right)} \quad (\text{IV-6})$$

où A_1 et A_2 sont les aires des intégrales des protons CH_2 et de l'ensemble des protons du xyloglucane, CH et CH_2 , respectivement.

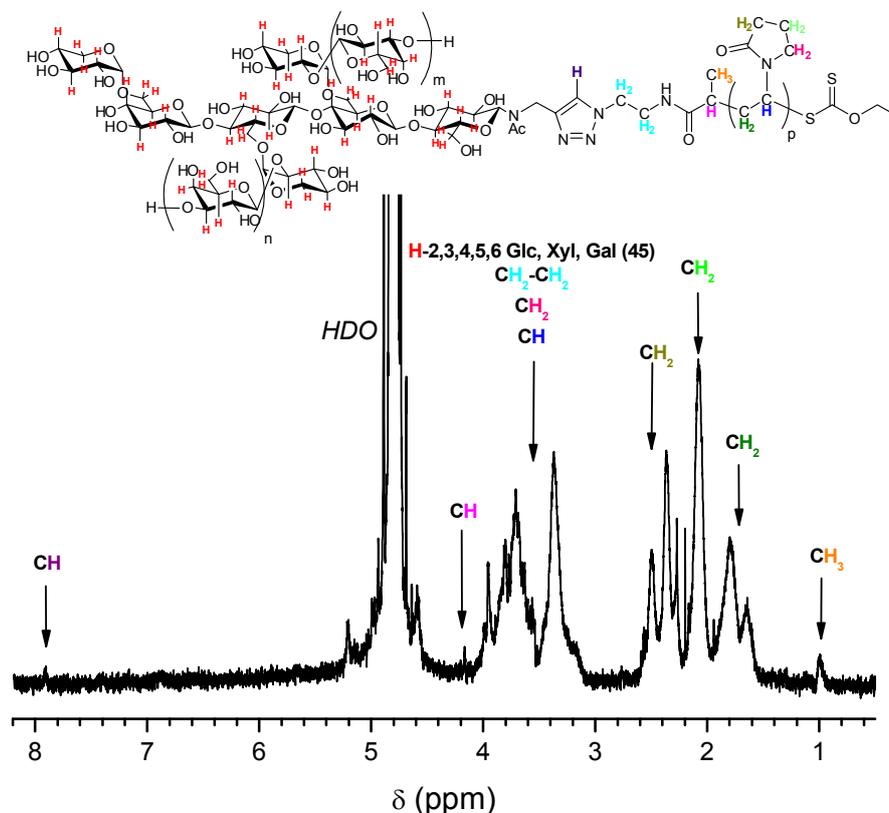


Figure IV-18 : Spectre de RMN ^1H du copolymère à blocs XG-*b*-PNVP **30-1** (D_2O , 298 K).

Nous avons ainsi couplé, avec succès, par « chimie click », un bloc glucidique hydrophile à un bloc PNVP obtenu par polymérisation MADIX. Les propriétés de solubilisation de la PNVP dans de nombreux solvants hydrophiles et hydrophobes permettent d'imaginer la mise en solution dans des systèmes variés et notamment lipophiles comme l'isododécane pour des applications cosmétiques.

4.3. Etude en solution hydro-organique d'un copolymère à blocs XG-*b*-PNVP

Etant donnée la solubilité de la PNVP dans les milieux carbonés, il a été décidé d'observer les propriétés d'auto-assemblage du copolymère à blocs XG-*b*-PNVP₁₆ **30-1** dans un mélange acétone/ H_2O 9-1 (v/v). La préparation de l'échantillon a été réalisée en ajoutant

une solution d'acétone à une solution aqueuse de copolymère à blocs pour aboutir à une concentration en copolymère à blocs de 1 mg/ml, provoquant un trouble de la solution. Afin d'étudier la morphologie du système, seule une analyse par microscopie électronique en transmission a pu être réalisée. Les photographies, bien que de qualité médiocre, montrent à nouveau la présence de morphologies de type polymersome dont le diamètre moyen est de l'ordre de 100 nm.

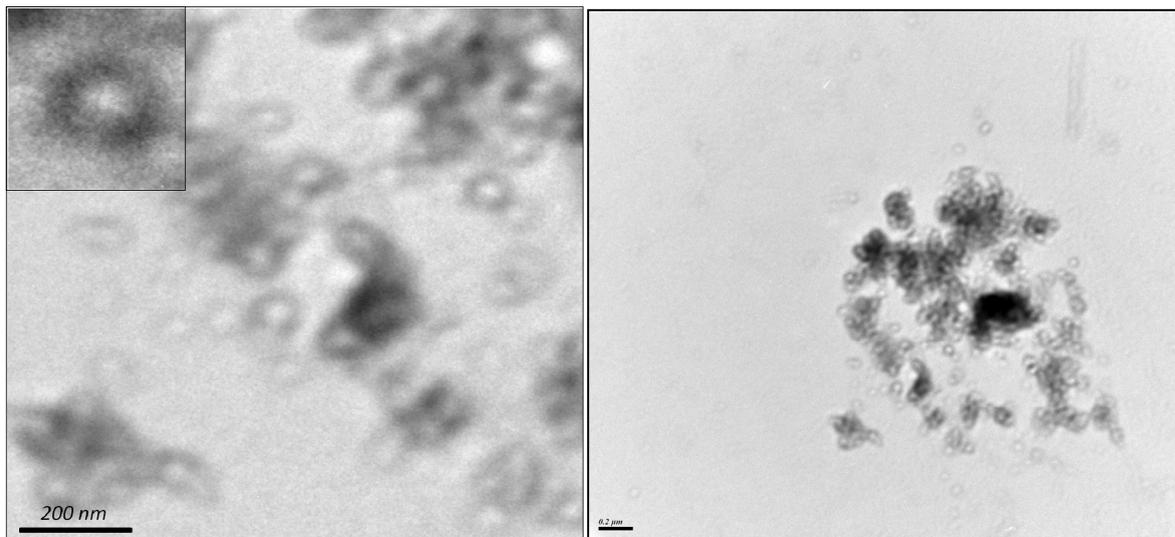


Figure IV-19 : Clichés de MET montrant la formation de vésicules de XG-*b*-PNVP₁₆.

Il est vraisemblable de proposer que les polymersomes formés se caractérisent par une membrane hydrophile constituée d'oligoxyloglucanes et stabilisée par les blocs PNVP dans l'acétone (Figure IV-20).

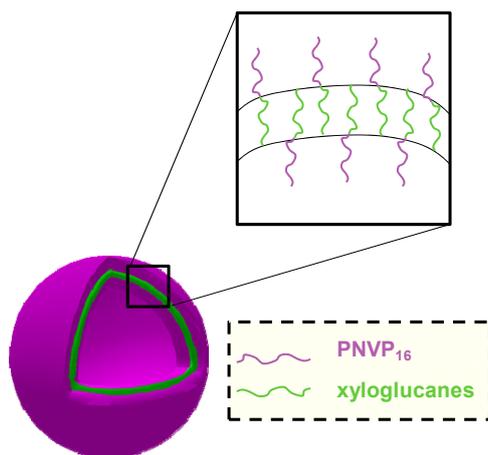


Figure IV-20 : Représentation schématique des polymersomes formés de copolymères à blocs XG-*b*-PNVP₁₆.

L'association d'oligoxyloglucanes et de PNVP dans une structure de copolymères à blocs « hybrides » est donc possible en combinant polymérisation MADIX et « chimie click ». L'obtention de tels composés offre une nouvelle gamme de copolymères à blocs, avec des propriétés de solubilisation de la PNVP en milieu aqueux et organique. L'étude par MET à partir d'une solution acétone/H₂O 9-1 (v/v) du copolymère à bloc XG-*b*-PNVP₁₆ **30-1** a montré la présence d'une morphologie vésiculaire.

Une analyse en solution par diffusion de la lumière de l'ensemble des copolymères à blocs synthétisés s'avère cependant nécessaire pour connaître les propriétés d'auto-assemblage, que ce soit en solution organique ou en solution aqueuse.

5. Conclusion

La méthodologie qui consiste à coupler deux homopolymères a été utilisée pour obtenir des copolymères à blocs « hybrides » naturel/synthétique de différentes natures. A partir d'un agent de transfert de chaîne MADIX α -fonctionnalisé par un azoture, des homopolymères d'acrylamide, d'acétate de vinyle et de *N*-vinyl-2-pyrrolidone bien définis ont d'abord été préparés. Le couplage par « chimie click » entre ces homopolymères et des oligoxyloglucanes porteurs de la fonction alcyne en position ω a été réalisé avec succès. Ainsi, trois familles de « nouveaux » copolymères à blocs « hybrides » avec une longueur du bloc vinylique variable

ont ainsi été élaborées. Cette méthodologie nécessite l'utilisation d'un excès de l'un des deux blocs, en l'occurrence l'oligoxyloglucane, ainsi qu'une purification des copolymères à blocs par dialyse.

En solution aqueuse, l'analyse par DLS du copolymère à blocs XG-*b*-PACV₉₇ a montré la présence d'agrégats sphériques et homogènes en taille (~ 110 nm) dont la morphologie est de type vésiculaire, avec une membrane hydrophobe à base de PACV stabilisée par le bloc hydrophile xyloglucane. Le copolymère à doubles blocs XG-*b*-PNVP₉₇ dans une solution hydro-organique d'acétone s'auto-assemble pour former des polymersomes avec une membrane constituée de XG et de blocs stabilisants à base de PNVP.

Il est à noter que l'oligoxyloglucane semble jouer un rôle dans l'auto-organisation en solution des copolymères à blocs. Nous obtenons en effet des morphologies différentes de celles généralement observées avec des copolymères à blocs amphiphiles de type « flexible-flexible » pour une fraction massique hydrophile donnée. Ceci peut être le signe que les oligoxyloglucanes adoptent une conformation de type bâtonnet, différente de celle d'une pelote statistique.

Il est évident que l'analyse des propriétés physico-chimiques en solution de ces copolymères doit être complétée et qu'elle doit être étendue à l'ensemble des copolymères à blocs synthétisés.

Références Bibliographiques

264. Bosker, W. T. E.; Agoston, K.; Cohen Stuart, M. A.; Norde, W.; Timmermans, J. W.; Slaghek, T. M., *Macromolecules* **2003**, *36*, 1982-1987.
265. Bosker, W. T. E.; Patzsch, K.; Stuart, M. A. C.; Norde, W., *Soft Matter* **2007**, *3*, 754-762.
266. Ouchi, T.; Uchida, T.; Arimura, H.; Ohya, Y., *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 477-480.
267. Yang, Y.; Kataoka, K.; Winnik, F. M., *Macromolecules* **2005**, *38*, 2043-2046.
268. Richard, A.; Barras, A.; Younes, A. B.; Monfilliette-Dupont, N.; Melnyk, P., *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 1491-1495.
269. Liu, J.-Y.; Zhang, L.-M., *Carbohydr. Polym.* **2007**, *69*, 196-201.
270. Ganji, F.; Abdekhodaie, M. J., *Carbohydr. Polym.* **2008**, *74*, 435-441.
271. Halila, S.; Manguian, M.; Fort, S.; Cottaz, S.; Hamaide, T.; Fleury, E.; Driguez, H., *Macromol. Chem. Phys.* **2008**, *209*, 1282-1290.
272. Taton, D.; Wilczewska, A.-Z.; Destarac, M., *Macromol. Rapid Commun.* **2001**, *22*, 1497-1503.
273. Tornøe, C. W.; Meldal, M., "Peptides 2001, Proc. Am. Pept. Symp.". In M. Lebl, R. A. Houghten, Eds., American Peptide Society and Kluwer Academic Publishers, San Diego, **2001**; pp 263–264.
274. Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.
275. Theis, A.; Davis, T. P.; Stenzel, M. H.; Barner-Kowollik, C., *Polymer* **2006**, *47*, 999-1010.
276. Poly, J.; Wilson, J.; Destarac, M.; Taton, D., *Macromol. Rapid Commun.* **2008**, *29*, 1965-1972.
277. Zhang, L.; Eisenberg, A., *Polym. Adv. Technol.* **1998**, *9*, 677-699.
278. Riess, G., *Prog. Polym. Sci.* **2003**, *28*, 1107-1170.
279. Gohy, J. F., Block copolymer micelles. In *Advances in Polymer Science*, **2005**; Vol. 190, pp 65-136.
280. Soo, P. L.; Eisenberg, A., *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.* **2004**, *42*, 923-938.
281. Zhang, W.; Shi, L.; An, Y.; Gao, L.; Wu, K.; Ma, R., *Macromolecules* **2004**, *37*, 2551-2555.

