



HAL
open science

Synthèse, dégradation et bio-propriétés du polyglyoxylate d'éthyle

Benjamine Belloncle

► **To cite this version:**

Benjamine Belloncle. Synthèse, dégradation et bio-propriétés du polyglyoxylate d'éthyle. Polymères. INSA de Rouen, 2008. Français. NNT : 2008ISAM0005 . tel-00558791

HAL Id: tel-00558791

<https://theses.hal.science/tel-00558791>

Submitted on 24 Jan 2011

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.

INSTITUT NATIONAL DES SCIENCES APPLIQUEES DE ROUEN

THESE

Présentée par

Mlle Benjamine BELLONCLE

En vue de l'obtention du grade de

Docteur de l'INSA de Rouen

Spécialité : Chimie Macromoléculaire

Ecole Doctorale Chimie-Biologie

***SYNTHESE, DEGRADATION ET BIO-PROPRIETES
DU POLYGLYOXYLATE D'ETHYLE***

Soutenue le 28 Mars 2008 devant le jury composé de :

M. J. COUDANE	Rapporteur
M. J.-P. COUVERCELLE	Rapporteur
M. C. BUNEL	Examineur
M. F. BUREL	Examineur
M. J.-F. PILARD	Examineur

Ce travail a été effectué au Laboratoire de Matériaux Macromoléculaires (L2M) de l'INSA de Rouen. Je tiens, en premier lieu, à remercier Claude BUNEL qui a accepté de me confier cette thèse particulièrement intéressante et qui m'a permis à la fois de me diversifier et de me perfectionner. Ses conseils, sa gentillesse et son humour m'ont permis d'apprécier tous les moments (parfois longs comme pour la rédaction) passés au laboratoire. Je rends également hommage à son délicieux et mythique gâteau de crêpes que je n'ai vu que trop peu en trois ans.

Je tiens à remercier Messieurs Jean COUDANE, Professeur à l'Université de Montpellier I, et Jean-Pierre COUVERCELLE, Professeur à l'Université de Bourgogne, pour avoir accepté de juger ce travail.

Merci également à Monsieur Jean-François PILARD, Professeur de l'Université du Maine, pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

A Monsieur Fabrice BUREL, dit Fa ou « chef » ou « Charly », merci pour ta patience, tes idées toujours nombreuses (parfois trop) et ta disponibilité. Grâce à toi, j'ai pour la première fois de ma vie eu un calendrier de l'Avent Kinder et des ongles ! Merci encore pour ces trois années très sympathiques !

Je souhaite adresser ma reconnaissance à Olivier LESOUHAITIER pour les analyses toxicologiques qu'il a bien voulu effectuer sur les hématies et sur ces « pauvres » *C. Elegans*. Je tiens à le remercier également pour la gentillesse avec laquelle il m'a accueilli dans son laboratoire pour m'expliquer toutes ces expériences.

Ma sympathie va également à Carole PLASSON pour le temps qu'elle a passé, avec moi, à préparer les plants d'orge et de cresson... les regarder grandir... et ensuite, la partie la plus fastidieuse, peser TOUS les plants un par un... puis les reposer... et les re-reposer...et ainsi de suite jusqu'à ce que le poids n'évolue plus !

Merci aussi à Laurence MENU qui a su avoir la patience de se plonger dans ces essais, puis de compiler tous ces résultats et de bien m'expliquer le cheminement pour déterminer les illogismes (plants « hors normes »).

Ma gratitude va également vers Corinne LOUTELIER-BOURHIS pour les analyses de spectro de masse ainsi que pour sa gentillesse et son écoute. J'ai beaucoup apprécié ces longs moments entourés de spectres qui nous apportés souvent plus de questions que de réponses malheureusement.

Merci aussi à Hassan OULYADI pour le suivi de la température plafond par RMN en température et à Mounia JAMAL et Ludovic BENGUIGUI pour le protocole de respirométrie qu'ils m'ont aimablement fourni et détaillé.

Ces trois années (et un peu plus) ont été très agréables pour moi et je tiens particulièrement à remercier Murielle pour tout ce qu'elle a fait, nos midis « piscine » (si si il y en a eu quelques uns), nos longues conversations très enrichissantes et rassurantes et bien sûr nos soirées si agréables.

Une grande pensée pour Hortense, à qui j'ai servi si souvent de pense-bête/agenda/secrétaire. Tu as enfin le droit au « calme » de la retraite et j'espère que nous ne perdrons pas totalement le contact (maintenant que tu maîtrises Internet plus de problème !) et que nous arriverons à faire encore quelques barbecues chez toi.

Un merci également aux autres permanents qui ont toujours été présents et disponibles. Merci donc à Nicolas pour les problèmes informatiques (tu vas être bientôt plus tranquille sans ma cession capricieuse !), à Laurence pour les réponses toujours à propos à mes questions variées et parfois débiles et à Philippe avec qui je pouvais rire de tout (ou presque).

Ces trois années n'auraient pas eu le même charme sans tous les thésards de ce labo. Une petite pensée à ceux qui sont déjà des industriels chevronnés : Vincent et Antoine (ahhh... mon petit mari chéri, quel plaisir de t'avoir rencontré.. et ne crois pas te débarrasser si vite de moi ... j'attends ma pension alimentaire !!). Et une grande pensée aux « jeunes » : Mélanie (ma petite pacsée !! membre actif des « drôles de dames »), Marc (que dire de lui... il est indescriptible et pour le comprendre, il faut connaître le Marcostyle !!), Ornella (un dynamisme hors du commun... et de bonnes petites soirées !) et Najib, le petit dernier à qui je souhaite bon courage.

Les autres thésards du laboratoire Polymères-Biopolymères-Surfaces ont également beaucoup contribué à ma bonne humeur et à rendre ce séjour en Normandie très agréable. Merci donc particulièrement à Anne-Sophie, Antoine, Camille, Hugues, Khadidja, Larisa, Mickael, Nico et Sébastien, pour nos soirées à la boîte à bières, au Saxo, à l'Oka... nos repas... et nos sorties ludiques à Eurodisney ou au Parc Astérix !! Ce fut toujours un plaisir !

Un grand merci aux nombreux stagiaires qui sont passés dans son labo et l'ont animé. En particulier à Clémentine (ça doit être de dire des conneries qui nous a rapproché, je te souhaite plein de bonnes choses pour la suite !), GG (j'ai jamais compris où étaient les piles mais j'en suis ravie !) et Camille (merci pour le séjour en Finlande bien agréable ma foi.. à bientôt sur Bordeaux).

Une pensée aussi pour les stagiaires qui ont travaillé avec moi sur le PGEt : Laetitia, Louise et Yannick.

Un petit coucou à Sophie (2 ans qu'on se connaît et déjà de nombreux fous rires.. c'est comme ça quand on est « décalée »).

Plein de bisous à ceux qui sont toujours là pour moi : Emilie (je t'adore !), Stéphanie (encore félicitations pour le futur rugbyman...), Etienne (le jour où tu dépasses Bordeaux, appelle-moi !), Vincent (merci pour les bons week-ends qu'on a passé ensemble, par contre si on pouvait oublier la soirée « kitsch ».. ça m'arrange...), Jean-Marc (mon psy maison, toujours là et toujours les bons mots dans les coups durs, merci pour tout !) et Yann (tu pourras toujours compter sur moi... !).

Et pour ceux qui n'ont jamais eu d'autre choix que de me supporter depuis ma naissance, félicitations parce que ce n'est pas toujours évident. Trouver ici toute ma gratitude. MERCI pour tout : les travaux express, les vacances (même si vous êtes toujours overbookés)...

Une grosse bise à chacune de mes grand-mères. Vous êtes adorables ! Merci Malone pour ces week-ends sympas avec les cousins qui me changeaient un peu de Rouen !

Un immense merci enfin à celui qui n'est pas arrivé dans ma vie au meilleur moment (la rédaction... non non chef, c'est pas pour ça que ça a été si long !) : Xavier. Tu as réussi à me supporter dans ces moments parfois difficiles et je sais que tu continueras longtemps. Merci pour ton soutien, ta patience, tu me rassures et maintenant on a la vie devant nous.

INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE I : BIBLIOGRAPHIE	3
I.1 – LES POLYMERES BIODEGRADABLES	3
I.1.1 – Généralités	4
I.1.2 – Polymères biodégradables usuels	6
I.1.3 – Polymères issus des micro-organismes.....	9
I.2 – POLYGLYOXYLATE DE METHYLE.....	11
I.2.1 – Synthèse du polyglyoxylate de méthyle	11
<i>I.2.1.a – Purification du glyoxylate de méthyle.....</i>	<i>12</i>
<i>I.2.1.b – Température plafond et choix de la température de polymérisation .</i>	<i>13</i>
<i>I.2.1.c – Conditions de polymérisation du GMe</i>	<i>14</i>
<i>I.2.1.d – Blocage des extrémités hydroxyles du PGMe</i>	<i>15</i>
I.2.2 – Saponification contrôlée du PGMe	17
I.2.3 – Dégradation du PGMe	18
I.2.4 – Toxicité du PGMe.....	19
I.2.5 – Applications pharmaceutiques	20
<i>I.2.5.a – Etude de la libération prolongée du métoprolol.....</i>	<i>20</i>
<i>I.2.5.b – Etude de la libération rapide de la progestérone</i>	<i>21</i>
I.2.6 – Conclusion	21
CHAPITRE II : SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION DU POLYGLYOXYLATE D'ÉTHYLE.....	25
II.1 – PURIFICATION DU GLYOXYLATE D'ÉTHYLE.....	27
II.1.1 – Purification du glyoxylate d'éthyle (GEt)	28
II.1.2 – Choix de la quantité de P ₂ O ₅	28

II.2 – ETUDE DE LA POLYMERISATION DU GLYOXYLATE D’ETHYLE.....	30
II.2.1 – Détermination de la température plafond	30
II.2.2 – Etude des conditions de polymérisation du GEt.....	33
II.2.2.a – <i>Choix de l’amorceur de polymérisation</i>	34
II.2.2.b – <i>Influence de la concentration en amorceur</i>	35
II.2.2.c – <i>Choix du solvant de polymérisation</i>	36
II.3 – ETUDE DU BLOCAGE DES EXTREMITES DU POLYGLYOXYLATE D’ETHYLE PAR DES FONCTIONS ISOCYANATE	38
II.3.1 – Terminaison uréthane avec des isocyanates	39
II.3.2 – Comparaison des Mn SEC et RMN.....	41
II.3.3 – Analyse RMN ¹³ C.....	43
II.4 – PROPRIETES THERMIQUES.....	46
II.4.1 – Analyse enthalpique différentielle.....	46
II.4.2 – Analyse thermo-gravimétrique	47
II.4.2.a – <i>Influence du blocage des extrémités</i>	47
II.4.2.b – <i>Influence de la longueur de chaîne</i>	48
II.4.2.c – <i>Analyses isothermes</i>	48
II.5 – CONCLUSION	50
CHAPITRE III : COPOLYMERISATION DU STYRENE PAR ATRP	52
III.1 – PRINCIPE DE L’ATRP.....	52
III.2 – CARACTERISATION DU MACROAMORCEUR	56
III.2.1 – Caractérisation du macroamorceur par RMN ¹ H, ¹³ C et SEC.....	57
III.2.2 – Caractérisation du macroamorceur par spectrométrie de masse	59

III.3 – COPOLYMERISATION DU STYRENE PAR ATRP.....	62
III.3.1 – Choix des conditions de polymérisation	62
III.3.2 – Copolymérisation du styrène en masse	63
III.4 – ETUDE CINETIQUE	65
III.5 – ANALYSE THERMO-GRAVIMÉTRIQUE	69
III.6 – ETUDE DE LA STABILITE DU BR-PGET-BR.....	70
III.7 – CONCLUSION.....	74
CHAPITRE IV : DEGRADATION DU POLYGLYOXYLATE D'ETHYLE ..	76
IV.1 – ETUDE PRELIMINAIRE SUR MOLECULES MODELES.....	76
IV.1.1 – Hydrate de l'acide glyoxylique	77
IV.1.2 – Dégradation de l'hydrate de glyoxylate d'éthyle	79
IV.1.3 – Diéthoxyacétate d'éthyle.....	80
IV.1.4 – Mécanisme de dégradation du HGEt	82
IV.2 – DEGRADATION DU POLYGLYOXYLATE D'ETHYLE	83
IV.2.1 – Etude à 37°C en atmosphère saturée en eau	84
<i>IV.2.1.a – Prise en eau</i>	<i>84</i>
<i>IV.2.1.b – Perte de masse</i>	<i>85</i>
<i>IV.2.1.c – Chromatographie d'exclusion stérique</i>	<i>86</i>
<i>IV.2.1.d – Analyse enthalpique différentielle</i>	<i>88</i>
<i>IV.2.1.e – Interprétations</i>	<i>89</i>
IV.2.2 – Etude à 37°C dans l'eau	91
<i>IV.2.2.a – Suivi pHmétrique</i>	<i>91</i>
<i>IV.2.2.b – Suivi par RMN ¹H.....</i>	<i>92</i>
• Identification des molécules libérées	93
• Cinétiques de libération des espèces	94
• Influence du pH.....	96

IV.2.2.c – Spectrométrie de masse	97
• Impact électronique (IE).....	97
• Ionisation chimique (IC)	98
• Analyse des molécules modèles	98
• Analyse des produits ultimes de dégradation du PGEt	101
IV.3 – CONCLUSION.....	105
CHAPITRE V : BIODEGRADABILITE ET TOXICITE DU	
POLYGLYOXYLATE D'ETHYLE	108
V.1 – BIODEGRADATION	108
V.1.1 – Test de respirométrie	110
V.1.2 – Résultats obtenus	112
V.1.3 – Ecotoxicité.....	114
V.2 – PHYTOTOXICITE.....	115
V.2.1 – Principe des essais	115
V.2.2 – Etude sur la germination.....	116
V.2.3 – Influence du PGEt sur la croissance et la biomasse de l'orge.....	117
V.2.4 – Conclusions	118
V.3 – TOXICITE	120
V.3.1 – Hématotoxicité	120
V.3.2 – Toxicité du PGEt sur <i>C. Elegans</i>	122
V.3.2.a – Principe de l'essai	123
V.3.2.b – Résultats	124
V.4 – CONCLUSION	127
CONCLUSION GENERALE	130

ANNEXES	132
ANNEXE 1 – SYNTHÈSE DU PGET.....	132
ANNEXE 2 – CARACTÉRISATIONS.....	135
ANNEXE 3 – COPOLYMERISATION DU STYRENE PAR ATRP.....	137
ANNEXE 4 – DÉGRADATION DU PGET DANS D₂O ET À PH = 4 ET 9	139
ANNEXE 5 – BIODEGRADATION	141
ANNEXE 6 – ÉTUDE DE LA PHYTOTOXICITÉ DU PGET	144
ANNEXE 7 – ÉTUDES DE LA TOXICITÉ DU PGET	145

INTRODUCTION

Un intérêt de plus en plus vif vis-à-vis de matériaux polymères pouvant se dégrader à des vitesses raisonnables et en fonction de conditions biologiques et environnementales précises s'est fait sentir ces dernières années. Cette demande accrue vise tout à la fois à l'obtention de polymères pour la grande consommation, comme actuellement le poly(acide lactique), et de polymères de spécialité pour des applications ciblées (matériaux biomédicaux, peintures érodables, précurseurs de matériaux nanostructurés, enrobage de graines ou de principes actifs...).

La majorité des polymères biodégradables utilisés à l'heure actuelle font partie de la classe des poly(α -hydroxyacide) comme le poly(acide lactique), PLA, le poly(acide glycolique), PGA ou la poly(ϵ -caprolactone), PCL.

Le principal inconvénient de cette variété de polymères est qu'ils sont difficilement fonctionnalisables et ne permettent pas de couvrir l'ensemble des usages.

Un polymère a retenu l'attention de notre laboratoire depuis quelques années : le polyglyoxylate de méthyle (PGMe). En effet, celui-ci possède des fonctions ester pendantes qui peuvent être modifiées. De plus, le PGMe présente des propriétés particulièrement intéressantes en terme de biodégradation et de toxicité. Cependant, lors de sa dégradation, il libère du méthanol ce qui est rédhibitoire pour une utilisation en médecine/pharmacie.