282. Shusharina, N. P.; Nyrkova, I. A.; Khokhlov, A. R., *Macromolecules* **1996**, *29*, 3167-3174.
283. Shen, H.; Eisenberg, A., *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 9473-9487.
284. Discher, B. M.; Won, Y.-Y.; Ege, D. S.; Lee, J. C. M.; Bates, F. S.; Discher, D. E.; Hammer, D. A., *Science* **1999**, *284*, 1143-1146.
285. Discher, D. E.; Eisenberg, A., *Science* **2002**, *297*, 967-973.
286. Houga, C.; Giermanska, J.; Lecommandoux, S.; Borsali, R.; Taton, D.; Gnanou, Y.; Le Meins, J.-F., *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 32-40.
287. Pound, G.; Eksteen, Z.; Pfukwa, R.; McKenzie, J. M.; Lange, R. F. M.; Klumperman, B., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2008**, *46*, 6575-6593.
288. Pound, G.; McKenzie, J. M.; Lange, R. F. M.; Klumperman, B., *Chem. Commun.* **2008**, 3193-3195.
289. Devasia, R.; Bindu, R. L.; Borsali, R.; Mougín, N.; Gnanou, Y., *Macromol. Symp.* **2005**, *229*, 8-17.
290. Pound, G.; Aguesse, F.; McLeary, J. B.; Lange, R. F. M.; Klumperman, B., *Macromolecules* **2007**, *40*, 8861-8871.

CONCLUSION GENERALE

L'objectif de ce travail était de concevoir de nouveaux copolymères à blocs « hybrides » comprenant une partie glucidique d'origine naturelle et une partie synthétique. L'étude bibliographique a montré que relativement peu de composés de ce type ont été synthétisés et étudiés en physico-chimie pour leurs capacités à s'auto-assembler, notamment en solution aqueuse. Les glycopolymères générés par polymérisation de glycomonomères et les copolymères « hybrides » greffés sont les plus décrits dans la littérature alors qu'on dénombre à ce jour une vingtaine d'exemples de copolymères à blocs. On retiendra au passage que, dans beaucoup de cas, les études portent sur le dextrane ou l'amylose et qu'une chimie de protection/déprotection des fonctions hydroxyle du poly/oligosaccharide est requise avant la croissance du bloc vinylique.

Le polysaccharide que nous avons sélectionné est le xyloglucane. Le fait de pouvoir disposer d'un oligosaccharide de xyloglucane de structure parfaitement définie par chimie enzymatique est un avantage car il constitue ainsi un bon modèle pour d'autres polysaccharides.

Deux stratégies de synthèses ont été développées pour accéder à des copolymères à blocs xyloglucane-*b*-polymères vinyliques. A cet effet, les mêmes outils ont été utilisés : modification chimio-enzymatique du xyloglucane de la graine de tamarin pour générer des structures glucidiques de manière contrôlée, polymérisation radicalaire contrôlée RAFT/MADIX pour la croissance des blocs vinyliques et enfin, couplage par « chimie click » assurant le lien covalent et stable entre les deux blocs.

La première stratégie, désignée « starting from » a consisté à introduire une fonction xanthate sur le xyloglucane ; **à partir** de cette fonction servant de site de transfert réversible par addition-fragmentation, le polymère vinylique est formé de manière contrôlée.

La deuxième stratégie, désignée « coupling onto », repose sur la synthèse séparée des deux blocs, glucidique d'une part et vinylique d'autre part, puis sur le **couplage** de ces deux blocs par « chimie click ».

Dans une première partie, nous avons réalisé avec succès la synthèse d'oligoxyloglucanes fonctionnalisés pour une utilisation dans les deux méthodologies. L'hydrolyse enzymatique contrôlée de xyloglucane issu de graines de tamarin a permis l'obtention d'oligomères de DP 7-9 qui ont été modifiés sur l'unité réductrice par une fonction alcyne. En vue de la méthode « starting from », la possibilité est offerte d'introduire

un agent de couplage permettant l'obtention d'un macro-agent de transfert de chaîne ω -monofonctionnel de type xanthate et qui ouvre la voie à des copolymères à blocs XG-*b*-polymères vinyliques.

En utilisant une lipase puis une glycosynthase, une autre fonction xanthate a été introduite sur l'extrémité non réductrice de l'oligosaccharide, offrant un macro-agent de transfert de chaîne α,ω -difonctionnel qui n'avait jamais été décrit à ce jour. Celui-ci ouvre la voie à des copolymères triblocs polymères vinyliques-*b*-XG-*b*-polymères vinyliques.

Dans le cadre de la méthode « coupling onto », l' ω -alcyne-oligoxyloglucane est disposé à être couplé par chimie « click » à un polymère vinylique obtenu par polymérisation MADIX avec un agent de transfert de chaîne α,ω -difonctionnel porteur à la fois des fonctions azoture et xanthate.

A partir des deux macro-agents de transfert de chaîne - ω -monofonctionnel et α,ω -difonctionnel - la polymérisation MADIX de différents monomères (acrylamide, acétate de vinyle et *N*-vinyl-2-pyrrolidone) a été menée en suivant la méthode « starting from ». Il a été montré que l'oligosaccharide joue un rôle important lors de la polymérisation de ces monomères.

D'une part, la tendance des oligoxyloglucanes à former des agrégats dans l'eau réduit l'accessibilité de la fonction xanthate. Des copolymères à blocs double hydrophiles XG-*b*-PAm et PAm-*b*-XG-*b*-PAm ont pu être obtenus en éliminant le macro-CTA résiduel par simple dialyse. A notre connaissance, le copolymère à blocs PAm-*b*-XG-*b*-PAm constitue le premier exemple de copolymère triblocs « hybride » glucidique/vinylique.

D'autre part, des copolymères XG-*b*-PAcV ont été synthétisés par polymérisation MADIX dans le DMF. La présence d'une seconde population de polymère a été révélée par CES. Nous attribuons cette population à l'existence de réactions de transfert au polymère et/ou de transfert aux fonctions hydroxyle de l'oligosaccharide.

Par ailleurs, la polymérisation de la *N*-vinyl-2-pyrrolidone menée dans l'eau à partir du XG-CTA semble engendrer une hydrolyse de la fonction xanthate portée par les xyloglucanes, comme le confirme la perte de réponse du produit formé lors de son analyse par CES avec réponse UV à 290 nm. Ceci ne permet pas, dans ces conditions, la formation de copolymères à blocs XG-*b*-PNVP par la méthode « starting from ».

Dans une troisième partie, la méthodologie « coupling onto », consistant à coupler les deux homopolymères, a été utilisée pour obtenir des copolymères à blocs « hybrides » naturel/synthétique. Un nouvel agent de transfert de chaîne MADIX α -fonctionnalisé par un azoture a été synthétisé à cet effet, ce qui a permis de préparer des homopolymères d'acrylamide, d'acétate de vinyle et de *N*-vinyl-2-pyrrolidone de structure bien définie. Le couplage par « chimie click » entre ces homopolymères et des ω -alcyne-oligoxyloglucanes a été réalisé avec succès et donne accès à trois familles de copolymères à blocs « hybrides » possédant des longueurs de blocs vinyliques variables.

En solution aqueuse, le copolymère à blocs XG-*b*-PACV₉₇ s'auto-assemble dans une morphologie vésiculaire avec une membrane à base de PACV hydrophobe et des blocs hydrophiles xyloglucane stabilisants. Par ailleurs le copolymère à blocs XG-*b*-PNVP₉₇ forme également des polymersomes avec une membrane à base de xyloglucane et des blocs stabilisants PNVP, mais dans une solution H₂O/acétone. Les propriétés d'auto-assemblage de ces copolymères à blocs « hybrides » restent à investiguer en détail.

Du point de vue de la synthèse des copolymères à blocs « hybrides », les deux stratégies développées s'avèrent être simples et permettent d'envisager la création d'une grande variété de composés en variant aussi bien la nature du bloc glucidique que celle du bloc synthétique. La faculté de généraliser ces méthodes ouvrirait un champ de possibilités quant aux monomères polymérisables (styréniques, acryliques, ...).

PARTIE EXPERIMENTALE

1.	Méthodes générales	213
1.1.	Solvants et réactifs	213
1.2.	Chromatographies sur silice.....	213
1.3.	Caractérisation moléculaire et propriétés physico-chimiques	213
1.3.1.	Spectrométrie par résonance magnétique nucléaire (RMN).....	213
1.3.2.	Spectrométrie de masse	214
1.3.3.	Spectrométrie infrarouge (IR)	214
1.3.4.	Chromatographie d'exclusion stérique (CES).....	214
1.3.4.1.	CES dans l'eau.....	214
1.3.4.2.	CES dans le DMF	215
1.3.5.	Diffusion dynamique de la lumière	215
1.3.6.	Microscopie électronique en transmission	215
2.	Modifications chimio-enzymatiques du xyloglucane et élaboration d'agents de transfert MADIX.....	216
	<i>N</i> -(2-Bromopropanoyl)succinimide (5)	216
	2-Azidoéthanamine (6)	216
	<i>N</i> -(2-Azidoéthyl)-2-bromopropanamide (7)	217
	Mélange de XXXG, XXLG et XLXG, XLLG (8)	218
	Mélange de <i>N</i> -propargyle oligoxyloglucanes (9)	219
	Mélange de ω -bromo-oligoxyloglucanes (10)	220
	Mélange de ω -xanthate-oligoxyloglucanes (11)	221
	Oligoxyloglucane XXXG (12)	222
	<i>N</i> -propargyle XXXG (13)	222
	ω -Bromo-XXXG (14)	223
	α -Fluorure de lactosyle (15)	224
	(2,2,2-Trifluoroéthyl)-2-bromopropionate (16)	225

α -Fluorure de 6II-2-bromopropionyle-lactosyle (17)	225
α,ω -Dibromo-xyloglucane (18)	226
α,ω -Dixanthate-xyloglucane (19)	227
Xanthate de <i>O</i> -éthyle- <i>S</i> -(<i>N</i> -(2-azidoéthyle)-propanamide) (20)	228
3. Synthèse de copolymères à blocs « hybrides » xyloglucane/polymère vinylique par la voie « starting from »	229
Copolymères à blocs XG- <i>b</i> -PAm par la méthode « starting from » (21)	229
Copolymères à blocs XG- <i>b</i> -PAcV par la méthode « starting from » (22)	231
Copolymères à blocs XG- <i>b</i> -PNVP par la méthode « starting from » (23)	232
Copolymères à blocs PAm- <i>b</i> -XG- <i>b</i> -PAm par la méthode « starting from » (24)	233
4. Synthèse de copolymères à blocs « hybrides » xyloglucane/polymère vinylique par la voie « coupling onto »	234
Homopolymères α -azido-PAm (25)	234
Copolymères à blocs XG- <i>b</i> -PAm par la méthode « coupling onto » (26)	235
Homopolymères α -azido-PVAc (27)	236
Copolymères à blocs XG- <i>b</i> -PAcV par la méthode « coupling onto » (28)	237
Homopolymères α -azido-PNVP (29)	238
Copolymères à blocs XG- <i>b</i> -PNVP par la méthode « coupling onto » (30)	239

1. Méthodes générales

1.1. Solvants et réactifs

Le dichlorométhane et la triéthylamine sont distillés sur anhydride phosphorique (P_2O_5), puis conservés sur tamis moléculaire. Les autres solvants sont utilisés sans autre purification.

L'acétate de vinyle et la *N*-vinyl-2-pyrrolidone sont distillés sous pression réduite avant polymérisation tandis que l'acrylamide est utilisé tel quel.

1.2. Chromatographies sur silice

L'avancement des réactions est suivi par chromatographie sur couche mince (CCM) sur plaque de gel de silice (Merk 60 F254) en utilisant des systèmes d'éluants appropriés. La révélation est effectuée par irradiation sous lumière UV ($\lambda = 254$ nm) et/ou par trempage dans un révélateur acide (EtOH/H₂O/H₂SO₄ : 74-23-3 + 1 g d'orcinol) puis chauffage à 300°C.