Pour palier ce problème, nous avons choisi d'étudier la polymérisation du glyoxylate d'éthyle (PGEt) qui libérera de l'éthanol à la place du méthanol tout en présentant des propriétés que l'on peut supposer proches de celles de son homologue méthylé. L'objectif principal que nous nous sommes fixé dans ce travail de thèse est d'évaluer les potentialités de ce nouveau matériau.

Ainsi, ce manuscrit, qui est divisé en cinq chapitres, est dédié à la synthèse et à l'étude des bio-propriétés du polyglyoxylate d'éthyle en vue de son utilisation en tant que matériau biodégradable pour des applications médicales, pharmaceutiques ou agronomiques.

Le plan de ce travail est donc le suivant :

Un premier chapitre est consacré à une étude bibliographique portant sur les polymères biodégradables et en particulier sur le polyglyoxylate de méthyle, homologue méthylé du PGEt, qui nous servira de base pour notre travail.

Le second chapitre sera consacré à l'optimisation des conditions de purification du glyoxylate d'éthyle (GEt), à sa polymérisation et aux propriétés thermiques du PGEt.

La préparation de copolymères à blocs de type ABA fera l'objet du troisième chapitre. La synthèse est basée sur la copolymérisation du styrène, par polymérisation radicalaire par transfert d'atomes (ATRP), amorcée par les extrémités du PGEt après modification à l'aide d'un bromure d'acyle.

Le quatrième chapitre de cette thèse exposera une étude fine de dégradation du PGEt par hydrolyse *in vitro* et proposera un mécanisme.

Enfin, dans le dernier chapitre, un suivi de la biodégradation du PGEt par respirométrie sera présenté, ainsi qu'une étude préliminaire de toxicité sur les plantes, les hématies et des organismes vivants.

CHAPITRE I :

BIBLIOGRAPHIE

Dans ce premier chapitre, nous présenterons tout d'abord quelques généralités sur les polymères biodégradables et plus précisément les plus classiques, c'est-à-dire essentiellement des polyesters du type poly(acide lactique), poly(acide glycolique) et leurs copolymères, poly(ϵ -caprolactone), seront abordées. Ensuite, une autre famille de polymères, synthétisés par des micro-organismes : les poly(hydroxyalcanoates), ainsi que leurs principaux avantages seront brièvement décrits.

Enfin, depuis quelques années, une nouvelle classe de polymères est étudiée au laboratoire: les polyglyoxylates (figure I.1). Jusqu'à présent, seul le dérivé méthylé (polyglyoxylate de méthyle ou PGMe) a été étudié, révélant des propriétés particulièrement intéressantes.

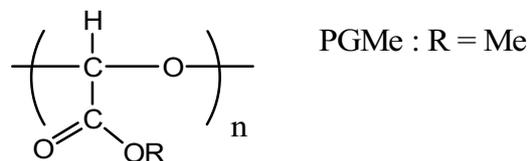


Figure I.1 : Formule générale des polyglyoxylates.

I.1 – LES POLYMERES BIODEGRADABLES

Les polymères biodégradables sont actuellement en plein essor de par leurs nombreuses applications à hautes valeurs ajoutées, telles que les matériaux à usage médical (sutures, broches, prothèses chirurgicales...) ou à usage pharmaceutique (matrice à libération contrôlée de principe actif...). De nombreuses autres utilisations sont envisagées afin de remplacer les polymères à hauts tonnages industriels (polyéthylène, polychlorure de vinyle...) et limiter leurs importants effets néfastes sur l'écologie. Ainsi, de nouvelles applications ont fait leurs apparitions comme les paillis et les bandes d'ensemencement en agriculture ou encore des sacs à lessives utilisés en milieu hospitalier⁽¹⁾.

La définition de la biodégradation, et des polymères biodégradables en général, étant très controversée dans la littérature, il est important de commencer cette partie bibliographique en

posant quelques définitions ainsi que quelques généralités sur les processus qu’englobe la biodégradation.

1.1.1 – Généralités

L’un des premiers polymères dit biodégradable n’était en réalité qu’un matériau biofragmentable : un polyéthylène additivé d’amidon. Il nous a alors semblé nécessaire de définir quelques termes usuels :

- dégradation : perte des propriétés fonctionnelles du matériau,
- biodégradation : capacité intrinsèque d’un matériau à se décomposer sous l’action des micro-organismes pour finalement se convertir en dioxyde de carbone, eau et/ou méthane et une nouvelle biomasse⁽²⁾,
- biofragmentation : fragmentation d’un matériau sous l’action de micro-organismes⁽³⁾,
- bioassimilation : phénomène par lequel la (micro)faune et/ou la (micro)flore, constituants élémentaires de la biomasse, utilise(nt) un matériau comme nutriment⁽²⁾,
- biorésorbabilité : aptitude d’un matériau à se dégrader et se résorber *in vivo*, pouvant être éliminé par les voies naturelles par simple filtration des sous-produits de dégradation ou après leur métabolisation⁽⁴⁾,
- biocompatibilité : capacité d’un matériau à assurer une fonction avec une réponse appropriée et sans effets indésirables sur l’environnement biologique dans lequel il est appelé à fonctionner⁽⁴⁾, c'est-à-dire, capacité d’un matériau à être toléré par l’organisme et qui n’engendre aucune toxicité.

Les processus mis en jeu lors de la biodégradation sont nombreux et complexes et font intervenir deux principales étapes :

- la première correspond à la fragmentation du polymère par rupture des chaînes (par voie chimique, biologique, mécanique, thermique...). Elle permet d'augmenter la surface de contact avec les microorganismes.
- la seconde est la biodégradation proprement dite par attaque du matériau par les microorganismes.

De ce fait, la biodégradation est influencée par de nombreux facteurs dont :

- les paramètres physico-chimiques du milieu (température, teneur en eau, pH...),
- les paramètres microbiologiques du milieu (colonisation microbienne),
- la structure et les propriétés du matériau (degré de polymérisation, hydrophilie, porosité, cristallinité...),
- la synthèse et le procédé de fabrication du matériau (composition, épaisseur, conditions de mise en œuvre...).

Selon Averous⁽⁵⁾, les polymères biodégradables, peuvent être classés dans deux groupes suivant leur origine (naturelle ou synthétiques) et dans plusieurs sous-groupes suivant la méthode de synthèse ou le motif de répétition (figure I.2)

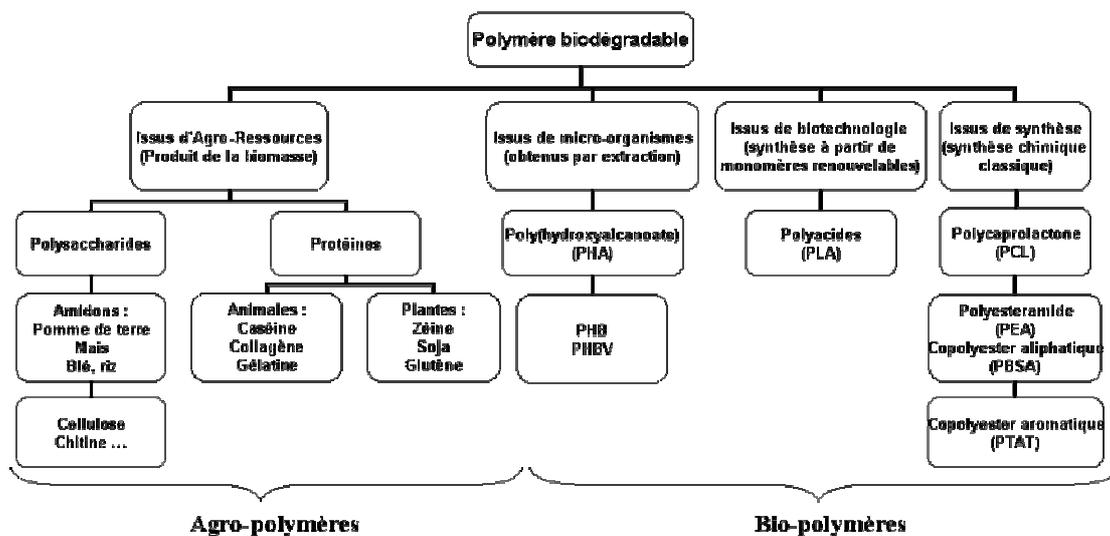


Figure I.2 : Classification des polymères biodégradables⁽⁵⁾.

Les agro-polymères sont issus de la biomasse et de ses dérivés, donc directement de la nature, alors que les bio-polymères sont des polyesters obtenus par fermentation, tels que les polyhydroxyalcanoates (PHA), ou par synthèse de monomères issus de la biomasse, polyacide lactique (PLA), ou issus de ressources fossiles, polycaprolactone (PCL), polyesteramides (PEA).

En règle générale, les produits issus de la nature se dégradent beaucoup plus rapidement que ceux provenant de la pétrochimie, mais ne permettent pas de couvrir l'ensemble des applications. Il est alors apparu indispensable de s'intéresser et de synthétiser de nouveaux polymères (bio)dégradables capables de remplacer à terme la plupart des matériaux actuellement utilisés.

Ainsi, la principale famille de polymères synthétiques biodégradables est constituée de polyesters (PCL, PLA, PGA...). Un facteur important pour leur biodégradation est leur susceptibilité à se dégrader par hydrolyse. La dégradation se produit par coupures des liaisons esters de la chaîne polymère, pour libérer des fragments (oligomères, monomères⁽⁶⁾) plus facilement décomposables par les micro-organismes. Les réactions mises en jeu lors de leur biodégradation sont identiques à celles des polymères naturels, c'est-à-dire qu'elles sont typiquement catalysées par des enzymes et se produisent en milieu aqueux.

1.1.2 – Polymères biodégradables usuels

Les polymères actuellement les plus connus et les plus utilisés en médecine pour leurs propriétés biodégradables, biocompatibles et biorésorbables sont (figure I.3) :

- la poly(ϵ -caprolactone) (PCL) synthétisée par polymérisation par ouverture de cycle de l' ϵ -caprolactone,
- le poly(acide lactique) (PLA) qui possède un centre asymétrique qui lui confère une large gamme de propriétés selon sa tacticité,
- le poly(acide glycolique) (PGA).

Les PLA et PGA ainsi que leurs copolymères font partie de la famille des poly(α -hydroxyacides).

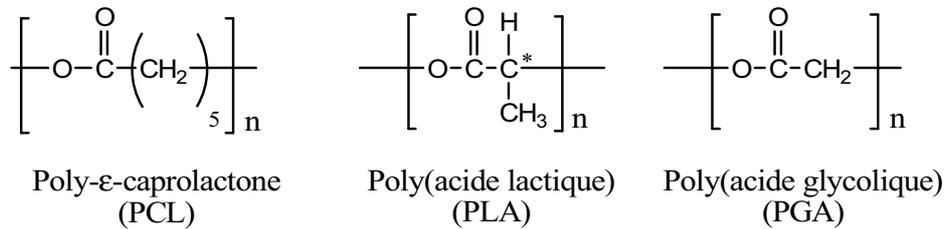


Figure I.3 : Formules de la PCL, du PLA et du PGA.

L'intérêt pour les polyesters aliphatiques simples tel que le PLA, est apparu dans les années 1930 avec les travaux de Carothers⁽⁷⁾. Des applications médicales sont apparues dans les années 1970 en raison de la capacité du corps humain à dégrader ces matériaux.

Dès lors, le plus simple des poly(α -hydroxyacide)s, le PGA a lui aussi été utilisé avec succès pour des sutures chirurgicales dégradables⁽⁸⁾.

Le PGA est habituellement synthétisé par polymérisation par ouverture de cycle d'une dilactone à base d'acide glycolique, le glycolide (figure I.4), à l'aide d'un catalyseur tel qu'un sel d'étain ou de zinc. De la même manière, le PLA est obtenu à partir du lactide. Jusqu'alors, la synthèse directe des PLA par polycondensation de l'acide lactique était limitée car elle ne permettait d'obtenir que des PLA de faibles masses molaires. Cependant, une récente étude⁽⁹⁾ utilisant une catalyse par de l'acide succinique et un sel d'étain permet d'atteindre des masses de $6.10^4 \text{ g.mol}^{-1}$.

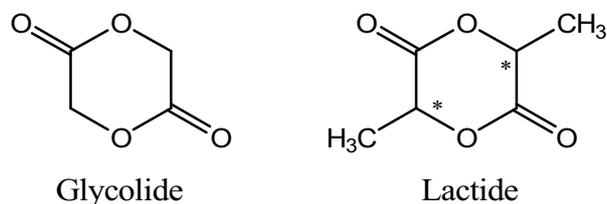


Figure I.4 : Formules du glycolide et du lactide.

Les polyesters biodégradables tels que le PLA, le PGA et leurs copolymères sont largement utilisés en médecine et en chirurgie pour la libération contrôlée de principes actifs, sutures chirurgicales biodégradables et pour des implants de fixation de fractures, principalement pour leur biocompatibilité^(10,11,12,13). En chirurgie orthopédique, les fixations biodégradables telles que les vis ou les chevilles, présentent l'avantage d'être des prothèses temporaires pour sécuriser l'os. L'appareil est ensuite biorésorbé ce qui permet d'éviter une seconde opération chirurgicale.

Selon Lunt⁽¹⁴⁾, les PLA sont des polymères allant d'une structure amorphe vitreuse à des produits (semi- ou) fortement cristallins (tableau I.1). La sélection de la stéréochimie du PLA a un effet majeur sur les propriétés du polymère, sa processabilité et sa biodégradabilité.

Polymer	Melting Point (°C)	Glass-Transition Temp (°C)	Modulus (Gpa) ^a	Degradation Time (months) ^b
PGA	225—230	35—40	7.0	6 to 12
LPLA	173—178	60—65	2.7	>24
DLPLA	Amorphous	55—60	1.9	12 to 16
PCL	58—63	(-65)—(-60)	0.4	>24

a Tensile or flexural modulus.

b Time to complete mass loss. Rate also depends on part geometry.

Tableau I.1 : Propriétés de quelques polymères biodégradables usuels⁽¹⁵⁾.

Un autre polyester aliphatique classiquement utilisé est la poly(ϵ -caprolactone). Elle est obtenue par polymérisation par ouverture de cycle de l' ϵ -caprolactone⁽¹⁶⁾ (figure I.5).

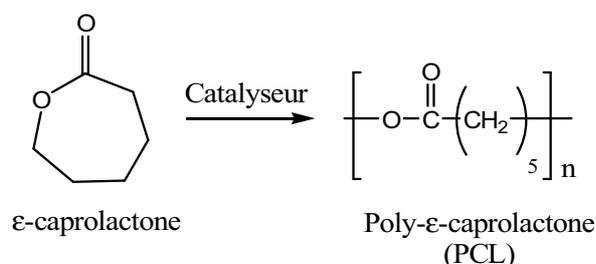


Figure I.5 : Polymérisation par ouverture de cycle de l' ϵ -caprolactone.

Bien que la PCL puisse être dégradée par hydrolyse des liaisons ester, sa vitesse de dégradation est ralentie de par sa forte cristallinité⁽¹⁷⁾. Afin d'améliorer et de contrôler la dégradabilité de la PCL, un grand nombre de copolymères ont été envisagés avec d'autres lactones telles que le glycolide, le lactide et la valérolactone^(18,19,20,21,22,23) ou le polyéthylène glycol⁽²⁴⁾.

Cependant le principal inconvénient de ces polyesters est qu'ils ne sont pas fonctionnalisés ce qui pourrait limiter leurs domaines d'applications. C'est pourquoi, pour palier ce problème de récents travaux portent sur des méthodes de fonctionnalisation de ces polymères biodégradables⁽²⁵⁾. Par exemple, Ponsart et al.⁽²⁶⁾ ont réalisé des greffages en solution sur des polyesters en formant des sites réactionnels anioniques en α de la fonction ester. Ce greffage a été appliqué à des squelettes PLA et PCL en présence d'un grand nombre de composés électrophiles.

Une autre classe de biopolymères, les poly(hydroxyalcanoates), est apparue plus récemment élargissant la gamme des polymères biodégradables^(27,28).

1.1.3 – Polymères issus des micro-organismes

Poly(hydroxyalcanoates) (PHA) est le nom donné à une famille de polyesters produits par des micro-organismes et dont la structure générale est reportée sur la figure I.6.

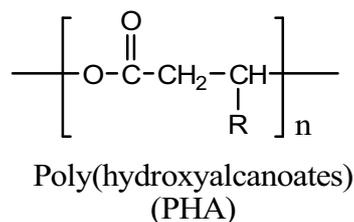


Figure I.6 : Formule générale des poly(hydroxyalcanoates).

Les micro-organismes présents dans la nature sont capables de synthétiser différents types de PHA selon la source de carbone disponible et la réaction biochimique qui s'opère dans la cellule. Il s'agit de la fabrication « *in situ* » de polymère qui s'accumule dans le cytoplasme de certaines bactéries placées en condition de fermentation. Les matières premières

fermentescibles sont principalement les sucres et l'amidon. Ainsi, un grand nombre d'homopolymères et de copolymères de type PHA possédant des propriétés physiques intéressantes ont été identifiés^(29,30). Parmi eux (figure I.7), les plus connus sont le poly(hydroxybutyrate), PHB, le poly(hydroxyvalérate), PHV, et leurs copolymères, le 3-poly(hydroxybutyrate-3-hydroxyvalérate) ou PHBV. La synthèse de ces polymères peut également être réalisée dans la plante grâce à une modification génétique.

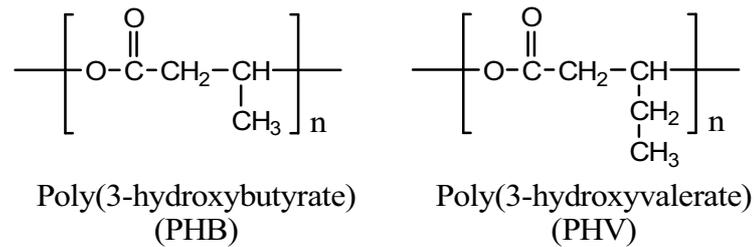


Figure I.7 : Formule du PHB et du PHV.

Des travaux ont conduit à la mise au point de voies de synthèse de PHA à chaînes linéaires ou ramifiées^(31,32), confirmant qu'ils peuvent être fonctionnalisés selon la nature du substrat et de la bactérie qui les produit. Par exemple, à partir de groupements latéraux insaturés, Guérin et al.^(33,34,35) ont synthétisé des PHA porteurs de fonctions acide carboxylique, époxy et alcool. De plus, les propriétés des PHA peuvent être modulées en jouant sur la teneur en chacun des monomères présents dans le copolymère comme le montre le tableau I.2.

Polyester	T_g (°C)	T_m (°C)	Crystallinity	Elongation at break (%)	Reference
P3HB	15	175	50–80	5	Doi 1990
P3HV	-15, 0	110, 112, 118	56		Choi et al. 1999; Schmack et al. 1998
P3HB-co-20mol%3HV	-1	145		50	Sudesh et al. 2000

Tableau I.2 : Propriétés de quelques poly(hydroxyalcanoates)⁽³⁶⁾.

L'un des principaux avantages de cette classe de polymères ou copolymères est sa capacité à être dégradé par voie hydrolytique^(37,38) ainsi que sa bioassimilation. En effet, le

PHB par exemple, se dégrade *in vivo* en acide D-3-hydroxybutyrique qui est un constituant naturel du sang⁽³⁹⁾.

Depuis une quinzaine d'années, notre laboratoire s'est intéressé à une nouvelle classe de polymères pouvant à la fois, être produit à grande échelle (le monomère étant déjà commercialisé) et présenter des intérêts sur le plan médical en raison de son caractère biodégradable.

I.2 – POLYGLYOXYLATE DE METHYLE (PGME)

Monsanto^(40,41) est la première société à avoir polymérisé le glyoxylate de méthyle (GMe). Elle n'a pourtant jamais isolé le polyglyoxylate de méthyle (PGMe) car seul le polyglyoxylate de sodium, obtenu *in situ* par hydrolyse complète de la fonction ester de méthyle par la soude, a été étudié pour son aptitude à renforcer le pouvoir détergent des lessives.

Muller et al.^(42,43) ont été les premiers à étudier les paramètres thermodynamiques, la cinétique et les mécanismes de la polymérisation ionique du GMe.

Au laboratoire, deux thèses successives ont porté sur l'étude de ce polymère. Brachais^(44,45) après avoir optimisé sa synthèse, a étudié la dégradation du PGMe, sa réticulation et sa saponification. Vaugelade⁽⁴⁶⁾ a essentiellement étudié des copolymères PGMe/polysel de sodium, obtenus par saponification partielle du PGMe, et la libération de principes actifs hydrophobes, telle que la progestérone⁽⁴⁷⁾, dispersés dans ces copolymères.

1.2.1 – Synthèse du polyglyoxylate de méthyle

La première difficulté est d'obtenir le glyoxylate de méthyle pur. En effet, le monomère commercialisé est oligomérisé et contient de nombreuses traces de réactifs. Il nécessite d'être distillé avant son utilisation. Cette première étape est cruciale car le GMe se polymérise uniquement par voie ionique et toute impureté peut affecter la masse molaire finale du polymère (figure I.8).

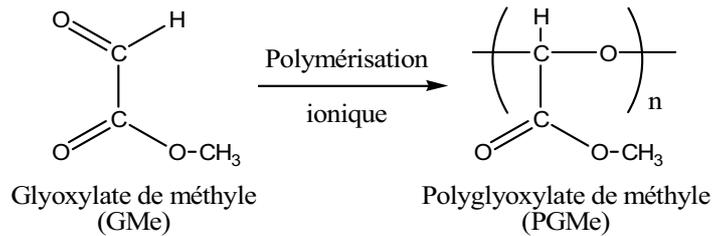


Figure I.8 : Polymérisation du glyoxylate de méthyle.

I.2.1.a – Purification du glyoxylate de méthyle

Du Pont de Nemours⁽⁴⁸⁾ a proposé une purification par décomposition en GMe sous micro-ondes d'un mélange composé du GMe, de ses hémiacétal et acétal de méthyle et de l'hydrate correspondant qui vont se décomposer en GMe.

Un brevet Monsanto⁽⁴⁰⁾ utilise une triple distillation à partir d'un mélange glycolate de méthyle/GMe (rapport > 1,5) pour obtenir un GMe pur à 97%.

Cependant, les brevets Monsanto⁽⁴¹⁾ préconisent le plus souvent la distillation sur pentaoxyde de phosphore (P₂O₅). Le P₂O₅ est ajouté à hauteur de 50% en masse par rapport au GMe. Une seconde distillation est alors effectuée sur tamis moléculaire de 3Å pour obtenir une fraction de GMe pure à 99%.

Brachais⁽⁴⁹⁾ a utilisé cette technique pour des raisons de simplicité de mise en œuvre à l'échelle du laboratoire. Cependant, il a été constaté que la seconde distillation sur tamis ne permettait pas d'obtenir un monomère pur à 99% comme le précisait Monsanto. Aussi, la purification a été réalisée en une seule distillation, en utilisant 15% de P₂O₅ en masse par rapport au GMe. Néanmoins, il a été observé d'une part, la présence d'impuretés acides qui influent notablement sur la polymérisation et d'autre part, que la pureté finale du GMe dépendait fortement du lot utilisé.

Vaugelade⁽⁴⁶⁾ a travaillé à partir de l'hémiacétal méthylique du glyoxylate de méthyle, le GMe étant alors indisponible. La purification a été effectuée par distillation sur bande tournante avec 50% en masse de P₂O₅.

I.2.1.b – Température plafond et choix de la température de polymérisation

Comme dans le cas de nombreux monomères carbonylés (tableau I.3), le GMe possède une température plafond (T_p) basse. Celle-ci impose une température de polymérisation faible. L'existence de cette T_p est responsable de la dépolymérisation spontanée quand la température s'élève. Muller⁽⁵⁰⁾ a déterminé les grandeurs thermodynamiques de la réaction en suivant la disparition (ou apparition) de la fonction aldéhyde par spectrométrie ultra-violet (tableau I.3).

Aldéhydes	GMe ⁽⁵⁰⁾	Acétaldéhyde ⁽⁵¹⁾	Pentanal ⁽⁵¹⁾	3-méthoxypropanal ⁽⁵¹⁾
ΔH° (kJ.mol ⁻¹)	- 30	- 27,6	- 22,6	- 19,7
ΔS° (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	- 100	- 119	- 97	- 82
T_p (K) pour $[M]_0 = 1M$	300	234	231	238

Tableau I.3 : Paramètres thermodynamiques comparées de la polymérisation du GMe et d'autres aldéhydes.

Les valeurs obtenues pour le GMe sont proches de celles de la plupart des aldéhydes. La polymérisation doit être effectuée à une température suffisamment basse pour que le GMe polymérise et que le rendement soit maximal.

Une étude menée par Monsanto⁽⁵²⁾ sur l'effet de la température de polymérisation du GMe a montré peu d'influence sur la longueur de chaîne lorsque cette température est comprise entre -70 et -20°C. Par contre, les masses molaires obtenues sont plus faibles à -20°C et non justifiables par la seule température plafond (tableau I.4).

Température (°C)	\overline{X}_n moyen
- 70	60
- 20	55
20	20

Tableau I.4 : Degré de polymérisation en fonction de la température de polymérisation⁽⁵²⁾.

I.2.1.c – Conditions de polymérisation du GMe

La polymérisation du GMe peut se faire par voie anionique ou cationique. Monsanto^(52,53,54,55,56,57) utilise principalement le dérivé sodé du méthyl malonate de diéthyle et ses homologues, mais aussi l'éthérate de trifluorure de bore, NaH⁽⁵²⁾, une zéolite⁽⁵⁴⁾ ou encore des acides de Lewis et des amines⁽⁵⁸⁾.

Muller⁽⁵⁰⁾ a étudié le mécanisme d'amorçage par la triéthylamine et a démontré qu'il y avait formation d'ion ammonium de manière quantitative, cet amorçage pouvant se faire directement à partir de l'amine ou via une molécule de GMe hydratée ou d'eau.

De plus, d'après les brevets Monsanto^(55,56), les meilleurs solvants de polymérisation pour le GMe sont le dichlorométhane, le tétrahydrofurane et l'acétonitrile, qui permettent d'optimiser la longueur des chaînes et le rendement global de polymérisation (tableau I.5).

Solvant	Constante diélectrique	\overline{X}_n moyen (± 3)	Rendement (%)
Acétonitrile	38	99	88
Acétone	20,7	58	94
Dichlorométhane	9,1	112	73
Tétrahydrofurane	7,9	75	54
Acétate d'éthyle	6	58	70

Tableau I.5 : Longueur de chaîne et rendement de polymérisation du GMe en fonction du solvant étudié^(55,56).

I.2.1.d – Blocage des extrémités hydroxyles du PGMe

Lors de la polymérisation du GMe, des réactions de transfert se produisent dans le milieu réactionnel et entraînent des masses molaires plus faibles que celles attendues. Des PGMe à extrémités hydroxyle sont obtenus probablement en raison de réactions de transfert à des molécules d'eau ou d'hydrate de GMe toujours présentes dans le milieu malgré le procédé de purification. Pour éviter la dépolymérisation du PGMe lors de son utilisation en tant que matériau, un blocage des extrémités est nécessaire. Les agents de terminaison utilisables seront donc des composés actifs vis-à-vis de la fonction hydroxyle (figure I.9)

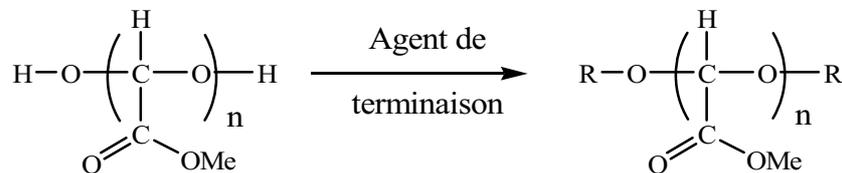
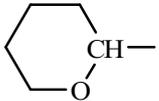


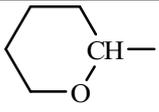
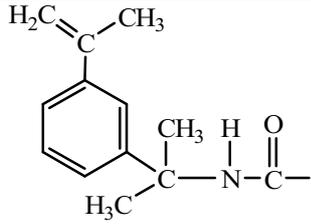
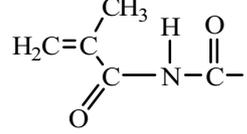
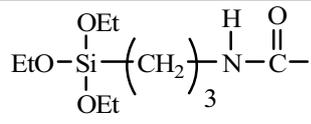
Figure I.9 : Blocage des extrémités du PGMe.

De nombreux agents de terminaison ont été étudiés pour le PGMe. Le tableau I.6 présente ceux répertoriés dans le brevet EP 1004 par Monsanto⁽⁵²⁾ et le tableau I.7, ceux choisis par Muller⁽⁵⁰⁾, Brachais⁽⁴⁹⁾ et Vaugelade⁽⁴⁶⁾ lors de leurs travaux.

Catalyseur	Agent de terminaison	Extrémités R
H ₂ SO ₄ concentré	Isobutylène	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}- \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Ethérate de BF ₃	Orthoformiate de triméthyle	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{O} \\ \\ \text{CH}- \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{O} \end{array}$ et CH ₃ -
Ethérate de BF ₃	Oxyde d'éthylène	$\text{HO} \left(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O} \right)_{1-3}$
CF ₃ COOH	Dihydropyrane	

H ₂ SO ₄ concentré	Ethoxyméthylènemalonate de diéthyle	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C}-\text{OEt} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{CH}- \\ \quad \\ \text{OEt} \end{array}$
K ₂ CO ₃	Sulfate de diméthyle	CH ₃ —
CF ₃ COOH	Ether de vinyle et de dodécyle	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}- \\ \\ \text{O}-(\text{CH}_2)_{11}-\text{CH}_3 \end{array}$

Tableau I.6 : Agents de terminaison utilisés par Monsanto⁽⁵²⁾.

Catalyseur	Agent de terminaison	Extrémités R
HCl	Dihydropyrane	
HCl	Ethyl vinyl éther	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{H}-\text{C}- \\ \\ \text{OEt} \end{array}$
HCl	Anhydride acétique	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{CH}_3-\text{C}- \end{array}$
Dilaurate de dibutylétain (DBTL)	1-méthyl-1-[3-(2-propényl)phényl]éthyl isocyanate (TMI)	
DBTL	2-méthyl-2-propénoyl isocyanate (MAI)	
DBTL	Isocyanatopropyl triéthoxysilane (SiNCO)	

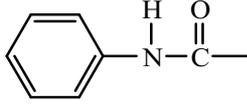
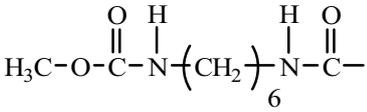
DBTL	Phénylisocyanate (PhNCO)	
DBTL	Hexaméthylène diisocyanate (HMDI)	

Tableau I.7 : Autres agents de terminaison étudiés^(46,49,50).

Ces tableaux ne sont, bien entendu, pas exhaustifs et toute molécule pouvant réagir avec une fonction alcool est susceptible de pouvoir bloquer le PGMe.

D'après les travaux de Brachais⁽⁴⁹⁾, les terminaisons éther par l'EVE ou le DHP ne permettent pas une terminaison complète des chaînes et entraînent une dépolymérisation du PGMe. Il est supposé que cela est dû à l'utilisation d'un acide en tant que catalyseur, qui n'est pas entièrement éliminé lors de la purification du PGMe.

1.2.2 – Saponification contrôlée du PGMe

D'après Vaugelade et al.^(59,60), le PGMe peut subir une saponification contrôlée de la fonction ester en milieu basique dilué sans coupure de chaîne. Cette réaction permet de libérer les fonctions acide carboxylique et d'accéder à des copolymères acide glyoxylique/ glyoxylate de méthyle de taux variables (de 0 à 100% d'acide glyoxylique) (figure I.10). Le PGMe est hydrophobe et organosoluble. On peut noter qu'à partir de 10% de fonctions acide, les copolymères deviennent hydrosolubles.