Les séparations par chromatographie rapide sont réalisées sous pression d'air comprimé, sur colonne de gel de silice (Merk Geduran SI 60 ; 40-63 μ m) avec l'éluant indiqué.

1.3. Caractérisation moléculaire et propriétés physico-chimiques

1.3.1. Spectrométrie par résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres de RMN ¹H et ¹³C ont été réalisés sur des spectromètres Brüker AC300, Avance 400 et AC400. Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en partie par million (ppm).

Pour les mesures effectuées dans l'eau deutériée (D₂O \geq 99.97 %), la référence utilisée pour les spectres proton est le pic résiduel de HDO (étalonné à $\delta = 4,79$ ppm à 298K).

Pour les composés solubles dans le chloroforme, la référence utilisée pour les spectres proton est le signal du chloroforme (étalonné à $\delta = 7,26$ ppm à 298K) ou, pour les spectres carbone, la raie centrale du signal du CDCl₃ (étalonné à $\delta = 77,0$ ppm).

Pour les spectres réalisés dans le diméthylsulfoxyde deutérié (DMSO- d_6), la référence utilisée pour les spectres proton est le signal du diméthylsulfoxyde (étalonné à $\delta = 2,54$ ppm à 298K).

La notation utilisée pour la description des spectres est la suivante : s (singulet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), m (massif ou multiplet).

1.3.2. Spectrométrie de masse

Les spectres de masse basse résolution ont été effectués au CERMAV sur un spectromètre Waters Micromass ZQ pour la méthode d'ionisation de type electrospray (ESI) et sur un appareil Bruker Autoflex pour la technique MALDI.

1.3.3. Spectrométrie infrarouge (IR)

Les spectres infrarouge ont été obtenus avec un spectromètre BRUKER Tensor 27 présentant une résolution inférieure à $0,5\text{ cm}^{-1}$ et un domaine spectral compris entre 7500 cm^{-1} et 370 cm^{-1} . Les différents échantillons ont été analysés qualitativement soit en réalisant une pastille avec du KBr, soit après évaporation d'une goutte de solution sur une cellule ATR. Les spectres obtenus ont, dans tous les cas, été corrigés par un « blanc ».

1.3.4. Chromatographie d'exclusion stérique (CES)

1.3.4.1. CES dans l'eau

Les masses molaires ainsi que les indices de polymolécularité des oligoxyloglucanes, des polymères de poly(acrylamide) de même que leurs copolymères à blocs ont été déterminés par chromatographie d'exclusion stérique (CES) dans l'eau en présence de NaNO_3 (8,5 g/l) et de NaN_3 (0,2 g/l) à 30°C (0.8 ml/min), à l'aide d'un appareil Polymer Laboratories (PL – GPC50 Plus). Le système d'analyse est équipé de deux colonnes PL aquagel-OH (PL aquagel-OH 40, $300 \times 7,5$ mm, $8\mu\text{m}$ et PL aquagel-OH 30, $300 \times 7,5$ mm, $8\mu\text{m}$) et de deux détecteurs par réfractométrie différentielle et UV. Le dispositif est calibré à l'aide de standard de poly(oxyde d'éthylène) linéaire tandis que le marqueur est l'éthylène glycol.

1.3.4.2. CES dans le DMF

Les masses molaires, les indices de polymolécularité des oligoxyloglucanes, des polymères de poly(acétate de vinyle) et de poly(*N*-vinyl-2-pyrrolidone) ainsi que de leur copolymères à blocs ont été déterminés par chromatographie d'exclusion stérique (CES) dans le DMF + LiBr (1g/l) à 60°C (0.8 ml/min), à l'aide d'un appareil Waters (Alliance GPCV2000). Le système d'analyse est équipé de trois colonnes TSK (7,8×30 cm, 5 µm, G2000, G3000, et G4000 HHR avec une taille de pore de 250, 1500, et 10 000 Å, respectivement) et de deux détecteurs par réfractométrie différentielle (Jasco, RI-1530) et UV (Jasco, UV-975). Le dispositif est calibré à l'aide de standard de polystyrène linéaire tandis que le marqueur est le toluène.

1.3.5. Diffusion dynamique de la lumière

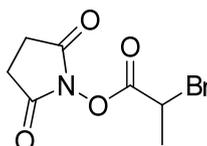
Les mesures de diffusion de la lumière dynamique ont été effectuées avec le goniomètre ALV5000 Laser d'ALV. La source du rayonnement est un laser hélium-néon (35 mW) dont la longueur d'onde est égale à 632,8 nm. Il est équipé d'un corrélateur ALV-5000/EPP Multiple Tau Digital possédant un temps d'échantillonnage initial de 125 ns. Les températures de mesures peuvent être régulées grâce à un bain thermostaté. Les mesures ont été effectuées à différents angles ($50^\circ \leq \theta \leq 130^\circ$) et sur une période de 60 à 300 secondes par angle. Les fonctions de corrélation ont été traitées par la méthode CONTIN. Le programme utilisé pour faire ces traitements est le logiciel d'acquisition et de contrôle d'ALV : ALV-5000E.

1.3.6. Microscopie électronique en transmission

Les clichés de microscopie électronique en transmission ont été obtenus sur un microscope Hitachi H7650 opérant à 80kV équipé d'une caméra GATAN Orius 11 mégapixels. Les échantillons ont été préparés par la « méthode du spray » : cette technique consiste à pulvériser sous pression d'azote une solution aqueuse de copolymères à blocs à 1mg/ml sur une grille adaptée (400 mesh, grille en cuivre recouverte de carbone). La grille est ensuite laissée à l'air libre à température ambiante afin qu'elle sèche.

2. Modifications chimio-enzymatiques du xyloglucane et élaboration d'agents de transfert MADIX

N-(2-Bromopropanoyl)succinimide (5)



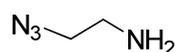
Le produit a été obtenu selon un procédé déjà décrit dans la littérature.²⁹¹ A une solution de *N*-hydroxysuccinimide (9,9 g ; 86,1 mmol ; 1,1 éq.) dans du dichlorométhane refroidie à 0°C sont ajoutés, goutte à goutte, de l'acide bromopropionique (7 ml ; 78,3 mmol ; 1 éq.) et le dicyclohexylcarbodiimide (16,16 g ; 78,3 mmol ; 1 éq.). La réaction est agitée à température ambiante durant une nuit. L'avancement de la réaction est suivi sur CCM sous UV (Et₂O).

La solution est filtrée et le produit est purifié par chromatographie sur gel de silice (Et₂O) pour donner un solide blanc (18,6 g, 95 %)

RMN ¹H (ppm, CDCl₃, 298 K) : 1,96 (d, 3H, CH(CH₃)Br), 2,86 (s, 4H, H_{cycl}), 4,61 (q, 1H, CH(CH₃)Br).

RMN ¹³C (ppm, CDCl₃, 298 K) : 21,67 (1C, CH(CH₃)Br) 25,74 (2C, C_{cycl}), 34,97 (1C, CH(CH₃)Br), 166,17 (1C, C=O), 168,69 (2C, C_{cycl}=O).

2-Azidoéthanamine (6)



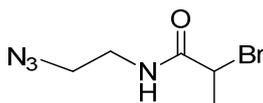
Le produit a été obtenu selon un procédé déjà décrit dans la littérature.²⁹² A une solution d'hydrobromure de 2-bromoéthylamine (20 g ; 97,6 mmol ; 1 éq.) dans l'eau (20 ml) est ajouté l'azide de sodium (12,68 g ; 195 mmol ; 2 éq.). La réaction est agitée à la température de 80°C pendant 3 jours et son avancement est suivi par CCM (acétonitrile/H₂O, 8-2, v/v). La

solution est par la suite concentrée et refroidie dans un bain de glace. De l'éther diéthylique puis des pastilles d'hydroxyde de potassium (21 g) sont ajoutés tout en conservant une température inférieure à 10°C. Après séparation de la phase organique, la phase aqueuse est extraite plusieurs fois avec de l'éther diéthylique (130 ml). Les phases organiques sont rassemblées et séchées avec Na₂SO₄, puis concentrées afin de donner un liquide transparent (8,13 g ; 97 %).

RMN ¹H (ppm, CDCl₃, 298 K) : 1,50 (s, 1H, NH₂), 2,71 (t, 2H, N₃CH₂CH₂NH₂), 3,20 (t, 2H, N₃CH₂CH₂NH₂).

RMN ¹³C (ppm, CDCl₃, 298 K) : 41,24 (1C, N₃CH₂CH₂NH₂), 54,54 (1C, N₃CH₂CH₂NH₂).

N-(2-Azidoéthyl)-2-bromopropanamide (7)



A une solution du composé **5** (669 mg ; 2,7 mmol ; 1 éq.), dans le dichlorométhane et refroidie à 0°C sont ajoutés, goutte à goutte, le composé **6** (462 mg ; 5,37 mol ; 2 éq.) puis de la triéthylamine (1,12 ml ; 8,07 mmol ; 3 éq.). La réaction est agitée à température ambiante pendant une nuit et l'avancement de la réaction est suivi par CCM (éther de pétrole/acétate d'éthyle, 8-2, v/v). La solution est concentrée puis purifiée par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle, 8-2, v/v) afin de donner un solide (518,3 mg ; 88 %).

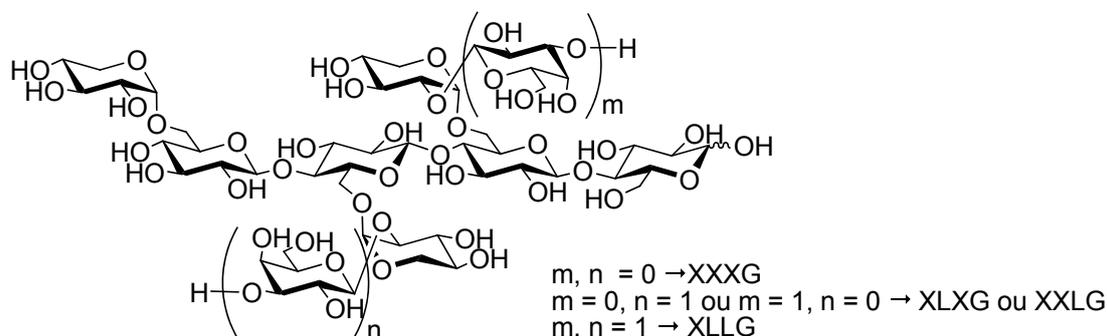
Spectrométrie de masse (ES) : m/z = 221 [M + H]⁺

RMN ¹H (ppm, CDCl₃, 298 K) : 1,85 (d, 3H, CHCH₃), 3,43 (m, 4H, N₃CH₂CH₂), 4,36 (q, 1H, CHCH₃), 6,61 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (ppm, CDCl₃, 298 K) : 23,31 (1C, CHCH₃), 39,87 (1C, N₃CH₂CH₂NH), 45,12 (1C, CHCH₃), 50,82 (N₃CH₂CH₂).

Spectrométrie infrarouge (cm⁻¹, FTIR) : 2 100 (N₃).

Mélange de XXXG, XXLG et XLXG, XLLG (8)



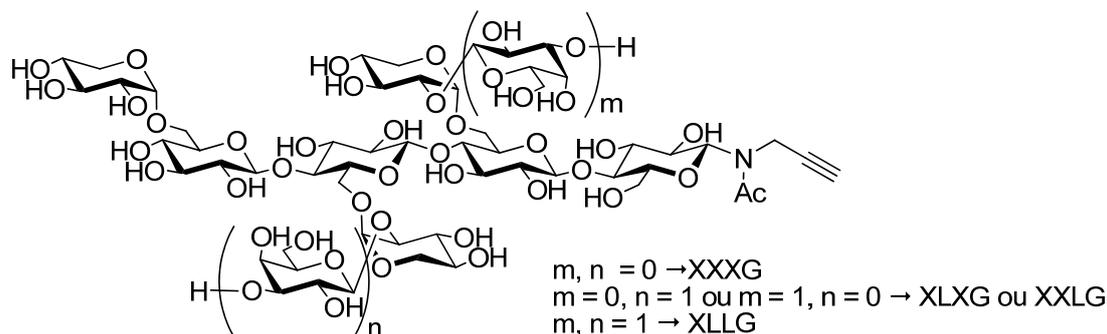
Du xyloglucane de graines de tamarin de 3A, Dainippon Pharmaceuticals (3,5 g) est dissous dans l'eau (500 ml) sous agitation mécanique à 37°C. Après solubilisation totale du polysaccharide, la cellulase 3042A de Genencor (1,35 ml) est ajoutée au mélange qui est agité mécaniquement pendant 4 h à 37°C. L'avancement de la réaction est suivi par CCM (acétonitrile/H₂O, 7-3, v/v). La réaction est plongée dans un bain d'eau à 100°C afin de dénaturer l'enzyme, puis elle est filtrée sur célite, concentrée et lyophilisée pour donner les oligoxyloglucanes de DP 7, 8 et 9 dans les proportions 15-35-50, respectivement (3,5 g ; 80%).

Spectrométrie de masse (MALDI-TOF) : (**XXXG**) $m/z = 1085 [M + Na]^+$

(**XXLG et XLXG**) $m/z = 1247 [M + Na]^+$

(**XLLG**) $m/z = 1409 [M + Na]^+$

RMN ¹H (ppm, D₂O, 298 K) : 3,20-4,10 (m, 47H, H-2,3,4,5,6 Glc, Gal, Xyl), 4,46-4,58 (m, 4H, H-1Glc et Gal), 4,62 (d, 1H, H-1 Glc^{1β}), 4,88-4,95 (m, 2H, H-1 Xyl^{II, III}), 5,15 (s, 1H, H-1 Xyl^{IV}), 5,19 (d, 1H, H-1 Glc^{1α}).

Mélange de N-propargyle oligoxyloglucanes (9)

A une solution de **8** (4 g ; 3,12 mmol ; 1 éq.) dans le méthanol (6 ml) est ajoutée de la N-propargylamine (4 ml ; 62,4 mmol ; 20 éq.) conduisant à une solution orange visqueuse. Cette dernière est agitée à température ambiante pendant 3 jours. L'avancement de la réaction est suivi sur CCM (acétonitrile/H₂O, 7-3 v/v). La solution est diluée dans 120 ml d'un mélange méthanol/dichlorométhane 1-2 (v/v). Un précipité blanc apparaît et la solution est laissée sous agitation magnétique pendant dix minutes. Puis elle est filtrée et le solide blanc est lavé avec 120ml d'un mélange méthanol/dichlorométhane 1-2 (v/v). Le solide est alors soumis à une N-acétylation en le plaçant dans 800 ml d'un mélange méthanol/anhydride acétique 20-1 (v/v). La solution est maintenue sous agitation magnétique pendant 24h à température ambiante. Elle est ensuite évaporée et coévaporée au toluène puis lyophilisée. Le mélange de N-propargyle oligoxyloglucanes est obtenu avec un rendement molaire de 94%.

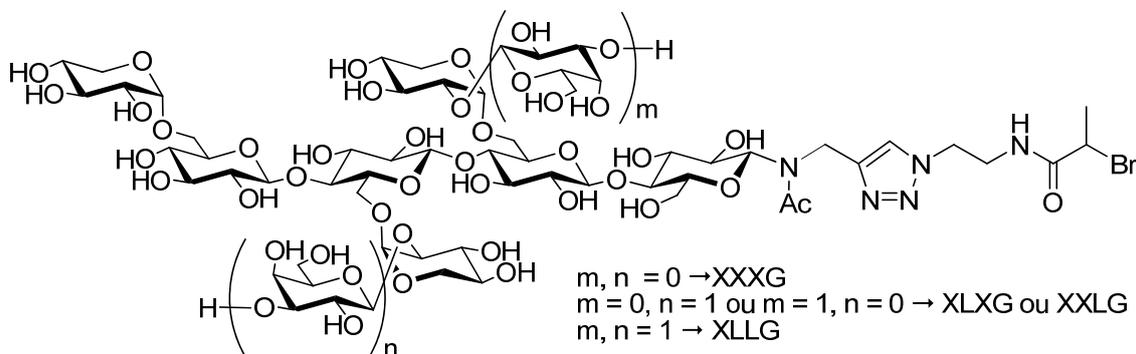
Spectrométrie de masse (MALDI-TOF) : (**XXXG**) $m/z = 1164 [M + Na]^+$

(**XXLG** et **XLXG**) $m/z = 1326 [M + Na]^+$

(**XLLG**) $m/z = 1488 [M + Na]^+$

RMN ¹H (ppm, D₂O, 298 K) : 2,21 et 2,29 (2 s, rotamère, 3H, CH₃ (NAc)), 2,55 et 2,72 (2 s, rotamère, 1H, C≡CH), 3,20-4,35 (m, 47H, H-2,3,4,5,6 Glc, Gal, Xyl), 4,46-4,58 (m, 6H, H-1Glc et Gal et NCH₂), 4,88-4,95 (m, 2H, H-1 Xyl^{II, III}), 5,06 (d, 1H, H-1 Glc^{Ib}), 5,15 (s, 1H, H-1 Xyl^{IV}).

Spectrométrie infrarouge (cm⁻¹, KBr) : 1 083 (CN, amide), 1 645 (C=O, amide), 2 700-3 100 (CH oligosaccharide), 3 100-3 600 (OH, oligosaccharide).

Mélange de ω -bromo-oligoxyloglucanes (10)

A une solution de **9** (50 mg ; 0,04 mmol ; 1 éq.) dans un mélange H₂O/méthanol (5 ml, 1-1, v/v) est ajouté le produit **7** (12 mg ; 0,06 mmol ; 1,5 éq.), de l'ascorbate de sodium (7 mg ; 0,04 mmol ; 1 éq.) et une solution de sulfate de cuivre 0,1 M fraîchement préparée (0,07 ml ; 0,008 mmol ; 0,2 éq.). La réaction est agitée à température ambiante pendant 4 h et l'avancement de la réaction est suivi par CCM (acétonitrile/H₂O, 8-2, v/v). La solution est par la suite concentrée et purifiée par chromatographie sur gel de silice (acétonitrile/H₂O, 8-2, v/v). Les fractions du produit désiré sont rassemblées et lyophilisées pour donner un solide (42,5 mg ; 73 %).

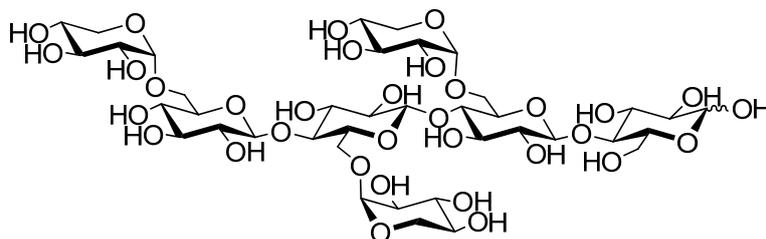
Spectrométrie de masse (MALDI-TOF) : (**XXXG**) $m/z = 1384$ [M + Na]⁺

(**XXLG** et **XLXG**) $m/z = 1546$ [M + Na]⁺

(**XLLG**) $m/z = 1708$ [M + Na]⁺

RMN ¹H (ppm, D₂O, 298 K) : 1,57-1,68 (m, 3H, CHCH₃), 2,21 et 2,29 (2 s, rotamère, 3H, CH₃ (NAc)), 3,20-4,35 (m, 51H, H-2,3,4,5,6 Glc, Gal, Xyl et CH₂CH₂), 4,36 (q, 1H, CHCH₃), 4,46-4,58 (m, 6H, H-1Glc et Gal et NCH₂), 4,88-4,95 (m, 2H, H-1 Xyl^{II, III}), 5,10 et 5,58 (d, 1H, H-1 Glc^{Ib}), 5,15 (s, 1H, H-1 Xyl^{IV}), 7,87 et 8,00 (2 s, rotamère, 1H, C=CH triazole).

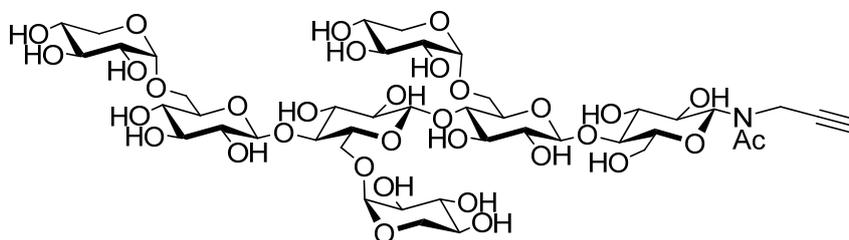
Spectrométrie infrarouge (cm⁻¹, KBr) : 1 652 (C=O, amide), 2 700-3 100 (CH oligosaccharide), 3 100-3 600 (OH, oligosaccharide).

Oligoxyglucane XXXG (12)

A une solution de **8** (20 mg ; 0,02 mmol ; 1 éq.) dans l'eau (2 ml) est ajoutée la β -D-Galactosidase d'*A.Niger* (0,0056 ml). La réaction est agitée mécaniquement à 60°C pendant 90 min. L'avancement de la réaction est suivi par CCM (acétonitrile/H₂O, 7-3, v/v). La réaction est plongée dans un bain d'eau à 100°C afin de dénaturer l'enzyme, puis elle est filtrée sur Célite, avant d'être purifiée par chromatographie sur gel de silice (acétonitrile/H₂O, 8-2, v/v). Les fractions du produit désiré sont rassemblées et lyophilisées pour donner un solide blanc (9,4 mg ; 55 %).

Spectrométrie de masse (MALDI-TOF) : $m/z = 1085 [M + Na]^+$

RMN ¹H (ppm, D₂O, 298 K) : 3,20-4,10 (m, 39H, H-2,3,4,5,6 Glc, Xyl), 4,46-4,58 (m, 3H, H-1Glc), 4,62 (d, 1H, H-1 Glc^{Ib}), 4,88-4,95 (m, 2H, H-1 Xyl^{II, III}), 5,15 (s, 1H, H-1 Xyl^{IV}), 5,19 (d, 1H, H-1 Glc^{Ia}).

N-propargyle XXXG (13)

A une solution de **12** (4 g ; 3,77 mmol ; 1 éq.) dans le méthanol (6 ml) est ajoutée de la N-propargylamine (4 ml ; 62,4 mmol ; 17 éq.) conduisant à une solution orange visqueuse. La solution est agitée à température ambiante pendant 3 jours. L'avancement de la réaction est

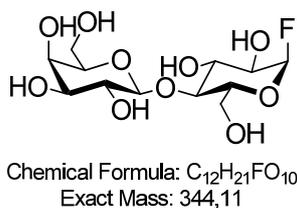
v/v). Les fractions du produit désiré sont rassemblées et lyophilisées pour donner un solide (3,5 g ; 98 %).

Spectrométrie de masse (MALDI-TOF) : $m/z = 1384 [M + Na]^+$

RMN 1H (ppm, D_2O , 298 K) : 1,57-1,68 (m, 3H, $CHCH_3$), 2,21 et 2,29 (2 s, rotamère, 3H, CH_3 (Nac)), 3,20-4,35 (m, 43H, H-2,3,4,5,6 Glc, Xyl et CH_2CH_2), 4,36 (q, 1H, $CHCH_3$), 4,46-4,58 (m, 5H, H-1Glc et NCH_2), 4,88-4,95 (m, 2H, H-1 Xyl^{II, III}), 5,10 et 5,58 (d, 1H, H-1 Glc^{I β}), 5,15 (s, 1H, H-1 Xyl^{IV}), 7,87 et 8,00 (2 s, rotamère, 1H, C=CH triazole).

Spectrométrie infrarouge (cm^{-1} , KBr) : 1 652 (C=O, amide), 2 700-3 100 (CH oligosaccharide), 3 100-3 600 (OH, oligosaccharide).