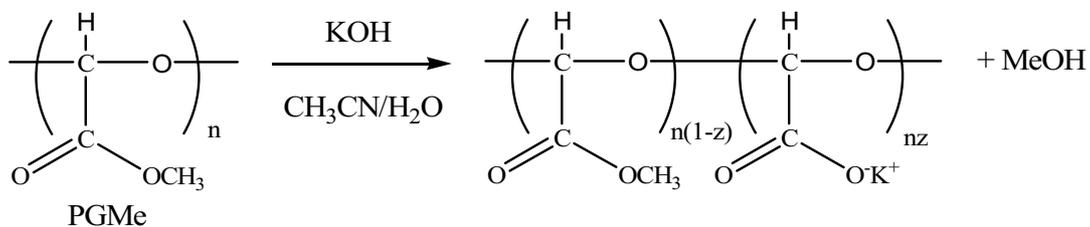


Figure I.10 : Saponification du PGMe.

I.2.3 – Dégradation du PGMe

Les produits ultimes libérés lors de la dégradation du PGMe par hydrolyse sont le méthanol et l'hydrate de l'acide glyoxylique (HAG) (figure I.11). Ce dernier est un métabolite du cycle du glyoxylate, dérivé du cycle de Krebs végétal et procure au PGMe un caractère potentiellement biodégradable.

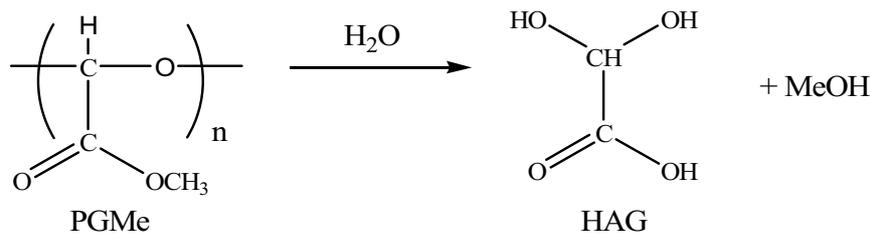


Figure I.11 : Dégradation hydrolytique du PGMe.

La dégradation du PGMe a fait l'objet d'une étude fine par RMN^(45,61). Au cours de l'hydrolyse en milieu aqueux à différents pH, plusieurs produits ont été identifiés et coexistent en milieu confiné (figure I.12).

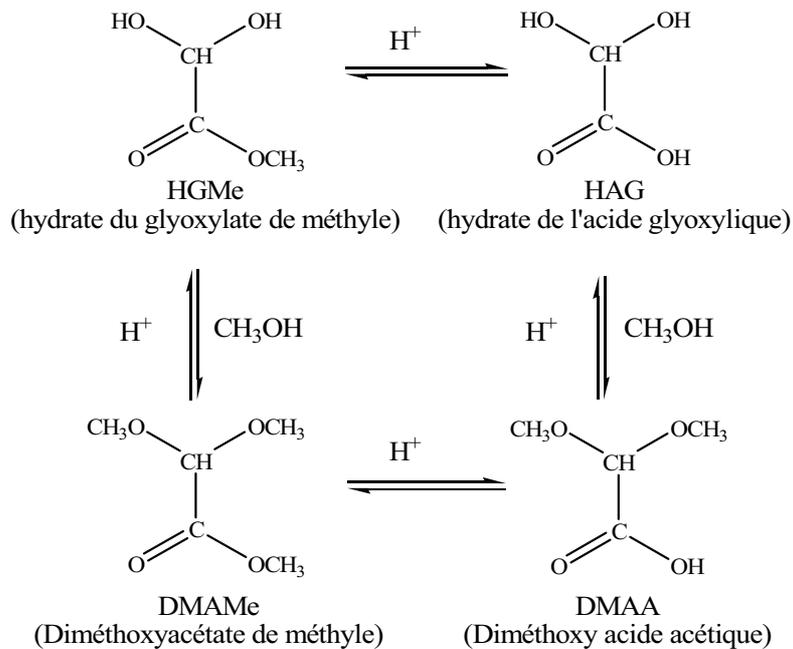


Figure I.12 : Molécules identifiées lors de la dégradation du PGMe^(45,61).

La compagnie Monsanto⁽⁶²⁾, qui ne s'est intéressée de près qu'à la forme saponifiée du PGMe, le polyglyoxylate de sodium, a étudié en détail sa biodégradation.

1.2.4 – Toxicité du PGMe

Une étude préliminaire de toxicité consacrée au PGMe à extrémités HMDI (hexaméthylène diisocyanate) et à son polysel de potassium (PGCOOK) a été réalisée⁽⁴⁹⁾. La toxicité aiguë sur des rats et des souris a ainsi été testée (tableau I.8).

Polymère	Voie d'administration	Souche animale	Dose létale
PGMe	Voie orale Suspension de nanosphères de PGMe dans de l'eau distillée	Souris SWISS	DL50 > 8000 mg/kg
PGMe	Voie intraveineuse Suspension de nanosphères de PGMe dans un sérum physiologique	Rats WISTAR	DL50 > 2000 mg/kg
PGCOOK	Voie orale Solution aqueuse de PGCOOK	Souris SWISS	DL50 > 8000 mg/kg
PGCOOK	Voie intraveineuse Solution de PGCOOK dans un sérum physiologique	Rats WISTAR	100 mg/kg < DL50 < 130 mg/kg
PGCOOK	Voie intrapéritonéale Solution de PGCOOK dans un sérum physiologique	Rats WISTAR	DL50 < 560 mg/kg

DL50 : dose létale 50 : quantité de substance entraînant 50% de mortalité chez la population étudiée.

Tableau I.8 : DL50 en toxicité aiguë pour le PGMe et le PGCOOK⁽⁴⁹⁾.

L'innocuité du PGMe par voies orale et intraveineuse a pu être mise en évidence. De plus, des implants sous-cutanés ont également été testés pendant 14 et 28 jours et ont été résorbés sans dommage pour l'animal, seule une légère inflammation locale a été relevée.

En ce qui concerne le polysel, son innocuité par voie orale est comparable à celle du PGMe. Cependant, la DL50 est largement inférieure en raison de la grande quantité de potassium libérée par la dégradation du polysel.

1.2.5 – Applications pharmaceutiques

L'innocuité du PGMe et du polysel par voie orale et intraveineuse étant établie, Brachais⁽⁶³⁾ et Vaugelade^(47,64) ont poursuivi leurs études par des tests de libération de principes actifs encapsulés dans des matrices de copolymères partiellement saponifiés, visant ainsi des applications pharmaceutiques.

1.2.5.a – Etude de la libération prolongée du métoprolol⁽⁶³⁾

Brachais et al.⁽⁶³⁾ ont étudié la libération contrôlée d'un principe actif hydrophobe de la famille des β -bloquants : le métoprolol, sous sa forme tartrate (figure I.13).

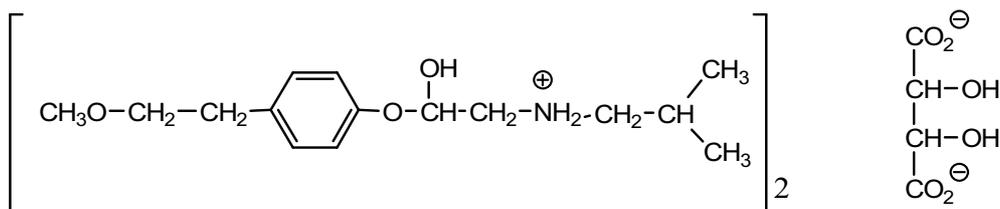


Figure I.13 : Formule du tartrate de métoprolol.

Deux méthodes de mise en formes galéniques ont été testées, des cofondus obtenus par la méthode de fusion/solidification⁽⁶⁵⁾ et des coprécipités obtenus par la méthode de dissolution/évaporation⁽⁶⁶⁾. Les profils de libération de ces deux formes sont comparables et le système à 15 % de métoprolol est équivalent au Seloken 200 LPND du laboratoire Astra testé dans les mêmes conditions.

I.2.5.b – Etude de la libération rapide de la progestérone^(47,64)

Un protocole expérimental a été mis au point pour réaliser des lyophilisats de copolymères acide glyoxylique - glyoxylate de méthyle contenant de la progestérone très finement divisée (figure I.14). Ces lyophilisats permettent une libération et une solubilisation instantanées de la progestérone en milieu aqueux par optimisation de la balance hydrophile/hydrophobe.

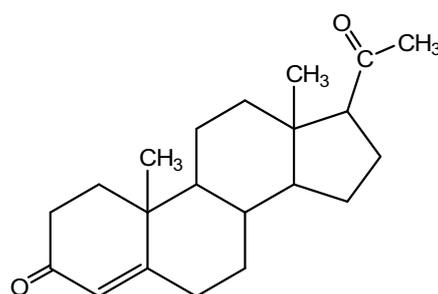


Figure I.14 : Formule de la progestérone.

Cette remarquable biodisponibilité permet d'envisager une utilisation de ce système pour des applications thérapeutiques d'urgence.

I.2.6 – Conclusion

Malgré des résultats particulièrement prometteurs, notamment sur le plan de la toxicité et de la libération contrôlée de principe actif, un reproche permanent était et est toujours avancé quant à l'emploi du PGMe. Cette critique vise la libération rédhibitoire de méthanol lors du procédé de dégradation. Dans ces conditions, les applications médicales et pharmaceutiques ne sont pas envisageables.

Récemment, la mise sur le marché du glyoxylate d'éthyle (GEt) a relancé notre recherche sur ce sujet. En effet, le monomère étant semblable au GMe, des propriétés similaires sont attendues pour le PGEt ainsi qu'une dégradation libérant de l'éthanol qui est, lui, bioassimilable et autorisé par la pharmacopée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 - Institut des Plastiques et de l'Environnement du Canada, *Nouvelles et idées*, www.cpia.ca/epic, **2001**.
- 2 - H. Bewa, ADEME, Biodégradabilité et matériaux polymères biodégradables, **2005**.
- 3 - Y. Medine-Gonzalez, Thèse de 3ème cycle, Institut National Polytechnique de Toulouse, **2006**.
- 4 - M. Vert, S. M. Li, G. Spenlehauer, P. Guerin, *J. Mater. Sci.–Mater. Med.*, 3, 432, **1992**.
- 5 - L. Averous, *J. Macromol. Sci. C. Polym. Rev.*, 3, 231, **2004**.
- 6 - C. G. Pitt, M. Vert, J. Feijen, A. Albertsson, G. Scott, E. Chiellini, *Biodegradable Polymers and Plastics*, Eds., Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, p.7, **1992**.
- 7 - C.H. Holten, *Lactic Acid Properties and Chemistry of Lactic Acid and Derivatives*, Verlag Chemie, Vienna, Germany, **1971**.
- 8 - S. J. Huang, H. F. Mark, N. M. Bikales, C. G. Overberger, G. Menges, J. I. Kroschwitz, *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*, Eds., Wiley & Sons, New York, NY, USA, 2, 220, **1985**.
- 9 - Y. B. Bai, S. F. Wang, Z. Q. Lei, *Acta Polym. Sin.*, 5, 451, **2007**.
- 10 - R. K. Kulkarni, K. Pani, C. Neuman, F. Leonard, *Archives for surgery*, 93, 839, **1966**.
- 11 - M. Vert, P. Christel, F. Chabot, J. Leray, *Macromolecular materials*, D. W. Hasting and P. Ducheyne, Boca Raton, Crc Press: 119-142, **1984**.
- 12 - X. Zhang, U.P. Wyss, D. Pichora, M. F. A. Goosen, *J. Macromol. Sci. Pure Appl. Chem.*, 30, 12, 933, **1993**.
- 13 - J. Eitenmuller, G. Muhr, K. L. Gerlach, T. Schmickal, *J. Bioact. Compat. Polym.*, 4 (3), 215, **1989**.
- 14 - J. Lunt, *Polym. Degrad. Stab.*, **59**, 145, 1998.
- 15 - J. C. Middleton, A. J. Tipton, *Medical Plastics and Biomaterials*, mars, 30, **1998**.
- 16 - R. A. Clendinning, J. E. Potts, W. D. Nieglisch (Union Carbon Corp.), *U.S. Patent* 3, 850, 862, 3, 850, 863 et 3, 844, 984, **1974**.
- 17 - C. G. Pitt, M. M. Gratzl, A. R. Jeffcoat, R. Zweidinger, A. Schindler, *J. Pharm. Sci.*, 68, 1534, **1979**.
- 18 - C. G. Pitt, F. J. Chasaldo, J. M. Hibionada, D. M. Klimas, A. Schinadler, *J. appl. Polym. Sci.*, 28, 3779, **1981**.

-
- 19 - C. G. Pitt, A. Schinadler, R. A. Zweidinger, *Drug delivery systems*, H. L. Gabelnick, ed., DHEW Publication n° (NIH) 77: 1238, 142, **1977**.
 - 20 - X. D. Feng, C. X. Song, W. Y. Chen, *J. Polym. Sci., Polym. Lett. Edn.*, 21, 593, **1983**.
 - 21 - Z. Wang, S. Wang, R. Guidoin, Y. Marois, Z. Zhang, *J. Biomed. Mater. Res.*, 79A, 6, **2006**.
 - 22 - J. Y. Shen, X. Y. Pan, C. H. Lim, M. B. Chan-Park, X. Zhu, R. W. Beuerman, *Biomacromolecules*, 8, 376, **2007**.
 - 23 - D. Cohn, A. H. Salomon, *Biomaterials*, 26, 2297, **2005**.
 - 24 - J.-Z. Bei, J.-M. Li, Z.-F. Wang, J.-C. Le, S.-G. Wang, *Polym. Adv. Technol.*, 8, 693, **1997**.
 - 25 - S. Wang, W. Cui, J. Bei, *Anal. Bioanal. Chem.*, 381, 547, **2005**.
 - 26 - S. Ponsart, J. Coudane, M. Vert, *Biomacromolecules*, 1, 275, **2000**.
 - 27 - D. J. Stigers, G. N. Tew, *Biomacromolecules*, 4, 2, 193, **2003**.
 - 28 - N. Kovesa, P. Kurcok, G. Adamus, K. Troev, M. Kowalczyk, *Macromol. Symp.*, 253, 24, **2007**.
 - 29 - R.H. Findlay, D.C. White, *Appl. Environ. Microbiol.*, 45, 71, **1983**.
 - 30 - L.L. Wallen, W.K. Rohwedder, *Environ. Sci. Technol.*, 8, 576, **1974**.
 - 31 - C. Zhijiang, W. Zhihong, *J. Mater. Sci.*, 42, 5886, **2007**.
 - 32 - D. Neugebauer, J. Rydz, I. Goebel, P. Dacko, M. Kowalezuk, *Macromolecules*, 40, 1767, **2007**.
 - 33 - E. Renard, P.-Y. Tanguy, E. Samain, P. Guerin, *Macromol. Symp.*, 197, 11, **2003**.
 - 34 - M.-M. Bear, M.-A. Leboucher-Durand, V. Langlois, R. W. Lenz, S. Goodwin, P. Guerin, *React. Funct. Polym.*, 34, 65, **1997**.
 - 35 - E. Renard, A. Poux, L. Timbart, V. Langlois, P. Guerin, *Biomacromolecules*, 6, 891, **2005**.
 - 36 - B. Hazer, A. Steinbuchel, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 74, 1, **2007**.
 - 37 - X. J. Loh, S. H. Goh, J. Li, *Biomaterials*, 28, 4113, **2007**.
 - 38 - E. Renard, M. Walls, P. Guerin, V. Langlois, *Polym. Degrad. Stab.*, 85, 779, **2004**.
 - 39 - P. A. Holmes, *Phys. Technol.*, 16, 32, **1985**.
 - 40 - D.R. Dyroff, Y. Chou, D.R. Cova, Monsanto Company, U.S. Patent, 4 502 923, **1985**.
 - 41 - D.R. Dyroff, V. D. Papanu, Monsanto Company, U.S. Patent, 4 225 685, **1980**.
 - 42 - J.-P. Vairon, E. Muller, C. Bunel, *Makromol. Chem., Macromol. Symp.*, 85, 307, **1994**.