α -Fluorure de lactosyle (15)



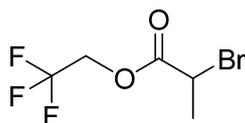
L' α -fluorure de lactosyle peracétylé²⁹³ (3 g ; 4,42 mmol ; 1 éq.) est dissous dans un mélange HF/pyridine 7-3 (v/v) (20 ml) à 0°C contenu dans un bécher en plastique. La réaction est agitée pendant 2 h puis diluée dans le dichlorométhane avant d'être neutralisée à froid par une solution d'ammoniaque 3M (60 ml). Après extraction, la phase organique est lavée plusieurs fois avec de l'hydrogénocarbonate de sodium. Les phases organiques sont rassemblées et séchées sur Na_2SO_4 anhydre. Le produit est purifié par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle, 1-1, v/v). La solution est évaporée donnant un solide blanc (2,5 g ; 88 %) qui est identifié comme étant le produit attendu par comparaison avec un échantillon identique de fluorure de lactosyle acétylé.²⁹³

Ce solide (8,1 g ; 12,69 mmol ; 1 éq.) est dissous à froid dans le méthanol (800 ml) avant d'ajouter du méthanoate de sodium 1M (6 ml). La réaction est agitée pendant 3h puis neutralisée par de la résine Amberlite acide IR 120. Le mélange est filtré, concentré puis

lyophilisé pour donner un solide blanc (4,3 g ; 98 %) qui est identifié comme étant le produit attendu par comparaison avec un échantillon identique de fluorure de lactosyle.

Spectre de masse (ESI) : $m/z = 367 [M+Na]^+$

(2,2,2-Trifluoroéthyl)-2-bromopropionate (16)

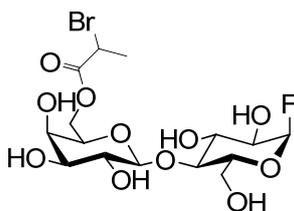


A une solution de 2,2,2-trifluoroéthanol (2 ml ; 19,8 mmol ; 1 éq.) dans de chloroforme sont ajoutés au goutte à goutte du chlorure de bromopropionyle (1,44 ml ; 19,8 mmol ; 1 éq.) et de la triéthylamine (3,04 ml ; 21,8 mmol ; 1,1 éq.). La réaction est agitée à température ambiante pendant 5h. L'avancement de la réaction est suivi par CCM (éther de pétrole/acétate d'éthyle, 9-1, v/v). La solution est par la suite concentrée et purifiée par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle, 8-2, v/v). Les fractions du produit désiré sont rassemblées et évaporées pour donner un solide (518,3 mg ; 88 %).

RMN ^1H (ppm, CDCl_3 , 298 K) : 1,83 (d, 3H, CHCH_3), 4,39 (q, 1H, CHCH_3), 4,51 (m, 2H, CH_2CF_3).

RMN ^{13}C (ppm, CDCl_3 , 298 K) : 21,60 (1C, CHCH_3), 38,55 (1C, CHCH_3), 60,78 (q, 1C, CH_2CF_3), 117,35 (q, 1C, CH_2CF_3), 169,06 (1C $\text{C}=\text{O}$).

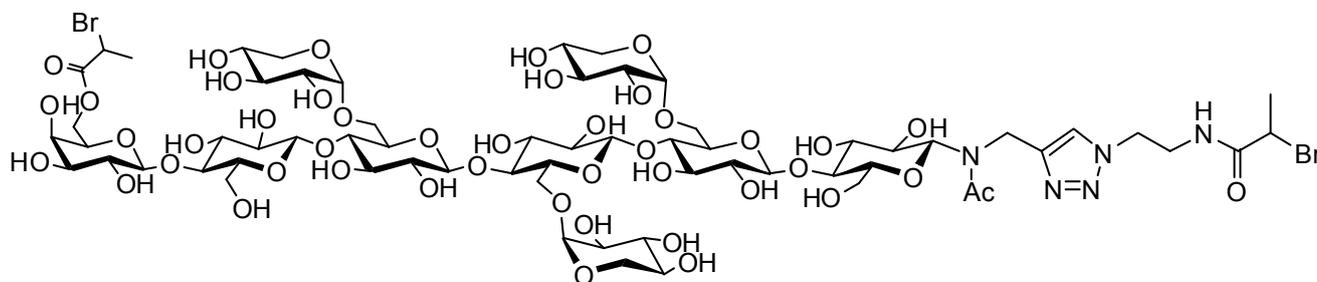
α -Fluorure de 6II-2-bromopropionyle-lactosyle (17)



A une solution contenant l' α fluorure de lactosyle (3 g ; 8,72 mmol ; 1 éq.) et la lipase ommobilisé de *Candida antartica* Novozyme (9 g) dans l'alcool tertio-amyle, est ajouté le composé **16** (30 ml ; 12,82 mmol ; 14,7 éq.). La réaction est agitée mécaniquement à 40°C pendant 2h. La solution est diluée dans le méthanol et filtrée. Le produit est concentré puis purifié par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle, 1-9, v/v puis dichlorométhane/méthanol, 85-15, v/v). Les fractions du produit désiré sont rassemblées et évaporées pour donner un solide (2,5 g ; 60 %).

Spectrométrie de masse (ESI) : $m/z = 496 [M + NH_4]^+$

α,ω -Dibromo-xyloglucane (**18**)



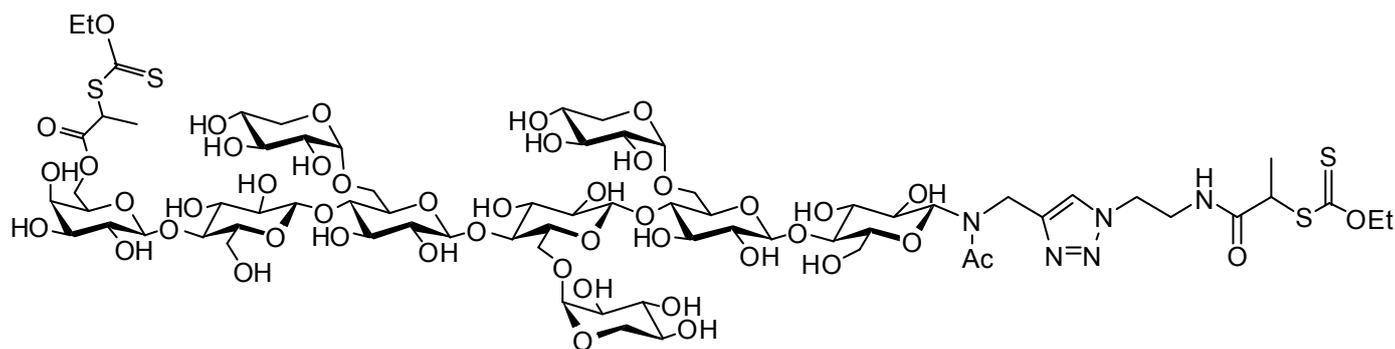
Dans un erlenmeyer sont introduits le ω -bromo-XXXG (2,8 g ; 1,72 mmol ; 1 éq.) et l' α -fluorure de 6II-2-bromopropionyle-lactosyle (1,15 g ; 2,4 mmol ; 1,4 éq.). L'ensemble est solubilisé dans une solution tampon phosphate pH 7 (110 ml) puis la glycosynthase *HiCel7B* E197A d'*Humicola insolens* est introduite (70 mg). La réaction est agitée mécaniquement à 40°C pendant 90 min. Le produit est concentré et purifié par chromatographie sur gel de silice (acétonitrile/H₂O, 85-15, v/v). Les fractions du produit désiré sont rassemblées et lyophilisées pour donner un solide blanc (3,1 g ; 99 %).

Spectrométrie de masse (MALDI-TOF) : $m/z = 1842 [M + Na]^+$

RMN ¹H (ppm, D₂O, 298 K) : 1,57-1,68 (m, 3H, 2 × CHCH₃), 2,21 et 2,29 (2 s, rotamère, CH₃ 3H, (NAc)), 3,20-4,35 (m, 55H, H-2,3,4,5,6 Glc, Xyl et CH₂CH₂), 4,20-4,52 (q, 2H, 2 ×

CHCH_3), 4,46-4,58 (m, 11H, H-1Glc et Gal et NCH_2 et $2 \times \text{CH}_2\text{CH}_3$), 4,88-4,95 (m, 2H, H-1 Xyl^{II, III}), 5,10 et 5,58 (d, 1H, H-1 Glc^{I β}), 5,15 (s, 1H, H-1 Xyl^{IV}), 7,87 et 8,00 (2 s, rotamère, 1H, C=CH triazole).

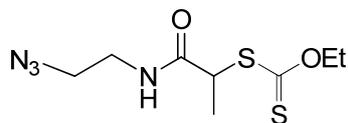
α,ω -Dixanthate-xyloglucane (19)



A une solution de **18** (100 mg ; 5,5 μmol ; 1 eq.) dans le DMF (0,8 ml), est ajouté l'*O*-éthylxanthate de potassium (60 mg ; 0,37 mmol ; 3 eq.). La réaction est agitée à température ambiante pendant 3h. Le suivi de la réaction est effectué par CCM (acétonitrile/ H_2O , 7-3 v/v). La solution est par la suite concentrée et purifiée par chromatographie sur gel de silice (acétonitrile/ H_2O , 8-2 v/v). Les fractions du produit désiré sont rassemblées et lyophilisées pour donner un solide (50,2 mg ; 48 %).

Spectrométrie de masse (MALDI-TOF) : $m/z = 1926$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$

RMN ^1H (ppm, D_2O , 298 K) : 1,27-1,72 (m, 12H, $2 \times \text{CH}_2\text{CH}_3$ et $2 \times \text{CHCH}_3$), 2,21 et 2,29 (2 s, rotamère, 3H, CH_3 (NAc)), 3,20-4,35 (m, 55H, H-2,3,4,5,6 Glc, Gal, Xyl et CH_2CH_2), 4,20-4,52 (q, 2H, $2 \times \text{CHCH}_3$), 4,46-4,58 (m, 11H, H-1Glc et Gal et NCH_2 et $2 \times \text{CH}_2\text{CH}_3$), 4,88-4,95 (m, 2H, H-1 Xyl^{II, III}), 5,10 et 5,58 (d, 1H, H-1 Glc^{I β}), 5,15 (s, 1H, H-1 Xyl^{IV}), 7,87 et 8,00 (2 s, rotamère, 1H, C=CH triazole).

Xanthate de *O*-éthyle-*S*-(*N*-(2-azidoéthyle)-propanamide) (20)

A une solution du composé **7** (14,6 g ; 66,6 mmol ; 1 éq.), dans l'acétone (300 ml) est ajouté de l'*O*-éthylxanthate de potassium (16,1 g ; 99,9 mmol ; 1,5 éq.). La réaction est agitée à température ambiante pendant 5h et l'avancement est suivi par CCM (éther de pétrole/acétate d'éthyle, 8-2, v/v). La solution est concentrée puis purifiée par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle, 75-25, v/v). Les fractions de produit désiré sont évaporées pour donner un solide jaune (12,3 mg ; 70 %).

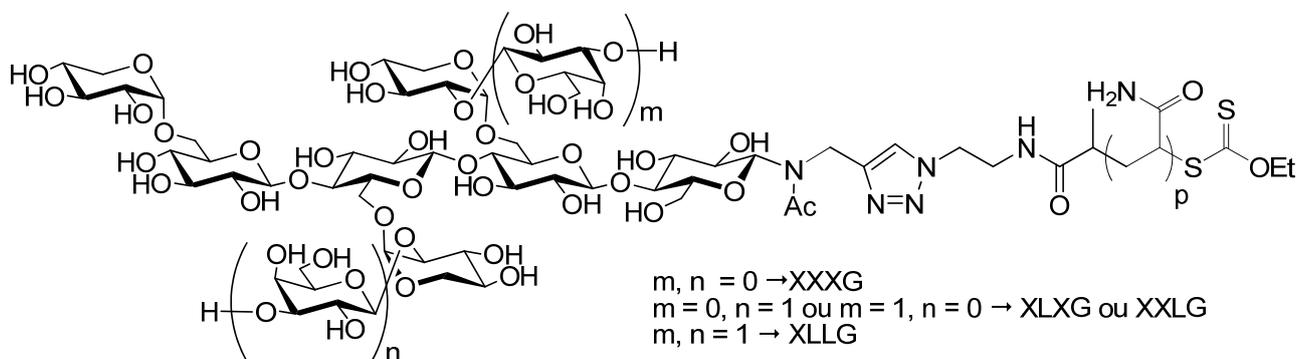
RMN ¹H (ppm, CDCl₃, 298 K) : 1,41 (t, 3H, CH₂CH₃), 1,55 (d, 3H, CHCH₃), 3,42 (m, 4H, CH₂-CH₂), 4,31 (q, 1H, CHCH₃), 4,63 (q, 2H, CH₂CH₃), 6,69 (s, 1H, NH)

RMN ¹³C (ppm, CDCl₃, 298 K) : 13,71 (1C, CH₂CH₃), 16,25 (1C, CHCH₃), 39,20 (1C, CH₂NH), 47,79 (1C, CHCH₃), 50,73 (1C, N₃CH₂), 70,81 (1C, CH₂CH₃), 171,08 (1C, C=O), 213,34 (1C, C=S).