-
- 43 - J.-P. Vairon, E. Muller, C. Bunel, *J. Macromol. Sci., Macromol. Report.*, A31, 6 et 7, 821, **1994**.
- 44 - C. H. Brachais, J. Huguet, C. Bunel, L. Brachais, *Polymer*, 39 (4), 883, **1997**.
- 45 - C.-H. Brachais, J. Huguet, C. Bunel, L. Brachais, *Polym. Degrad. Stab.*, 64, 243, **1999**.
- 46 - C. Vaugelade, Thèse de 3^{ème} cycle, Université de Rouen, **1999**.
- 47 - C. Vaugelade, A.-C. Rohmer, F. Burel, J. Belleney, R. Duclos, C. Bunel, *Int. J. Pharm.*, 229, 67, **2001**.
- 48 - N. E. Drysdale, F. W. Mader, R.E. Svadlenak, Du Pont de Nemours Company, U.S. Patent, 4 952 291, **1990**.
- 49 - C.-H. Brachais, Thèse de 3^{ème} cycle, Université de Rouen, **1995**.
- 50 - E. Muller, Thèse de 3^{ème} cycle, Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, **1992**.
- 51 - P. Kubisa, *Polymer*, 39 (4), 883, **1997**.
- 52 - Monsanto Company, EP 1978-300298, U.S. Patent, 4 144 226, **1978**.
- 53 - Monsanto Company, U.S. Patent, 4 226 959, **1980**.
- 54 - Monsanto Company, U.S. Patent, 4 224 420, **1980**.
- 55 - Monsanto Company, U.S. Patent, 4 226 960, **1980**.
- 56 - Monsanto Company, U.S. Patent, 4 233 422, **1980**.
- 57 - Monsanto Company, U.S. Patent, 4 302 564, **1981**.
- 58 - K. Hashimoto, H. Sumitomo, S. Oshawa, *J. Polym. Sci.*, 16, 435, **1978**.
- 59 - K. Glinel, C. Vaugelade, G. Muller, C. Bunel, *International Journal of Polymer Analysis and characterization*, 6, 89, **2000**.
- 60 - C. Vaugelade, C.-H. Brachais, K. Glinel, J. Belleney, C. Bunel, « Matériaux biodégradables et environnement », Editions Cemagref, 254, **2000**.
- 61 - C. H. Brachais, J. Huguet, C. Bunel, L. Brachais, *Polymer*, 39 (4), 883, **1998**.
- 62 - W. E. Gledhill, V. W. Saeger, *J. Indus. Microbio.*, 97, **1987**.
- 63 - C. H. Brachais, R. Duclos, C. Vaugelade, J. Huguet, M. L. Capelle-Hue, C. Bunel, *Int. J. Pharm.*, 169, 23, **1998**.
- 64 - C. Vaugelade, A.-C. Rohmer, J. Belleney, F. Burel, R. Duclos, C. Bunel, « New trends in polymer for oral and parenteral administration », Editions de Santé, Paris, 317, **2001**.
- 65 - K. Sekiguchi, N. Obi, Y. Ueda, *Chem. Pharm. Bull.*, 9, 11, 866, **1961**.
- 66 - T. Tachibana, A. Nakamura, *Z. Kolloid, Polym.*, 203, 2, 130, **1965**.

CHAPITRE II :

SYNTHESE ET CARACTERISATIONS DU POLYGLYOXYLATE D'ETHYLE

Une partie importante de ce travail de thèse concerne la synthèse du polyglyoxylate d'éthyle. En effet, aucun article sur le sujet n'ayant été publié, il nous a fallu mettre au point les conditions de purification, puis celles de polymérisation (température, amorceur, solvant).

Le glyoxylate d'éthyle (GEt) est constitué d'une fonction aldéhyde et d'une fonction ester adjacentes (figure II.1). Il est principalement utilisé en synthèse organique comme réactif dans les réactions de Friedel et Crafts^(1,2,3) et les ène-réactions^(4,5,6).

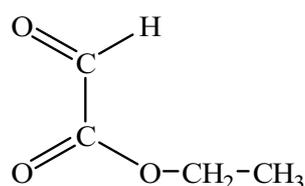


Figure II.1 : Structure chimique du glyoxylate d'éthyle (GEt).

Le GEt est synthétisé industriellement par réaction entre l'acide glyoxylique et l'éthanol. La société Clariant utilise l'acétaldéhyde comme produit de départ, qu'elle oxyde par l'acide nitrique afin d'obtenir le glyoxal. Une seconde oxydation permet de synthétiser l'acide glyoxylique qui réagit alors par estérification avec l'éthanol pour conduire au glyoxylate d'éthyle (figure II.2).

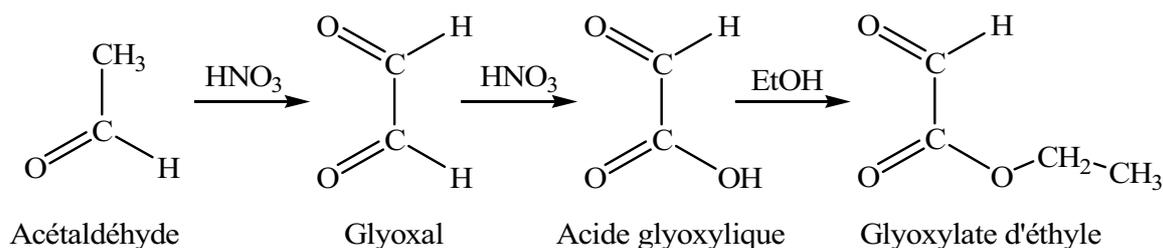


Figure II.2 : Schéma de la synthèse industrielle (société Clariant).

Les fiches techniques fournies pour les différents lots de GEt (à 50% dans le toluène) utilisés dans ce travail montrent une fluctuation des spécificités du produit de départ (tableau II.1).

On note la présence de traces d'acide glyoxylique et d'éthanol n'ayant pas réagi lors de la synthèse du GEt, mais également d'autres impuretés non identifiées qui sont des sous-produits de réaction.

Par exemple, l'oxydation du glyoxal en acide glyoxylique peut entraîner la synthèse d'acide oxalique par sur-oxydation. L'estérification se fait alors sur les deux fonctions carboxylique et conduit à la synthèse du di-ester (figure II.3).

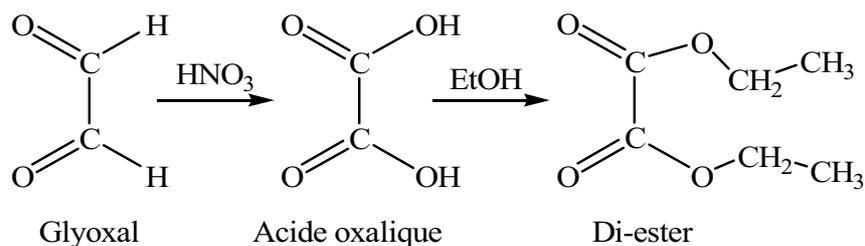


Figure II.3 : Sous-produits de la réaction d'oxydation du glyoxal.

	Spécifications Clariant	Lot P43021	Lot P52501	Lot P60201	Lot D53433
Titre en aldéhyde par potentiométrie*	≥ 48 %	50,7 %	49,9 %	52 %	51,6 %
Acide glyoxylique	≤ 1,0 %	0,3 %	0,2 %	0,3 %	0,4 %
Ethanol (CPG)	≤ 2,0 %	0,7 %	1,3 %	NC	NC
Eau (Karl Fisher)	≤ 1,0 %	0,2 %	0,7 %	NC	NC
Autres impuretés (CPG)	≤ 1,0 %	0,0 %	0,1 %	NC	NC

- CPG : Chromatographie Phase Gazeuse

- NC : non communiqué

- * : pourcentage en masse en glyoxylate d'éthyle

Tableau II.1 : Données techniques des lots de GEt fournis pas la société Clariant.

Bien que le pourcentage en GEt soit celui attendu (50%), l'analyse RMN ^1H montre que le GEt s'oligomérisse spontanément à température ambiante (PGEt) comme le montre le spectre d'un lot brut de glyoxylate d'éthyle (figure II.4).

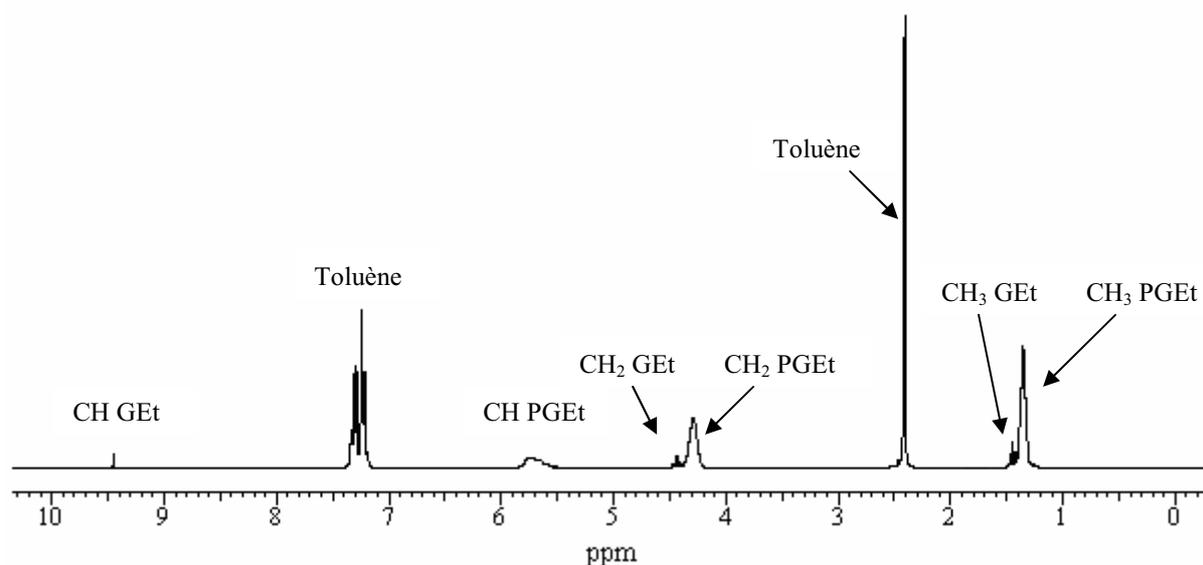


Figure II.4 : Spectre RMN ^1H du lot P43021 de GEt fourni par la société Clariant.

La purification du GEt consistera donc à éliminer toute trace de toluène et autres impuretés présentes dans le produit brut, et à régénérer les fonctions aldéhyde du GEt par dépolymérisation.

II.1 – PURIFICATION DU GLYOXYLATE D'ETHYLE

Dans la littérature, le GEt est utilisé après simple évaporation du solvant présent dans le mélange ou tel quel pour des réactions de type Friedel et Crafts. Dans notre cas, la polymérisation (anionique) du GEt nécessite un monomère parfaitement pur. C'est pourquoi nous nous sommes inspirés des travaux portant sur le polyglyoxylate de méthyle pour choisir la méthode de purification la plus efficace pour le GEt.

II.1.1 – Purification du glyoxylate d'éthyle (GEt)

La méthode de purification du glyoxylate de méthyle (GMe) qui apparaît comme la plus performante est une distillation sur pentaoxyde de phosphore (P_2O_5). Cependant, les techniques variant selon les auteurs (cf. partie bibliographique), une étude plus approfondie a été menée pour déterminer les conditions optimales de distillation du GEt.

Tout d'abord, une distillation sur bande tournante a été envisagée car présentée comme la meilleure purification selon Vaugelade et al.⁽⁷⁾. Cependant, le rapport temps/pureté est un inconvénient de cette technique particulièrement longue.

Nous avons également testé une double distillation, comme le préconise Monsanto⁽⁸⁾, d'abord en présence de P_2O_5 , puis sur tamis moléculaire. Le GEt polymérise alors dans la colonne lors de la seconde distillation au simple contact du verre, vraisemblablement en raison de son acidité de surface.

Nous avons finalement opté pour une distillation unique sur P_2O_5 et sous vide contrôlé.

II.1.2 – Choix de la quantité de P_2O_5

Là encore, les avis divergent. En effet, les brevets Monsanto préconisent l'utilisation de pentaoxyde de phosphore à hauteur de 50% en masse par rapport au GMe, alors que Brachais⁽⁹⁾ n'en utilise que 15%.

En théorie, 1 mole de P_2O_5 réagit avec 3 moles d'eau pour former de l'acide phosphorique : $P_2O_5 + 3 H_2O \rightleftharpoons 2 H_3PO_4$.

La quantité d'eau maximale des lots de GEt fournis par la Société Clariant étant de 1%, il est évident que le P_2O_5 ne sert pas qu'à la déshydratation. Nous avons étudié l'effet de la quantité de P_2O_5 sur la pureté du GEt et donc sur les masses molaires des PGEt obtenues. Ainsi, des tests ont été effectués à 25, 33 et 50% de P_2O_5 en masse par rapport au GEt (tableau II.2).

Pour la polymérisation du GEt, $[GEt] = 9,9 \text{ M}$ (annexe 1), nous avons choisi les conditions expérimentales les plus utilisées au laboratoire pour le GMe, à savoir :

- amorceur : triéthylamine, $[NEt_3] = 3,6 \cdot 10^{-3} \text{ M}$,
- solvant : dichlorométhane,
- température : -20°C .

Le phényl isocyanate a été choisi comme agent de terminaison afin de bloquer les extrémités. Pour limiter les erreurs de précision lors de l'ajout de l'amorceur, nous avons décidé de préparer des solutions $\text{NEt}_3/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ de concentration connue ($2\mu\text{L}/\text{mL}$) qui sont alors stockées dans des piluliers sertis et placés au congélateur pour une meilleure stabilité dans le temps.

Quantité de P_2O_5	Rendement de distillation	\overline{X}_n moyen
25 %	62 %	41
33 %	56 %	50
50 %	39 %	170

Tableau II.2 : Rendement de distillation et degré de polymérisation du PGEt en fonction du pourcentage de P_2O_5 ajouté au mélange brut.

Les résultats obtenus dans le tableau II.2 montrent que plus la quantité de P_2O_5 est importante, plus le rendement est faible mais plus le degré de polymérisation est élevé, ce qui indique que le GEt contient vraisemblablement moins d'impuretés susceptibles de perturber la polymérisation (terminaison, transfert). Par la suite, nous avons choisi de travailler avec 50% de pentaoxyde de phosphore. De plus, nous avons pu noter qu'il était nécessaire d'activer le P_2O_5 en chauffant le mélange réactionnel à 100°C pendant 20 minutes à pression atmosphérique avant de procéder à la distillation du mélange. Enfin, il a été observé que tous les lots ne se comportaient pas de la même manière lors de cette première étape même si un liquide jaune (GEt) est toujours obtenu.

La quantité d'impuretés présente dans le distillat est difficile à déterminer car le monomère se polymérise spontanément au contact du verre (notamment dans le tube RMN) et toutes les analyses (chromatographie, RMN) ne présentent que les résultats d'un mélange monomère/oligomère.

II.2 – ÉTUDE DE LA POLYMERISATION DU GLYOXYLATE D'ETHYLE

II.2.1 – Détermination de la température plafond

L'étape de propagation d'une polymérisation est une réaction équilibrée. Dans le cas de composés vinyliques, par exemple, cet équilibre est très déplacé vers la polymérisation et la réaction est considérée comme irréversible car ΔG_p est négatif sur une très large plage de température (équation 1).

$$\Delta G_p = \Delta H_p - T\Delta S_p < 0 \quad (\text{équation 1})$$

Dans le cas du glyoxylate d'éthyle, comme dans celui de son homologue méthylé, cet équilibre polymérisation/dépolymérisation est clairement observé.

En théorie, il existe toujours une température plafond (T_p) dans les polymérisations pour lesquelles l'entropie (ΔS_p) et l'enthalpie (ΔH_p) sont négatives, ce qui est la majorité des cas. T_p est définie comme la température à laquelle aucune polymérisation n'a lieu ($\Delta G_p = 0$) c'est-à-dire lorsqu'il n'y a que du monomère dans le milieu réactionnel.

A l'équilibre, c'est-à-dire quand la vitesse de propagation est égale à celle de dépropagation :

$$\Delta G_p = \Delta G_p^\circ - RT\ln[M]_e = 0 \quad (\text{équation 2})$$

Avec $[M]_e$ la concentration en monomère à l'équilibre à T

D'où :

$$T = \frac{\Delta H_p^\circ}{\Delta S_p^\circ + R\ln[M]_e} \quad (\text{équation 3})$$

La température plafond peut alors être exprimée selon :

$$T_p = \frac{\Delta H_p^\circ}{\Delta S_p^\circ + R\ln[M]_0} \quad (\text{équation 4})$$

où $[M]_0$ est la concentration initiale en monomère.

L'équilibre polymérisation/dépolymérisation du PGEt, a été suivi par RMN ^1H en fonction de la température. Pour cela, trois essais ont été effectués à trois concentrations en monomère différentes (GEt fraîchement distillé) : 8M, 4M et 2M dans le CDCl_3 (avec NEt_3 comme amorceur). Pour faciliter la mise en place de l'équilibre monomère/polymère, l'amorceur est ajouté à hauteur de 0,5 % molaire par rapport au GEt.

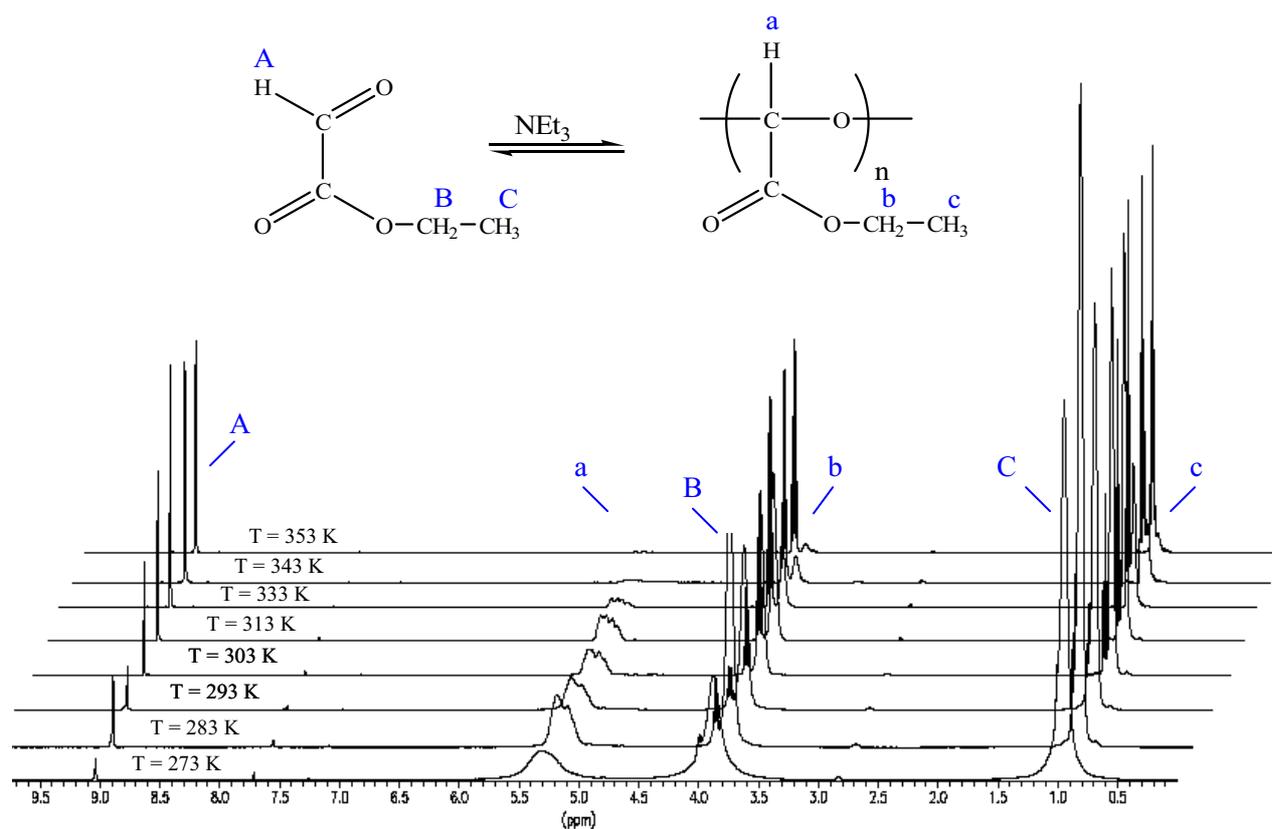


Figure II.5 : Evolution du spectre RMN ^1H du PGEt en fonction de la température dans CDCl_3 pour $[M]_0 = 8\text{M}$.

La RMN ^1H permet de bien différencier les signaux du CH du monomère (A) de ceux du polymère (a) (figure II.5). La conversion en polymère a été déterminée en utilisant l'équation 5.

$$\text{Conversion}(\%) = \frac{I_A}{I_A + I_a} 100 \quad (\text{équation 5})$$

La figure II.6 présente l'évolution de la conversion aux différentes concentrations en fonction de la température entre 253 et 323 K, soit en deçà de la température d'ébullition du CDCl_3 .

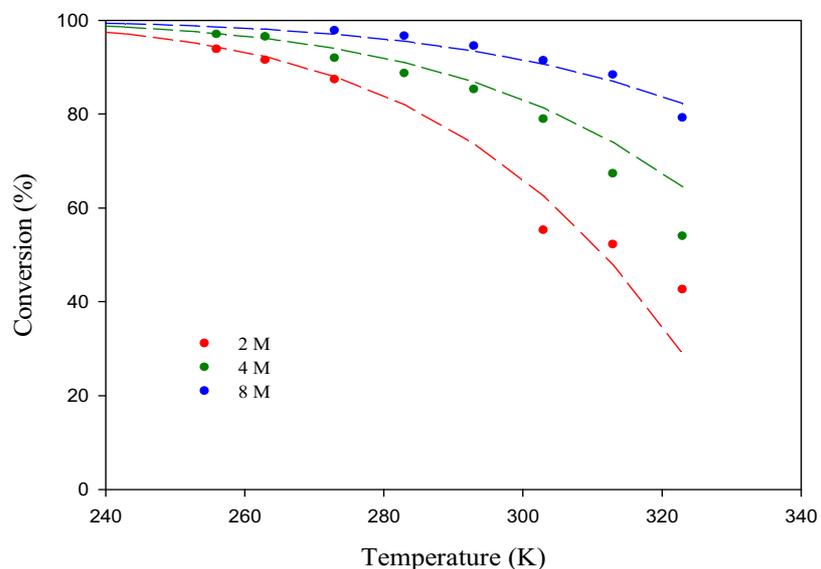


Figure II.6 : Conversion en fonction de la température (K) pour des concentrations en GEt initiales de 2 (●), 4 (●) et 8 (●) mol/L.

A partir de l'équation 3 on peut écrire :

$$\ln[M]_e = \frac{\Delta H_p^\circ}{R} \frac{1}{T} - \frac{\Delta S_p^\circ}{R}$$

La courbe $\ln[M]_e$ en fonction de $1/T$ (figure II.7) permet alors de calculer les grandeurs thermodynamiques (tableau II.3).

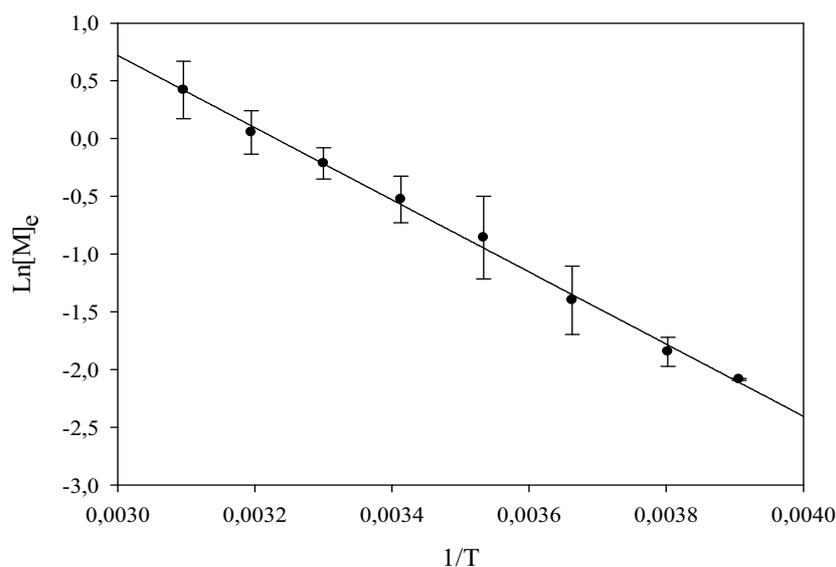


Figure II.7 : Evolution de $\ln[M]_e$ versus $\frac{1}{T}$ (moyenne des résultats obtenus pour les différentes concentrations en GEt de 2, 4 et 8M).

	GEt	GMe ⁽¹⁰⁾
ΔH° (kJ.mol ⁻¹)	-28 ± 3	- 30
ΔS° (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	-98 ± 7	- 100
Tp (K) pour $[M]_0 = 1M$	310 ± 4	300

Tableau II.3 : Paramètres thermodynamiques comparées du GEt et du GMe.

Les valeurs obtenues sont proches de celles du glyoxylate de méthyle et justifient les conditions expérimentales choisies pour la polymérisation.

II.2.2 – Etude des conditions de polymérisation du GEt

La polymérisation du GEt n'est pas décrite dans la littérature. Nous nous sommes donc inspirés des précédents travaux ayant permis au laboratoire d'acquérir un savoir-faire important dans la polymérisation du GMe.

Sauf indication contraire, la polymérisation s'effectue à -20°C , immédiatement après la purification du GEt. Après ajout de l'amorceur, le mélange jaune devient incolore et très visqueux. Les propriétés physico-chimiques des polymères sont ensuite évaluées après blocage des extrémités par le phényl isocyanate et précipitation dans l'éther de pétrole.

II.2.2.a – Choix de l'amorceur de polymérisation

L'amorçage de la polymérisation des aldéhydes peut se faire par voie anionique ou cationique. Pour notre part, nous avons testés trois amorceurs anioniques : la triéthylamine, le butyl lithium et le terbutoxy lithium (tableau II.4). Nous avons opéré avec une concentration en GEt de 9,9 M pour atteindre un \overline{Xn} théorique de 2750 ($\overline{Xn}_{th} = \frac{[GEt]_0}{[A]_0}$).

La polymérisation avec les dérivés lithiés est réalisée dans le cyclohexane ou le dioxane car le dichlorométhane ne les solubilise pas. La polymérisation est quasi instantanée, même à -20°C et le polymère formé est difficilement soluble dans les solvants habituels. Les degrés de polymérisation (\overline{Xn}) sont déterminés par chromatographie d'exclusion stérique (en équivalent polystyrène).

Amorceur (A)	Solvant	\overline{Xn} moyen	Rendement (%)
Triéthylamine	Dichlorométhane	170	52
Butyl lithium	Dioxane	145	55
Terbutoxy lithium	Cyclohexane	80	47

Tableau II.4 : Degré et rendement de polymérisation en fonction de l'amorceur utilisé

$$\text{(pour un } \overline{Xn}_{th} = \frac{[GEt]_0}{[A]_0} = 2750 \text{)}.$$

On observe tout d'abord que le rendement en polymère terminé et précipité est largement inférieur à celui que l'on aurait pu attendre. En effet, d'après la figure II.6 et pour une concentration en GEt de 9,9M, la conversion devrait être supérieure à 95%. Ceci est dû, d'une

part à une dépolymérisation possible lors de la remontée à température ambiante pendant la réaction de terminaison par le phényl isocyanate, et d'autre part à une solubilisation des faibles masses molaires dans l'éther de pétrole lors de la précipitation.

De plus, les degrés de polymérisation sont très inférieurs au \overline{X}_n théorique (= 2750). Cette observation est imputable aux réactions de transfert que l'on attribue à la présence d'hydrate de GEt due aux traces d'eau.

Comme pour le GMe, les meilleures conditions expérimentales correspondent au couple $\text{NEt}_3/\text{CH}_2\text{Cl}_2$.

II.2.2.b – Influence de la concentration en amorceur

Nous avons évalué l'influence de la quantité de triéthylamine sur les masses molaires obtenues en gardant la concentration en GEt constante et égale à 9,9 M, dans le dichlorométhane (figure II.8). Alors qu'en théorie, on s'attend à une augmentation de la masse molaire lorsque la concentration en amorceur diminue, dans le cas du GEt, aucun effet n'a été observé avec cependant une dispersion significative des valeurs. Les masses molaires expérimentales varient entre 1500 et 8000 quelle que soit la concentration en NEt_3 , confirmant que le contrôle est régi par les réactions de transfert.

En faisant l'hypothèse que la triéthylamine participe de façon quantitative à l'amorçage, et que toutes les molécules d'eau présentes dans le milieu participent aux réactions de transfert, sous forme d'hydrate de GEt ou d'hydroxyle en extrémités de chaînes après transfert, \overline{M}_n peut être calculée simplement, en dehors de toute considération cinétique, par :

$$\overline{M}_n = \frac{102 [\text{GEt}]}{[\text{NEt}_3] + [\text{H}_2\text{O}]}$$

Nous avons reporté sur la figure II.8, d'une part l'évolution théorique de la masse molaire suivant $\overline{M}_n = \frac{[\text{GEt}]_0}{[\text{NEt}_3]_0} 102$ et d'autre part, les variations de \overline{M}_n pour deux concentrations en eau, à savoir 0,01% et 0,002% en masse. On constate que les points expérimentaux se situent entre ces deux dernières courbes.

Compte tenu de la méthode de purification du GEt, ce résultat montre donc principalement que la concentration en agents de transfert est difficilement contrôlable et doit être généralement supérieure à celle en amorceur. La concentration en NEt_3 ne contrôle la réaction que lorsqu'elle est suffisamment grande.

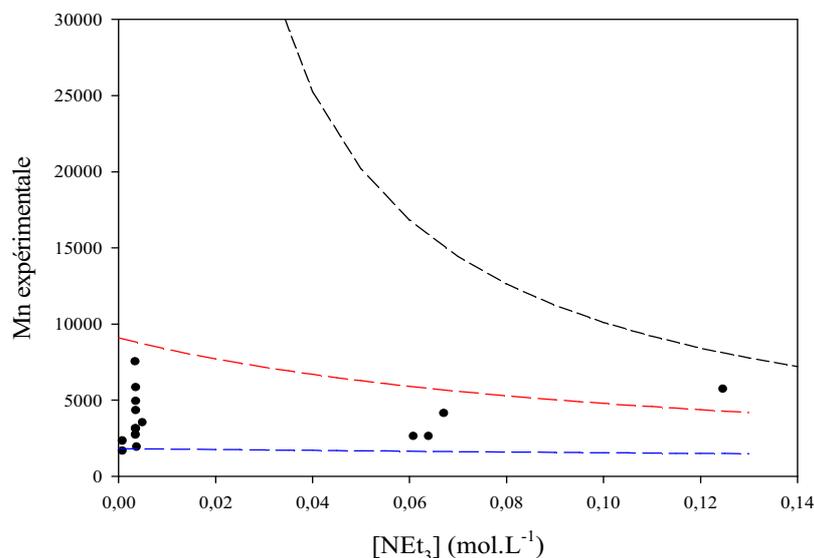


Figure II.8 : Evolution des masses molaires expérimentales par RMN ^1H de PGEt terminés par le phényl isocyanate, en fonction de la concentration en triéthylamine introduite et de la quantité d'eau présente dans le milieu : 0% (—), 0,002% (—) et 0,01% (—) en masse.

II.2.2.c – Choix du solvant de polymérisation

D'après les brevets Monsanto, les meilleurs solvants en termes de longueur de chaînes et de rendement global de polymérisation, pour le GMe, sont le dichlorométhane, le tétrahydrofurane et l'acétonitrile.