Spectrométrie infrarouge (cm⁻¹, FTIR) : 2100 (N₃).

3. Synthèse de copolymères à blocs « hybrides » xyloglucane/polymère vinylique par la voie « starting from »

Copolymères à blocs XG-*b*-PAm par la méthode « starting from » (21)



Les polymérisations de l'acrylamide (Am) ont été réalisées selon le même modèle, en faisant varier le solvant, la concentration en réactifs ou l'amorceur.

Typiquement, la polymérisation de l'acrylamide en discontinu, et plus particulièrement l'obtention du copolymère **21-1** (XG-*b*-PAm₂₅), est réalisée de la manière suivante : dans un tube de Schlenk muni d'un barreau aimanté, le XG-Xa **11** (100 mg ; 61,6 μmol ; 1 eq.), l'ACP (3,5 mg ; 12,3 μmol ; 0,2 eq.), l'Am (109,5 mg ; 1,5 mmol ; 25 eq.) et l'eau (1,9 ml) sont successivement introduits. Le mélange réactionnel est homogénéisé, désaéré en réalisant 3 cycles gel/aspiration/dégel puis placé sous atmosphère inerte de diazote. Le tube est ensuite placé dans un bain d'huile thermostaté à 70°C pendant 24h sous vive agitation.

Une fraction du produit brut est par la suite dissoute dans le D₂O puis analysée par RMN ¹H afin de déterminer la conversion du monomère. Le reste de la solution est versé lentement dans de l'acétone (30 ml) sous vive agitation. Le précipité obtenu est centrifugé. L'opération est répétée une seconde fois avant de sécher le précipité sous pression réduite à température ambiante. Le produit purifié obtenu est ensuite analysé par CES dans l'eau ainsi que par RMN ¹H après dissolution dans le D₂O.

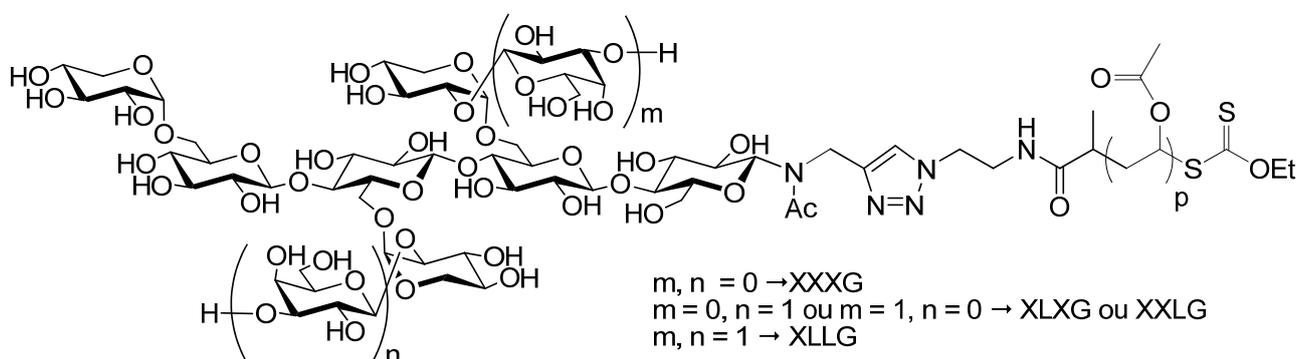
Dans le cas de la polymérisation de l'acrylamide en continu, et plus particulièrement l'obtention d'un copolymère de type XG-*b*-PAm₂₅, la réaction est réalisée de la manière

suivante : dans un tube de Schlenk n°1 muni d'un barreau aimanté, le XG-Xa **11** (100 mg ; 61,6 μmol ; 1 éq) et l'eau (0,31 ml) sont successivement introduits. Dans un tube de Schlenk n°2 est préparée une solution 0,037M d'ACP dans l'eau. Dans un tube de Schlenk n°3 est préparée une solution 1,21M d'Am dans l'eau. Les solutions sont homogénéisées, désoxygénées en réalisant 3 cycles gel/aspiration/dégel puis placées sous atmosphère inerte de diazote. Le tube n°1 est ensuite placé dans un bain d'huile thermostaté à 70°C. La solution d'acrylamide est ajoutée au goutte à goutte à un débit de 0,254 ml/h pendant 5h à l'aide d'un pousse-seringue, tandis qu'à l'instant initial puis toutes les heures pendant 5h, un volume de 0,053 ml d'amorceur est ajouté à l'aide d'une seringue dans le milieu réactionnel. Le temps total de la polymérisation est de 24h.

Une fraction du produit brut est par la suite dissoute dans le D_2O puis analysée par RMN ^1H afin de déterminer la conversion du monomère. Le reste de la solution est versé lentement dans de l'acétone (30 ml) sous vive agitation. Le précipité obtenu est centrifugé. L'opération est répétée une seconde fois avant de sécher le précipité sous pression réduite à température ambiante. Le produit purifié obtenu est ensuite analysé par CES dans l'eau ainsi que par RMN ^1H après dissolution dans le D_2O .

Afin d'éliminer un maximum d'agent de transfert glucidique résiduel, et ainsi obtenir un copolymère à blocs pur, une dialyse est réalisée en introduisant le produit pendant 3 jours dans un boudin ayant une membrane de seuil de coupure égale à 14 000 g/mol en changeant régulièrement l'eau distillée. Le copolymère est obtenu après lyophilisation de cette solution aqueuse. Le produit purifié obtenu est ensuite analysé par CES dans l'eau ainsi que par RMN ^1H après dissolution dans le D_2O .

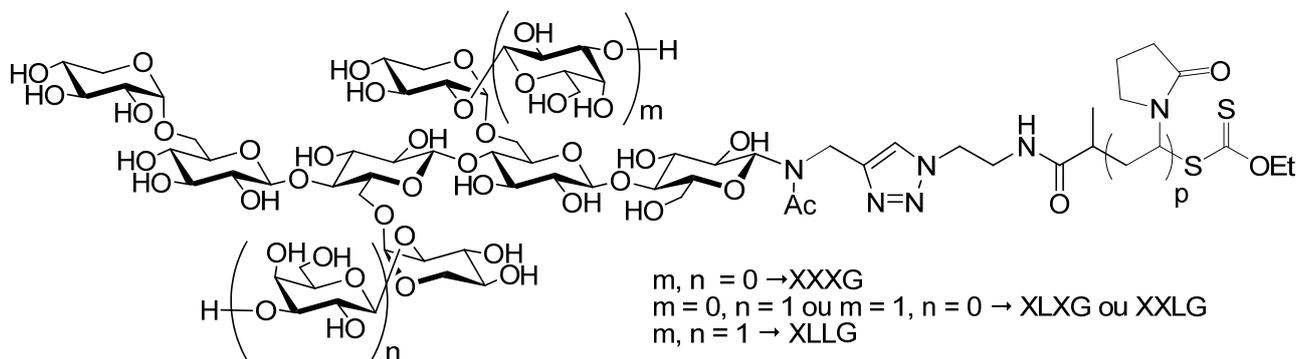
RMN ^1H (ppm, D_2O , 298 K) : 0,92-1,23 (m, 6H, CH_2CH_3 et CHCH_3), 1,44-1,89 ($\text{CH}_2\text{CH}((\text{C}=\text{O})\text{NH}_2)$), 2,11-2,46 ($\text{CH}_2\text{CH}((\text{C}=\text{O})\text{NH}_2)$ et CH_3 (NAc)), 3,20-4,35 (m, 51H, H-2,3,4,5,6 Glc, Gal, Xyl et CH_2CH_2), 4,36 (q, 1H, CHCH_3), 4,46-4,58 (m, 6H, H-1Glc et Gal et NCH_2 et CH_2CH_3), 4,88-4,95 (m, 2H, H-1 Xyl^{II, III}), 5,10 et 5,58 (d, 1H, H-1 Glc^{I β}), 5,15 (s, 1H, H-1 Xyl^{IV}), 7,87 et 8,00 (2 s, rotamère, 1H, C=CH triazole).

Copolymères à blocs XG-*b*-PAcV par la méthode « starting from » (22)

Les polymérisations de l'acétate de vinyle (AcV) ont été réalisées selon le même modèle. Typiquement, la polymérisation de l'AcV pour l'obtention du copolymère **22-2** (XG-*b*-PVAc₅₀), est réalisée de la manière suivante : dans un tube de Schlenk muni d'un barreau aimanté, le XG-Xa **11** (100 mg ; 61,6 μmol ; 1 éq.), l'AIBN (2 mg ; 12,3 μmol ; 0,2 éq.), l'AcV (0,57 ml ; 6,2 mmol ; 50 éq.) et le DMF (2,7 ml) sont successivement introduits. Le mélange réactionnel est homogénéisé, désaéré en réalisant 3 cycles gel/aspiration/dégel puis placé sous atmosphère inerte de diazote. Le tube est ensuite placé dans un bain d'huile thermostaté à 60°C pendant 24h sous vive agitation.

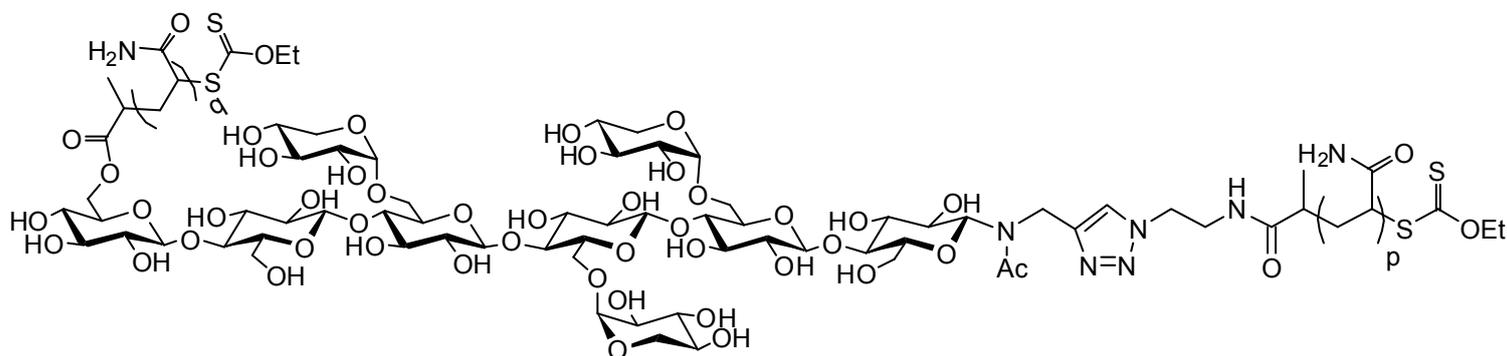
Le solvant de la réaction ainsi que le monomère résiduel sont évaporés sous pression réduite afin de déterminer par gravimétrie la conversion du monomère. Le produit obtenu est ensuite analysé par CES dans le DMF ainsi que par RMN ¹H après dissolution dans le DMSO-d₆.

RMN ¹H (ppm, DMSO, 298 K) : 1,16-1,40 (6H, CH₂CH₃ et CHCH₃), 1,60-1,86 (CH₂CH(O(C=O)CH₃)), 1,86-2,16 (CH₂CH(O(C=O)CH₃)), 3,00-3,93 (H oligosaccharide et CH₂-CH₂), 3,97 (1H, CHCH₃), 4,06-4,20 (CH₂CH₃), 4,20-5,76 (H,OH oligosaccharide (42H), CH₂CH(O(C=O)CH₃)).