Pour les mêmes raisons, nous avons étudié l'influence de différents solvants sur la polymérisation du GEt. Le choix s'est porté sur des solvants de constantes diélectriques variables.

Deux séries de trois polymérisations ont été réalisées en utilisant, pour chaque série, un même GEt distillé réparti en trois fractions. L'objectif visé est de mettre en évidence l'effet du solvant en limitant celui des agents de transfert, dont la concentration peut varier à chaque distillation.

Dans chaque série, le dichlorométhane a été conservé à titre de solvant de référence. Les résultats sont reportés dans le tableau II.5.

Solvant	Constante diélectrique	$\overline{X_n}$ moyen	Rendement (%)
Acétonitrile	38	48	39
Dichlorométhane	9,1	50	23
Acétate d'éthyle	6	39	34
Acétone	20,7	99	74
Dichlorométhane	9,1	205	71
Tétrahydrofurane	7,9	79	69

Tableau II.5 : Longueur de chaîne et rendement en polymère précipité en fonction du solvant (PGEt terminé par le phényl isocyanate, 0,5 μ L de NEt_3 /g de GEt).

Quel que soit le solvant, les rendements en polymère précipité sont équivalents dans une même série. Les variations de ces rendements entre les deux séries pouvant être justifiées par les mêmes arguments que ceux présentés au chapitre II.2.2.a.

En termes de degré de polymérisation, le dichlorométhane donne les meilleurs résultats, vraisemblablement en défavorisant les réactions de transfert par rapport à la réaction de propagation. Ce résultat pourrait s'interpréter comme le meilleur compromis entre une solubilité beaucoup plus faible de l'agent de transfert (eau ou hydrate) dans le dichlorométhane par rapport à l'acétonitrile, l'acétone et le THF d'une part, et par une constante diélectrique plus élevée que celle de l'acétate d'éthyle d'autre part.

Le dichlorométhane a ainsi été conservé pour les polymérisations suivantes.

II.3 – ETUDE DU BLOCAGE DES EXTREMITES DU POLYGLYOXYLATE D'ETHYLE PAR DES FONCTIONS ISOCYANATE

Nous venons d'observer que, comme lors de la polymérisation du GMe, de nombreuses réactions de transfert se produisaient dans le milieu réactionnel. D'une part, cela entraîne des masses molaires beaucoup plus faibles que celles attendues et, d'autre part, le transfert se faisant à des molécules hydratées, on obtient des extrémités hydroxyles.

De plus, en raison de la faible température plafond, les extrémités de chaînes générées dans le milieu doivent être bloquées afin que le PGEt ne se dépolymérise pas lors de la remontée en température.

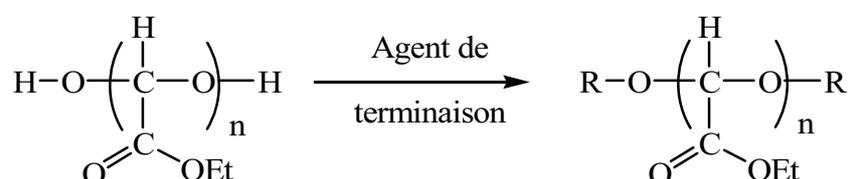


Figure II.9 : Terminaison du PGEt.

A partir des grandeurs thermodynamiques, nous pouvons déterminer une température maximale, selon la concentration initiale en GEt, pour laquelle le phénomène de dépolymérisation sera limité (figure II.10).

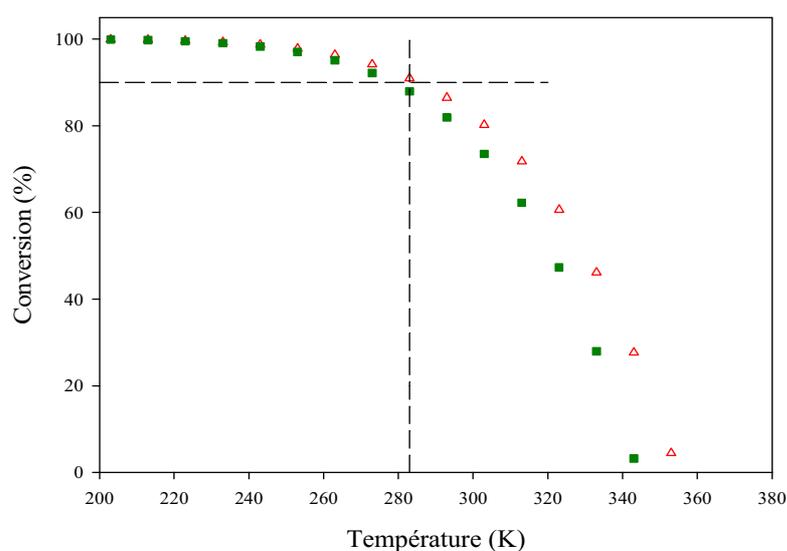


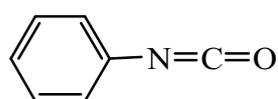
Figure II.10 : Conversion en fonction de la température (K) pour des concentrations en GEt de 9,9 M (Δ), 7,4 M (■).

Les valeurs de concentration choisies sur la figure II.10 correspondent à celles que nous avons généralement utilisées lors de nos essais, c'est-à-dire 9,9 M pour la concentration en GEt pour la polymérisation et 7,4 M pour la modification des extrémités après ajout des réactifs.

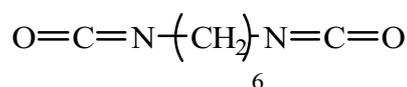
Dans ces conditions, le blocage des extrémités hydroxyle doit se faire à une température inférieure à 283 K pour conserver un rendement supérieur ou égal à 90%. Cependant, nous nous trouvons devant un problème difficile à résoudre quant à la quantité d'isocyanate à utiliser. En effet, la taille des chaînes, avant terminaison, ne peut pas être déterminée avec les techniques usuelles (SEC, RMN) car la dilution dans le solvant d'analyse entraîne la dépolymérisation rapide de la chaîne. Nous avons donc décidé de choisir arbitrairement une quantité fixe en agent de terminaison correspondant à une masse molaire du PGEt de 3000 g.mol⁻¹, l'excès de réactif, s'il existe, étant éliminé lors de la purification du PGEt par précipitation.

II.3.1 – Terminaison uréthane avec des isocyanates

De nombreuses réactions de terminaison sont catalysées par les acides. L'utilisation d'isocyanates permet d'éviter ce type de catalyseur susceptible de dégrader la chaîne polymère. Pour notre part, nous avons employé un catalyseur neutre, de type sel d'étain : le dilaurate de dibutyl étain (DBTL). Les deux agents de terminaison étudiés sont les suivants :

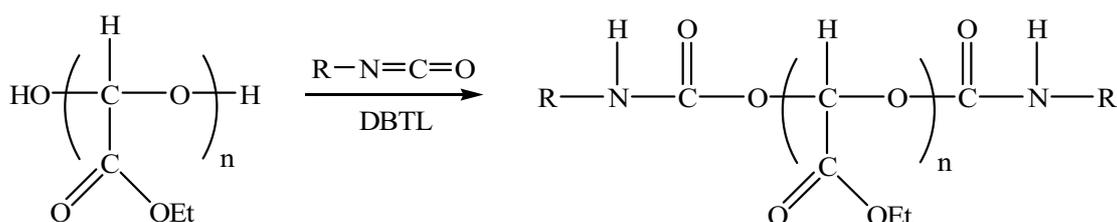


Phényl isocyanate



Hexaméthylène diisocyanate
HMDI

Selon le schéma réactionnel :



La quantité de HMDI introduite est double de celle en phényl isocyanate afin d'éviter toute réaction d'allongement de chaîne. Les fonctions isocyanate n'ayant pas réagi, ainsi que celles d'extrémités de chaînes dans le cas du HMDI, sont neutralisées lors de la précipitation dans le méthanol. Les déplacements chimiques, par RMN ^1H , des protons relatifs à ces deux terminaisons sont présentés dans le tableau II.6.

Agent de terminaison	Extrémité de chaîne	Déplacement chimique (ppm)	Proton(s) correspondant(s)
HMDI		3,66 (s) 4,70 (m) 3,15 (m) 1,60 (m) 1,50 (m)	-CH ₃ -NH -CH ₂ - (B) -CH ₂ - (C) -CH ₂ - (D)
Phényl isocyanate		Massif : 7,20	

Tableau II.6 : Déplacements chimiques des terminaisons du PGEt par RMN ^1H .

Dans les deux cas, les polymères sont parfaitement terminés et aucun signal de l'aldéhyde à 9,3 ppm n'est détectable sur le spectre RMN (figure II.11). La présence d'aldéhyde serait, en effet, la mise en évidence de l'existence de chaînes non, ou partiellement, terminées et qui se dépolymériseraient lors de la dilution dans le solvant d'analyse.

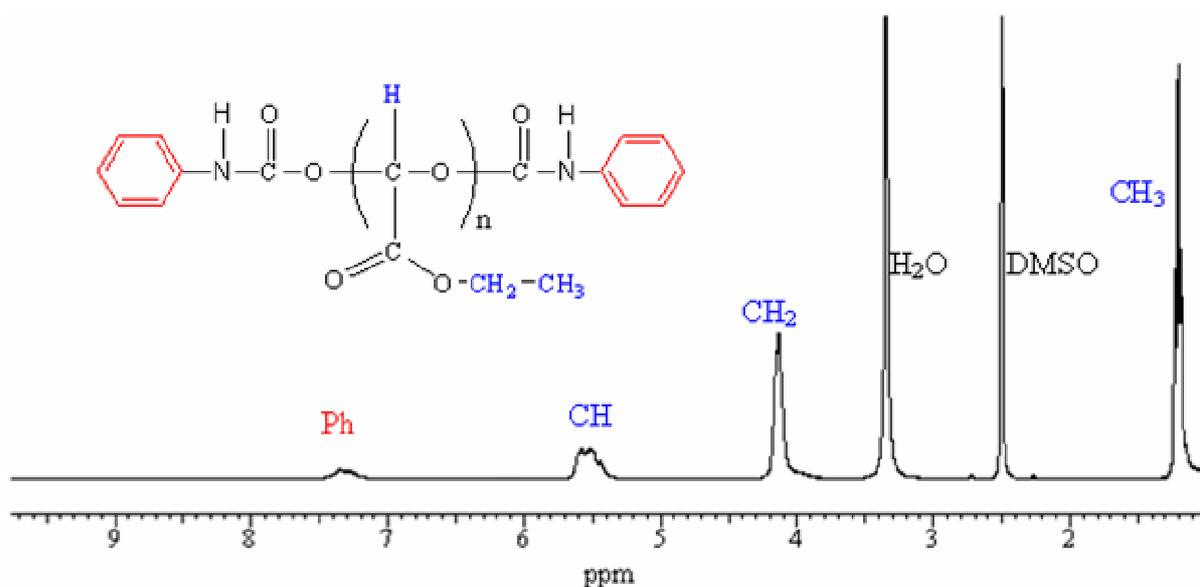


Figure II.11 : Spectre RMN ¹H d'un PGEt terminé par le phényl isocyanate.

A partir du spectre, les masses molaires peuvent être déterminées selon :

$$\overline{\text{Mn}}_{\text{RMN}} = \frac{I_{\text{CH}}}{I_{\text{Ph}}} 102 + 256 \quad \text{pour la terminaison par le phényl isocyanate,}$$

$$\overline{\text{Mn}}_{\text{RMN}} = \frac{I_{\text{CH}}}{I_{\text{CH}_2(\text{C+D})}} 16 \cdot 102 + 422 \quad \text{pour la terminaison par le HMDI.}$$

Où I_{CH} est l'intégration du pic correspondant au H acétalique du PGEt, I_{Ph} celle des protons des noyaux et $I_{\text{CH}_2(\text{C+D})}$ celle des protons CH₂ (C) et (D) (tableau II.6).

II.3.2 – Comparaison des $\overline{\text{Mn}}$ SEC et RMN

Nous avons reporté dans le tableau II.7 quelques unes des polymérisations effectuées pour une même concentration initiale en triéthylamine ($3,6 \cdot 10^{-3}$ M) et en GEt (9,9 M) dans le dichlorométhane. Les masses molaires observées par SEC, ne donnent que des valeurs de $\overline{\text{Mn}}$ relatives aux étalons polystyrène utilisés lors de la calibration des colonnes.

\overline{Mn}_{RMN}	\overline{Mn}_{SEC}	I_p	Terminaison
1 600	4 100	1,37	PhNCO
2 700	9 700	1,98	PhNCO
4 300	34 000	1,73	PhNCO
6 000	18 900	1,76	HMDI

PhNCO : phényl isocyanate

HMDI : hexaméthylène diisocyanate

Tableau II.7 : Masses molaires (RMN 1H et SEC) et indice de polymolécularité.

Globalement, plus la masse molaire est importante, plus l'indice de polymolécularité est élevé. Celui-ci se situe entre 1,4 et 2, et dépend également de l'agent de terminaison utilisé.

De plus, une différence est observée entre les valeurs SEC et celles déterminées par RMN, et cet écart dépend également du type de terminaison utilisée (figure II.12).

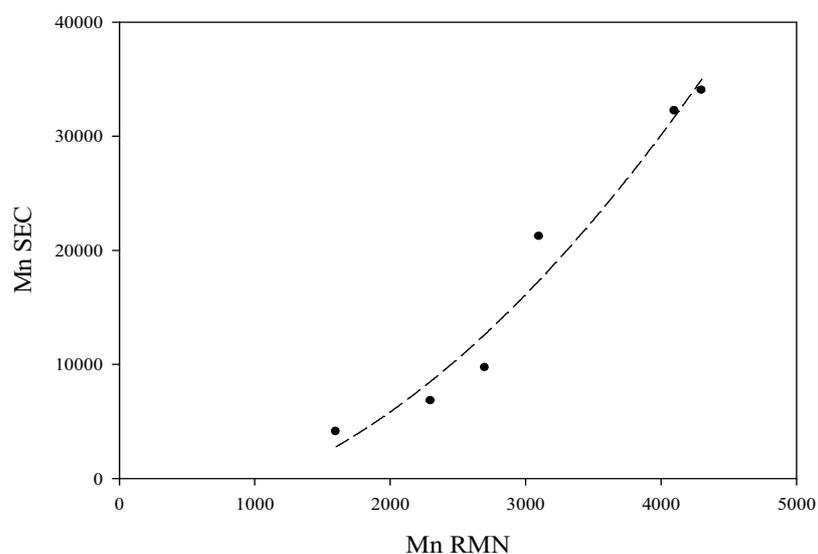


Figure II.12 : Evolution des masses molaires déterminées par SEC et RMN 1H pour une terminaison par le phényl isocyanate.

Les masses molaires obtenues par RMN 1H sont beaucoup plus faibles que celles déterminées par SEC, cet effet s'accroissant lorsque les \overline{Mn} augmentent. Deux hypothèses peuvent être émises. La première est la formation d'allophanates (due à l'utilisation du phényl

isocyanate en excès lors de la terminaison), la quantité de phényles par chaîne étant alors supérieure à deux, les \overline{Mn}_{RMN} sont sous-évaluées, cet effet s'accroissant pour des masses molaires plus importantes (excès d'isocyanate plus important). La seconde hypothèse serait une association des extrémités PGEt-PhNCO par des liaisons hydrogène lors de la précipitation, association qui ne serait pas, ou peu, détruite par le dichlorométhane utilisé comme solvant. Ces agrégations d'extrémités de chaînes entraîneraient une surestimation des masses par SEC.

Les masses molaires présentées dans la suite du document seront les \overline{Mn}_{SEC} sauf précision.

II.3.3 – Analyse RMN ^{13}C

La figure II.13 présente le spectre RMN ^{13}C d'un PGEt terminé par le phényl isocyanate. Les seuls pics présents correspondent au motif glyoxylate et à l'agent de terminaison.