Copolymères à blocs XG-*b*-PNVP par la méthode « starting from » (23)

Typiquement, la polymérisation de la NVP pour l'obtention du copolymère **23-1** (XG-*b*-PNVP₁₀₀), est réalisée de la manière suivante : dans un tube de Schlenk muni d'un barreau aimanté, le XG-Xa **11** (100 mg ; 61,6 μmol ; 1 éq.), l'AIBN (2 mg ; 12,3 μmol ; 0,2 éq.), la NVP (1,3 ml ; 12,3 mmol ; 100 éq.) et l'eau (5,9 ml) sont successivement introduits. Le mélange réactionnel est homogénéisé, désoxygéné en réalisant 3 cycles gel/aspiration/dégel puis placé sous atmosphère inerte de diazote. Le tube est ensuite placé dans un bain d'huile thermostaté à 60°C pendant 24h sous vive agitation.

Une fraction du produit brut est par la suite dissoute dans le D₂O puis analysée par RMN ¹H afin de déterminer la conversion du monomère. Le reste de la solution est versé lentement dans de dioxane (300 ml) sous vive agitation. Le précipité obtenu est centrifugé. L'opération est répétée une seconde fois avant de sécher le précipité sous pression réduite à température ambiante. Le produit purifié obtenu est ensuite analysé par CES dans le DMF ainsi que par RMN ¹H après dissolution dans le D₂O.

Copolymères à blocs PAm-*b*-XG-*b*-PAm par la méthode « starting from » (24)

Les polymérisations de l'Am ont été réalisées selon le même modèle. Typiquement, la polymérisation de l'acrylamide, et plus particulièrement l'obtention du copolymère **24-2** (PAm₅₀-*b*-XG-*b*-PAm₅₀), est réalisée de la manière suivante : dans un tube de Schlenk muni d'un barreau aimanté, l'oligoxyloglucane difonctionnel **19** (100 mg ; 52,5 μ mol ; 1 éq.), l'ACP (2,9 mg ; 10,5 μ mol ; 0,2 éq.), l'Am (373,4 mg ; 5,3 mmol ; 100 éq.) et l'eau (1,9 ml) sont successivement introduits. Le mélange réactionnel est homogénéisé, désaéré en réalisant 3 cycles gel/aspiration/dégel puis placé sous atmosphère inerte de diazote. Le tube est ensuite placé dans un bain d'huile thermostaté à 70°C pendant 24h sous vive agitation.

Une fraction du produit brut est par la suite dissoute dans le D₂O puis analysée par RMN ¹H afin de déterminer la conversion du monomère. Le reste de la solution est versé lentement dans de l'acétone (30 ml) sous vive agitation. Le précipité obtenu est centrifugé. L'opération est répétée une seconde fois avant de sécher le précipité sous pression réduite à température ambiante. Le produit purifié obtenu est ensuite analysé par CES dans l'eau ainsi que par RMN ¹H après dissolution dans le D₂O.

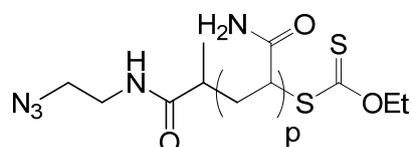
Afin d'éliminer un maximum d'agent de transfert glucidique résiduel, et ainsi obtenir un copolymère à blocs pur, une dialyse est réalisée en introduisant le produit pendant 3 jours dans un boudin ayant une membrane de seuil de coupure égale à 14 000 g/mol en changeant régulièrement l'eau distillée. Le copolymère est obtenu après lyophilisation de cette solution aqueuse. Le produit purifié obtenu est ensuite analysé par CES dans l'eau ainsi que par RMN ¹H après dissolution dans le D₂O.

RMN ¹H (ppm, D₂O, 298 K) : 0,90-1,20 (m, 6H, CH₂CH₃ et CHCH₃), 1,44-1,89 (CH₂CH((C=O)NH₂)), 2,11-2,46 (CH₂CH((C=O)NH₂) et CH₃ (NAc)), 3,20-4,35 (m, 55H, H-

2,3,4,5,6 Glc, Gal, Xyl et CH_2CH_2), 4,20-4,52 (q, 2H, $2 \times \text{CHCH}_3$), 4,46-4,58 (m, 11H, H-1Glc et Gal et NCH_2 et $2 \times \text{CH}_2\text{CH}_3$), 4,88-4,95 (m, 2H, H-1 Xyl^{II, III}), 5,10 et 5,58 (d, 1H, H-1 Glc^{IB}), 5,15 (s, 1H, H-1 Xyl^{IV}), 7,87 et 8,00 (2 s, rotamère, 1H, C=CH triazole).

4. Synthèse de copolymères à blocs « hybrides » xyloglucane/polymère vinylique par la voie « coupling onto »

Homopolymères α -azido-PAm (25)



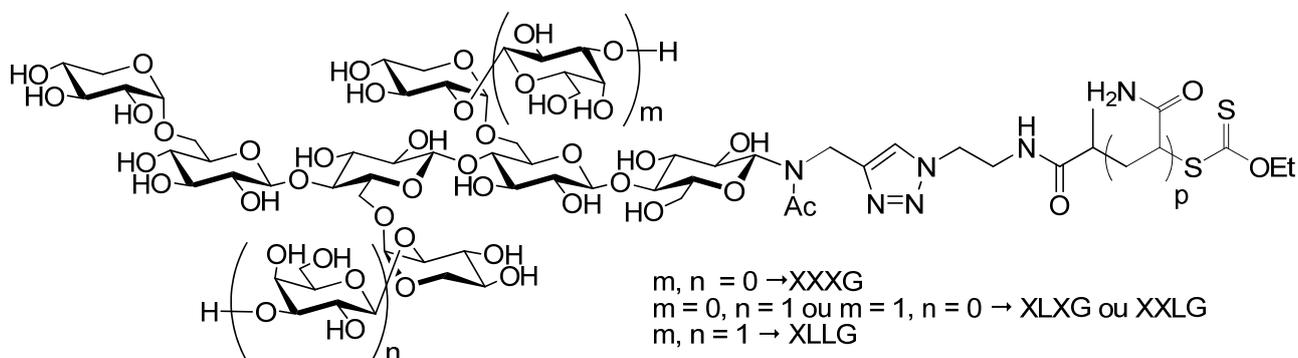
Les polymérisations de l'Am ont été réalisées selon le même modèle. Plus particulièrement, l'obtention du copolymère **25-1** ($\text{N}_3\text{-PAm}_{25}$), est réalisée de la manière suivante : dans un tube de Schlenk muni d'un barreau aimanté, l'agent de transfert de chaîne Xa **20** (100 mg ; 0,38 mmol ; 1 éq.), l'ACP (21,4 mg ; 76,3 μmol ; 0,2 éq.), l'Am (678,1 mg ; 9,5 mmol ; 25 éq.) et l'eau (3,2 ml) sont successivement introduits. Le mélange réactionnel est homogénéisé, désoxygéné en réalisant 3 cycles gel/aspiration/dégel puis placé sous atmosphère inerte de diazote. Le tube est ensuite placé dans un bain d'huile thermostaté à 70°C pendant 24h sous vive agitation.

Une fraction du produit brut est par la suite dissoute dans le D_2O puis analysée par RMN ^1H afin de déterminer la conversion du monomère. Le reste de la solution est versé lentement dans de l'acétone (100 ml) sous vive agitation. Le précipité obtenu est centrifugé. L'opération est répétée une seconde fois avant de sécher le précipité sous pression réduite à température ambiante. Le produit purifié obtenu est ensuite analysé par CES dans l'eau ainsi que par RMN ^1H après dissolution dans le D_2O .

RMN ^1H (ppm, D_2O , 298 K) : 1,11 (t, 3H, CH_2CH_3), 1,44-1,89 ($\text{CH}_2\text{CH}((\text{C}=\text{O})\text{NH}_2)$), 2,11-2,46 ($\text{CH}_2\text{CH}((\text{C}=\text{O})\text{NH}_2)$), 3,42 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$), 3,77 (1H, CHCH_3).

Spectrométrie infrarouge (cm^{-1} , KBr) : 1 616 (NH), 1 670 (C=O amide), 2 110 (N_3), 2 900 (CH (PAm)), 3 000-4 000 (NH (PAm)).

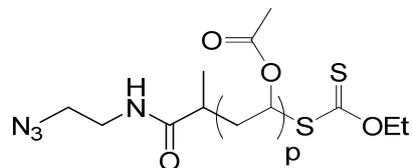
Copolymères à blocs XG-*b*-PAm par la méthode « couplage onto » (26)



Les réactions de couplage par « chimie click » sont réalisées selon le modèle suivant. Dans un ballon, le composé **25-1** (75 mg ; 36,8 μmol ; 1 éq.), le composé **9** (101 mg ; 74 μmol ; 2 éq.), l'ascorbate de sodium (18 mg ; 93 μmol ; 2,5 éq.), l'eau (7,5 ml) et une solution aqueuse de sulfate de cuivre 0,1 M fraîchement préparée (0,074 ml ; 74 μmol ; 2 éq.) sont successivement introduits. La réaction est agitée à température ambiante pendant une nuit. L'excès d'oligoxyloglucanes est par la suite éliminé par dialyse en introduisant la solution pendant 3 jours dans un boudin ayant une membrane de seuil de coupure égale à 14 000 g/mol en changeant régulièrement l'eau distillée. Le copolymère est obtenu après lyophilisation de cette solution aqueuse. Le produit purifié obtenu est ensuite analysé par CES dans l'eau ainsi que par spectrométrie infrarouge et RMN ^1H après dissolution dans le D_2O .

RMN ^1H (ppm, CDCl_3 , 298 K) : voir la caractérisation du composé **21**.

Spectrométrie infrarouge (cm^{-1} , KBr) : 1 616 (NH), 1 670 (C=O amide), 2 900 (CH (PAm et oligosaccharide)), 3 000-4 000 (NH (PAm), OH (oligosaccharide)).

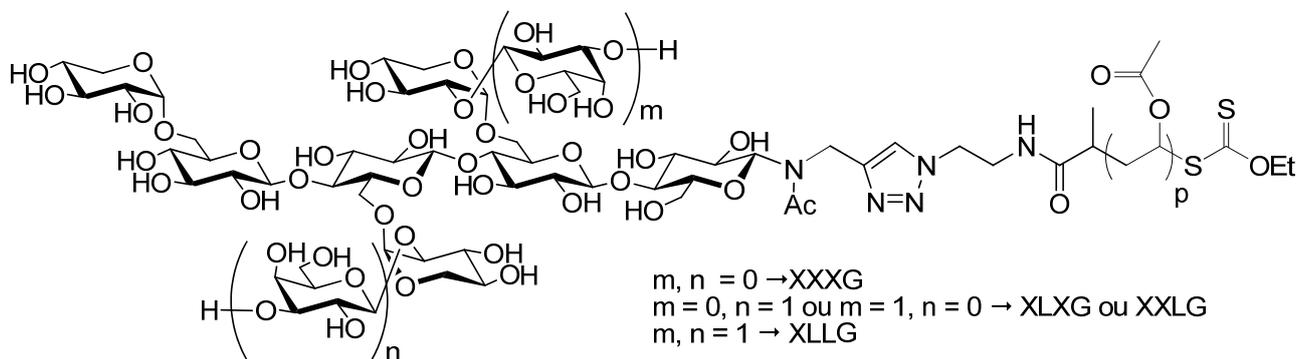
Homopolymères α -azido-PVAc (27)

Les polymérisations de l'AcV ont été réalisées selon le même modèle. Plus particulièrement, l'obtention du copolymère 27-2 (N_3 -PVAc₅₀), est réalisée de la manière suivante : dans un tube de Schlenk muni d'un barreau aimanté, l'agent de transfert de chaîne Xa 20 (50 mg ; 0,19 mmol ; 1 éq.), l'AIBN (6,3 mg ; 38,2 μ mol ; 0,2 éq.), l'AcV (0,88 ml ; 9,5 mmol ; 50 éq.) et l'acétate d'éthyle (3,5 ml) sont successivement introduits. Le mélange réactionnel est homogénéisé, désoxygéné en réalisant 3 cycles gel/aspiration/dégel puis placé sous atmosphère inerte de diazote. Le tube est ensuite placé dans un bain d'huile thermostaté à 60°C pendant 24h sous vive agitation.

Une fraction du produit brut est par la suite dissoute dans le $CDCl_3$ puis analysée par RMN 1H afin de déterminer la conversion du monomère. Le reste de la solution ainsi que le monomère résiduel sont évaporés sous pression réduite. Le produit purifié obtenu est ensuite analysé par CES dans le DMF ainsi que par RMN 1H après dissolution dans le $CDCl_3$.

RMN 1H (ppm, $CDCl_3$, 298 K) : 1,00-1,50 (6H, CH_2CH_3 et $CHCH_3$), 1,60-1,89 ($CH_2CH(O(C=O)CH_3)$), 1,90-2,11 ($CH_2CH(O(C=O)CH_3)$),. 3,45 (m, 4H, CH_2-CH_2), 4,10 (1H, $CHCH_3$), 4,58 (6H, CH_2CH_3), 4,78-5,06 ($CH_2CH(O(C=O)CH_3)$).

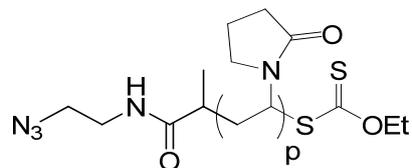
Spectrométrie infrarouge (cm^{-1} , FTIR) : 1 676 (C=O amide), 1 740 (C=O (PAcV)), 2 105 (N_3), 2 800-3 000 (CH (PAcV)).

Copolymères à blocs XG-*b*-PAcV par la méthode « coupling onto » (28)

Les réactions de couplage par « chimie click » sont réalisées selon le modèle suivant. Dans un ballon, le composé **27-2** (100 mg ; 21,9 μmol ; 1 eq.), le composé **9** (60 mg ; 44 μmol ; 2 eq.), l'ascorbate de sodium (11 mg ; 55 μmol ; 2,5 eq.), un mélange $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$ 1-9 (v/v) (11 ml) et une solution aqueuse de sulfate de cuivre 0,1 M fraîchement préparée (0,044 ml ; 44 μmol ; 2 eq.) sont successivement introduits. La réaction est agitée à température ambiante pendant une nuit. L'excès d'oligoxyglucanes ainsi que le DMSO sont par la suite éliminés par dialyse en introduisant la solution pendant 3 jours dans un boudin ayant une membrane de seuil de coupure égale à 14 000 g/mol en changeant régulièrement l'eau distillée. Le copolymère est obtenu après lyophilisation de cette solution aqueuse. Le produit purifié obtenu est ensuite analysé par CES dans l'eau ainsi que par spectrométrie infrarouge et RMN ^1H après dissolution dans le DMSO-d_6 .

RMN ^1H (ppm, DMSO, 298 K) : voir la caractérisation du composé **22**.

Spectrométrie infrarouge (cm^{-1} , KBr) : 1 648 et 1 676 ($\text{C}=\text{O}$ amide), 1 740 ($\text{C}=\text{O}$ (PAcV)), 2 800-3 000 (CH (PAcV)), 3 050-3 800 (OH oligosaccharide).

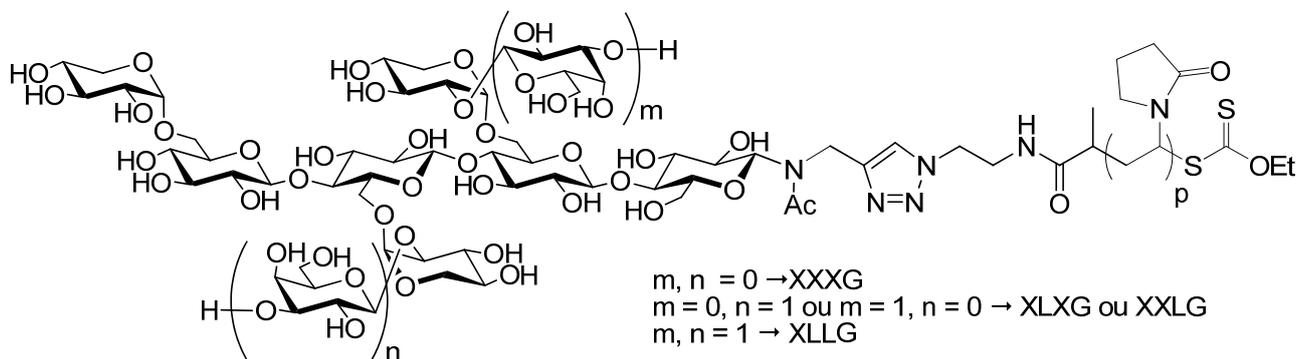
Homopolymères α -azido-PNVP (**29**)

Les polymérisations de la NVP ont été réalisées selon le même modèle. Plus particulièrement, l'obtention du copolymère **29-3** (N_3 -PNVPC₁₀₀), est réalisée de la manière suivante : dans un tube de Schlenk muni d'un barreau aimanté, l'agent de transfert de chaîne Xa **20** (50 mg ; 0,19 mmol ; 1 éq.), l'AIBN (6,3 mg ; 38,2 μ mol ; 0,2 éq.), la NVP (2,04 ml ; 19,1 mmol ; 100 éq.) et le dioxane (2,1 ml) sont successivement introduits. Le mélange réactionnel est homogénéisé, désoxygéné en réalisant 3 cycles gel/aspiration/dégel puis placé sous atmosphère inerte de diazote. Le tube est ensuite placé dans un bain d'huile thermostaté à 60°C pendant 24h sous vive agitation.

Une fraction du produit brut est par la suite dissoute dans le $CDCl_3$ puis analysée par RMN 1H afin de déterminer la conversion du monomère. Le reste de la solution est versé lentement dans de l'éther diéthylique (30 ml) sous vive agitation. Le précipité obtenu est centrifugé. L'opération est répétée une seconde fois avant de sécher le précipité sous pression réduite à température ambiante. Le produit purifié obtenu est ensuite analysé par CES dans le DMF ainsi que par RMN 1H après dissolution dans le $CDCl_3$.

RMN 1H (ppm, $CDCl_3$, 298 K) : 1,12 (3H, CH_2CH_3), 1,47-1,95 (CH_2CHN), 1,95-2,20 ($((C=O)CH_2 CH_2 CH_2N)$), 2,20-2,61 ($((C=O)CH_2 CH_2 CH_2N)$), 3,05-3,53 ($((C=O)CH_2 CH_2 CH_2N$ et CH_2CH_2), 3,53-4,05 (CH_2CHN), 4,32-4,45 (1H, $CHCH_3$).

Spectrométrie infrarouge (cm^{-1} , FTIR) : 1 660 (C=O (PNVP)), 2 105 (N_3), 2 800-3 000 (CH (PNVP)), 3 000-3 800 (OH (hydratation PNVP)).

Copolymères à blocs XG-*b*-PNVP par la méthode « couplage onto » (30)

Les réactions de couplage par « chimie click » sont réalisées selon le modèle suivant. Dans un ballon, le composé **29-3** (100 mg ; 8,8 μmol ; 1 éq.), le composé **9** (24 mg ; 18 μmol ; 2 éq.), l'ascorbate de sodium (4 mg ; 22 μmol ; 2,5 éq.), un mélange $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$ 1-1 (v/v) (4 ml) et une solution aqueuse de sulfate de cuivre 0,1 M fraîchement préparée (0,018 ml ; 18 μmol ; 2 éq.) sont successivement introduits. La réaction est agitée à température ambiante pendant une nuit. L'excès d'oligoxyglucanes ainsi que le DMSO sont par la suite éliminés par dialyse en introduisant la solution pendant 3 jours dans un boudin ayant une membrane de seuil de coupure égale à 14 000 g/mol en changeant régulièrement l'eau distillée. Le copolymère est obtenu après lyophilisation de cette solution aqueuse. Le produit purifié obtenu est ensuite analysé par CES dans l'eau ainsi que par spectrométrie infrarouge et RMN ^1H après dissolution dans le D_2O .

RMN ^1H (ppm, D_2O , 298 K) : 0,93-1,04 (CH_2CH_3), 1,47-1,95 (CH_2CHN), 1,95-2,20 ($(\text{C}=\text{O})\text{CH}_2$ CH_2 CH_2N), 2,20-2,61 ($(\text{C}=\text{O})\text{CH}_2$ CH_2 CH_2N et CH_3 (NAc)), 3,10-4,35 (m, 51H, H-2,3,4,5,6 Glc, Gal, Xyl et $(\text{C}=\text{O})\text{CH}_2$ CH_2 CH_2N et (CH_2CHN) et CH_2CH_2), 4,17 (CHCH_3), 4,46-4,58 (m, 6H, H-1Glc et Gal et NCH_2 et CH_2CH_3), 4,88-4,95 (m, 2H, H-1 Xyl^{II, III}), 5,10 et 5,58 (d, 1H, H-1 Glc^{IB}), 5,15 (s, 1H, H-1 Xyl^{IV}), 7,91 (C=CH triazole).

Spectrométrie infrarouge (cm^{-1} , KBr) : 1 660 (C=O (PNVP)), 2 800-3 000 (CH (PNVP)), 3 000-3 800 (OH (hydratation PNVP), OH (oligosaccharide)).

Références Bibliographiques

291. Lecolley, F.; Tao, L.; Mantovani, G.; Durkin, I.; Lautru, S.; Haddleton, D. M., *Chem. Commun.* **2004**, 2026-2027.
292. Benalil, A.; Carboni, B.; Vaultier, M., *Tetrahedron* **1991**, 47, 8177-8194.
293. Jünnemann, J.; Thiem, J.; Pedersen, C., *Carbohydr. Res.* **1993**, 249, 91-94.

Résumé : Le xyloglucane issu de la graine de tamarin (XG) est un polysaccharide provenant de la biomasse. Son association à un bloc vinylique dans une architecture de copolymères à blocs « hybrides » naturels/synthétique permet d'envisager des applications de par leur auto-assemblage en solution aqueuse.

Afin d'obtenir de tels copolymères à blocs, deux stratégies de synthèse sont proposées, basées sur la modification chimio-enzymatique du xyloglucane et la polymérisation radicalaire contrôlée MADIX de monomères vinyliques : acrylamide (Am), acétate de vinyle (AcV), *N*-vinyl-2-pyrrolidone (NVP). La stratégie « starting from » consiste en la polymérisation radicalaire contrôlée MADIX d'un monomère vinylique à partir de l'oligosaccharide du xyloglucane modifié par une ou plusieurs fonctions polymérisantes. La stratégie « coupling onto » consiste en un couplage par « chimie click » entre un polymère vinylique issu de la polymérisation radicalaire contrôlée MADIX à partir d'un agent de transfert de chaîne porteur d'une fonction azoture, et l'oligosaccharide modifié par une fonction alcyne. Ainsi, quatre familles de copolymères à blocs « hybrides » ont été obtenus (XG-*b*-PAm, PAm-*b*-XG-*b*-PAm, XG-*b*-PAcV, XG-*b*-PNVP). Une étude physico-chimique en solution préliminaire des copolymères XG-*b*-PAcV et XG-*b*-PNVP a également été réalisée indiquant la formation de polymersomes.

Mots-clés : oligosaccharide, xyloglucane, polymère vinylique, modification chimio-enzymatique, polymérisation radicalaire contrôlée, polymérisation RAFT/MADIX, chimie click.

Abstract : Xyloglucan from tamarind seeds (XG) is a natural occurring polysaccharide. The association of the xyloglucan with a vinylic polymer part in an “hybrid” natural/synthetic block copolymer architecture gives the possibility to take advantages of its self-assembly in aqueous solution.

We propose in this manuscript two synthetic strategies giving rise to “hybrid” block copolymers, based on chemo-enzymatic modification of xyloglucan oligosaccharides and controlled radical polymerization MADIX of vinylic monomers: acrylamide (Am), vinyl acetate (AcV), *N*-vinyl-2-pyrrolidone (NVP). The “starting from” strategy consists in MADIX controlled radical polymerization of a vinylic monomer starting from a modified oligosaccharide bearing one/two polymerizable group(s). The “coupling onto” strategy consists in a coupling by “click chemistry” between vinylic polymer obtained by controlled radical polymerization of a chain transfer agent bearing an azide function and a modified oligosaccharide bearing an alkyne function. Four families of “hybrid” block copolymers were thus obtained (XG-*b*-PAm, PAm-*b*-XG-*b*-PAm, XG-*b*-PAcV, XG-*b*-PNVP). A previous physico-chemical study in solution of these copolymers has also been achieved suggesting the formation of polymersomes.

Key words: oligosaccharide, xyloglucan, vinylic polymer, chemo-enzymatic modification, controlled radical polymerization, RAFT/MADIX, click chemistry.