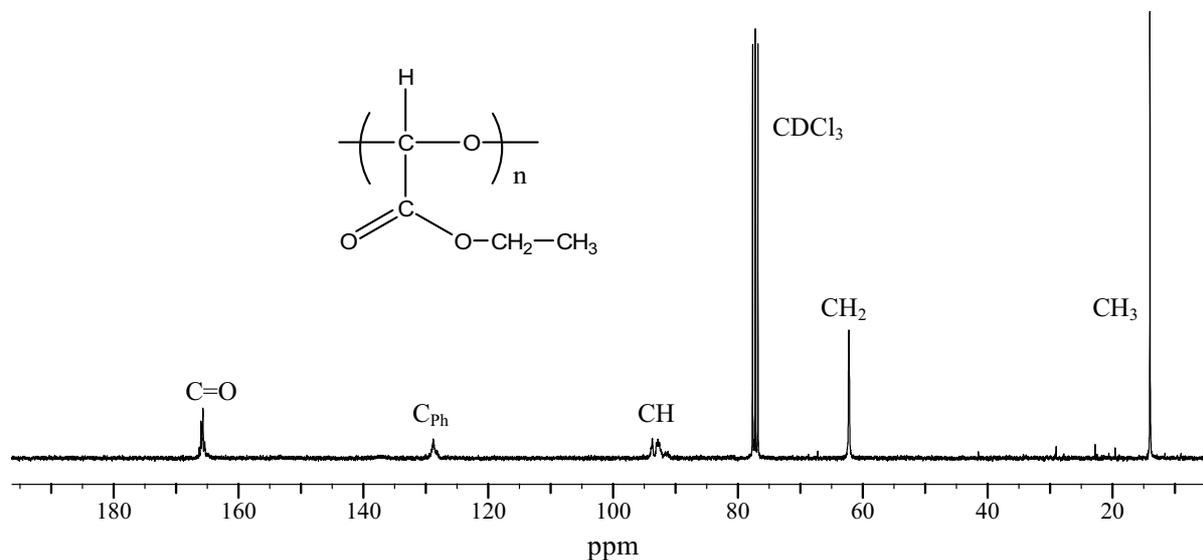


Figure II.13 : Spectre RMN ^{13}C d'un PGEt terminé par le phényl isocyanate.

L'analyse des différents spectres ^{13}C permet de mettre en évidence un effet de triade (au moins) du carbone acétalique ainsi qu'un effet de pentade pour le pic du carbonyle de l'ester.

En fonction de l'amorceur utilisé, butyl lithium (BuLi) ou triéthylamine (NEt₃) on observe une variation de l'intensité des signaux et donc une variation de la tacticité (figure II.14).

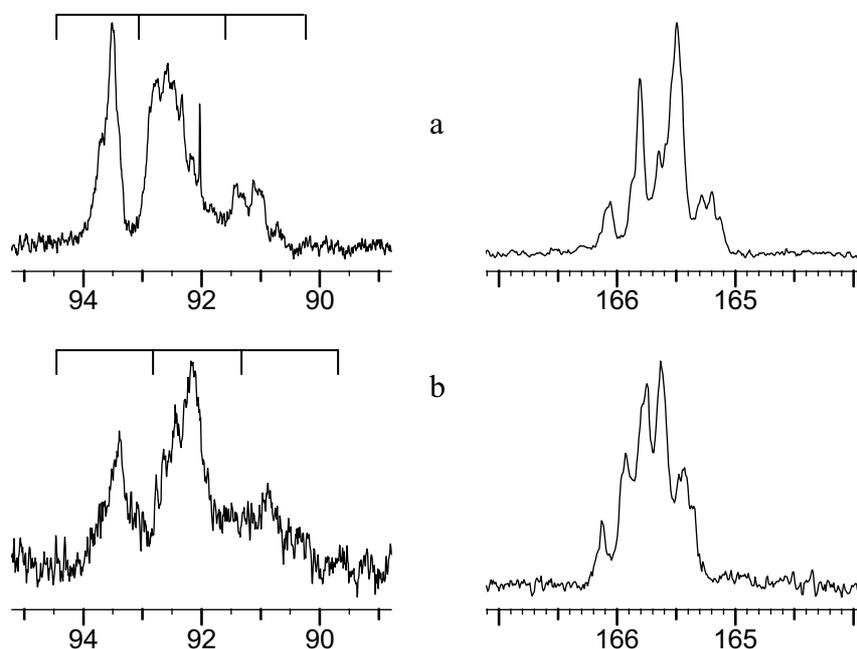


Figure II.14 : Zooms des spectres RMN ¹³C d'un PGET terminé par le PhNCO amorcé par NEt₃ (a) ou BuLi (b) au niveau des pics du carbonyle de l'ester et du CH acétalique.

A partir de cet agrandissement, l'intégration de chacun des pics de la triade centrée à 92,5 ppm peut être mesurée. La participation au massif de chaque pic est donnée à 1% près compte tenu de l'incertitude de la technique. Soit pour la triéthylamine :

- pics à 93,5 ppm : 29 %
- pics à 92,5 ppm : 56 %
- pics à 91,0 ppm : 15 %

Il paraît raisonnable d'attribuer les pics à 92,5 ppm à la triade hétérotactique mr.

Ainsi, on peut mesurer le rapport de persistance pour les triades, sans préjuger de l'attribution des probabilités pour les triades mm et rr :

$$\rho = \frac{4 \text{ mm rr}}{\text{mr}^2} = 0,55$$

Ce résultat montre que le processus de propagation n'est pas Bernoullien et qu'il y a une tacticité préférentielle pour l'un ou l'autre des enchaînements.

Si le processus d'addition est sensible à la diade pénultième, on peut faire intervenir des probabilités conditionnelles de type Markov 1^{er} ordre, à savoir :

$$mm = \frac{P_{m/m} P_{r/m}}{P_{m/r} + P_{r/m}} \quad mr = \frac{P_{m/r} P_{r/m}}{P_{m/r} + P_{r/m}} \quad rr = \frac{P_{r/r} P_{r/m}}{P_{m/r} + P_{r/m}}$$

$$\text{Avec } P_{m/m} + P_{m/r} = 1 \text{ et } P_{r/r} + P_{r/m} = 1$$

Les probabilités conditionnelles croisées qui en découlent :

$$P_{m/r} = \frac{mr}{2mm + mr} \text{ et } P_{r/m} = \frac{mr}{2rr + mr}$$

$$\begin{aligned} \text{conduisent à : } \quad P_{a/a} \approx P_{a/b} &= 0,5 \\ P_{b/b} &= 0,65 \quad P_{b/a} = 0,35 \end{aligned}$$

avec : a : diade m ou r

b : diade r ou m

Seule la diade « b » a une influence sur le processus de propagation lors de l'utilisation de la triéthylamine comme amorceur, dans le cas de la polymérisation du GEt. Un résultat identique a été obtenu avec le GMe⁽⁷⁾.

Dans le cas de l'amorçage par le butyl lithium, le résultat est proche de celui d'un processus Bernoullien :

$$\left. \begin{array}{l} - \text{ pic à } 93,5 \text{ ppm : } 24 \% \\ - \text{ pic à } 92,5 \text{ ppm : } 51 \% \\ - \text{ pic à } 91,0 \text{ ppm : } 25 \% \end{array} \right\} \rho = \frac{4mmrr}{mr^2} = 0,92$$

Les proportions de ces triades correspondent à une probabilité d'enchaînement $P_m = P_r = 0,5$ qui est le fait d'un polymère atactique.

Le choix de l'amorceur permet donc d'influer sur la tacticité du PGEt.

II.4 – PROPRIETES THERMIQUES

La connaissance de la tenue thermique des PGEt terminés ainsi que de sa température de transition vitreuse est nécessaire pour déterminer les conditions et les limites de mise en œuvre de ce nouveau polymère.

II.4.1 – Analyse enthalpique différentielle

La détermination de la température de transition vitreuse du PGEt a été déterminée par analyse enthalpique différentielle (DSC), à 10°C/min sous atmosphère d'azote.

La figure II.15 présente un thermogramme d'un PGEt de $\overline{M}_n = 70\,000\text{ g.mol}^{-1}$ terminé par le phényl isocyanate.

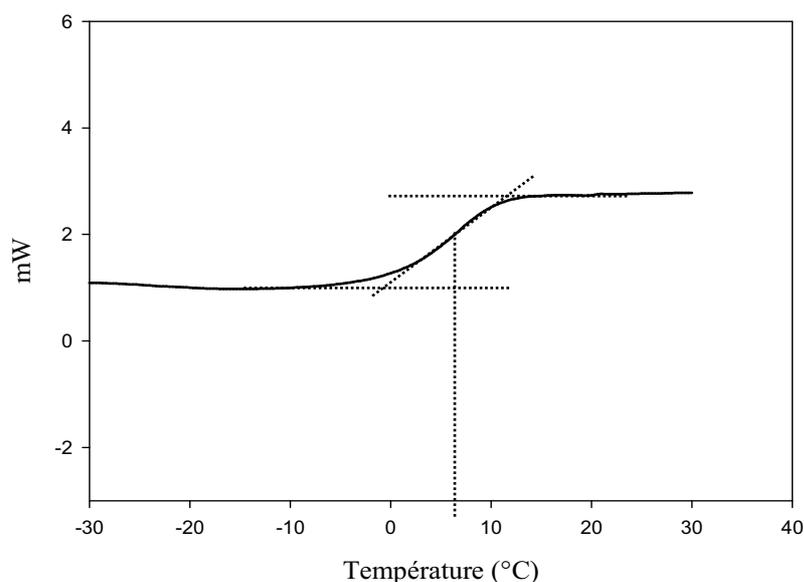


Figure II.15 : Analyse DSC d'un PGEt terminé par le phényl isocyanate.

On remarque que la température de transition vitreuse du PGEt est relativement basse, de l'ordre de 7°C et justifie que le polymère soit visqueux et collant à température ambiante, ce qui complique sa manipulation et sa mise en œuvre.

II.4.2 – Analyse thermo-gravimétrique

L'analyse thermo-gravimétrique (ou TGA) est une méthode basée sur la perte de masse des échantillons en fonction de la température. Elle donne accès à la température de dégradation mais également permet de déterminer la fenêtre de mise en œuvre.

II.4.2.a – Influence du blocage des extrémités

La TGA est également une méthode simple pour tester l'efficacité de la terminaison du PGEt. En effet, les courbes obtenues dans le cas d'un polymère non ou mal terminé montrent que les PGEt hydroxy téléchéliques ont une mauvaise tenue en température et se dégradent rapidement, dès 50°C. Les PGEt terminés sont quant à eux stables jusqu'à environ 180°C (figure II.16).

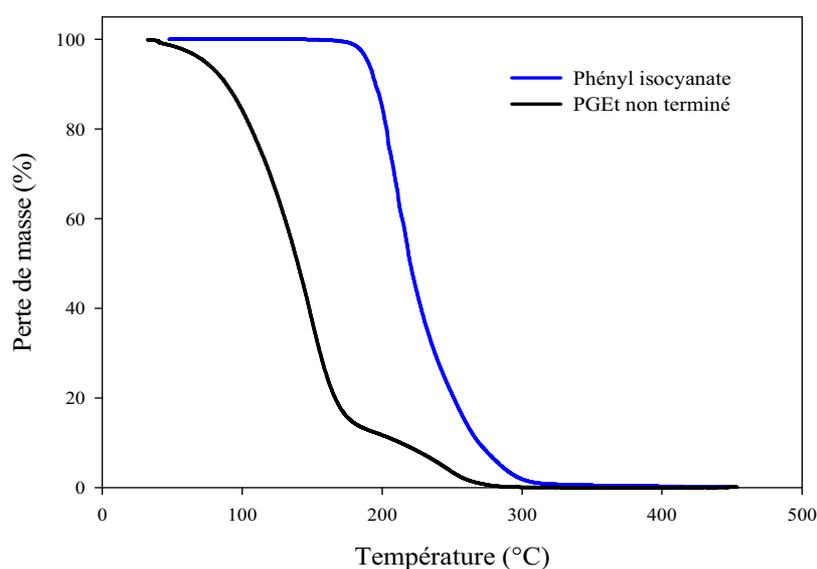


Figure II.16 : Influence de l'agent de terminaison sur la tenue thermique du PGEt ($\overline{M}_n = 39\,000$).

II.4.2.b – Influence de la longueur de chaîne

La tenue thermique de PGEt à extrémités phényle de masses molaires comprises entre 4600 et 47 000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ a été caractérisée par TGA (figure II.17).

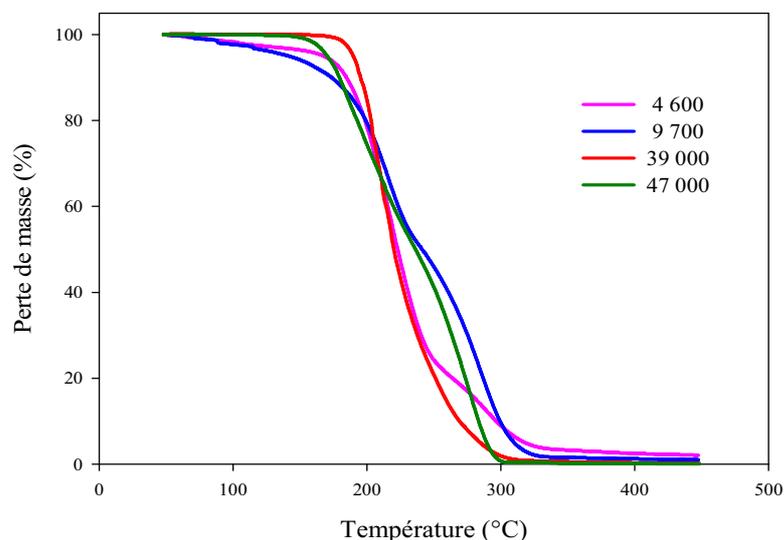


Figure II.17 : Influence de la masse molaire sur le thermogramme du PGEt terminé par le phényl isocyanate.

On constate que l'allure générale des courbes est voisine avec un début de dégradation vers 180°C et une dégradation complète vers 300°C. La tenue thermique des PGEt n'est donc pas ou peu influencée par la taille de la chaîne polymère, dans la gamme de masses étudiées.

II.4.2.c – Analyses isothermes

Nous avons également étudié plus en détails la tenue thermique du PGEt terminé par le phényl isocyanate pendant une heure. Les isothermes à 100°C, 130°C, 150°C, 170°C sont présentées dans la figure II.18.

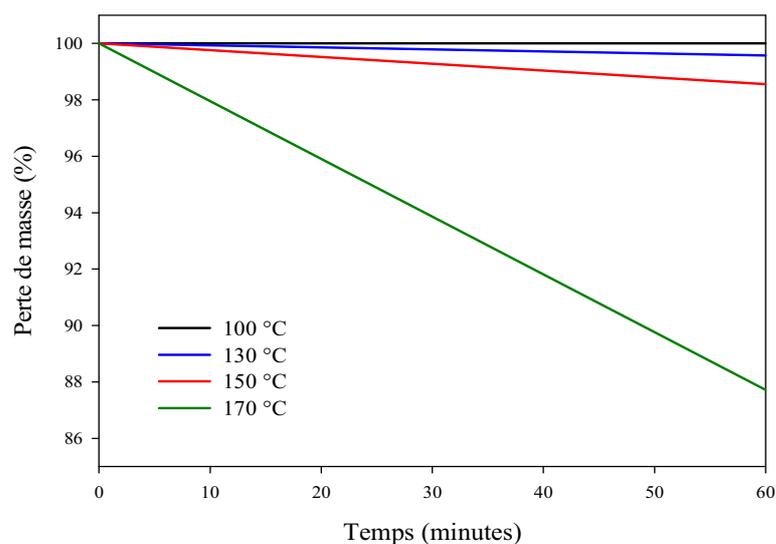


Figure II.18 : Isothermes de stabilité de PGEt terminé par le phényl isocyanate à différentes températures.

Le PGEt est stable à 100, 130 et 150°C, la perte de masse n'excédant pas 2 %. A 170°C, la dégradation est plus importante, environ 13% en une heure, et indique les limites d'utilisation du PGEt.

II.5 – CONCLUSION

Dans ce chapitre, nous avons montré que la purification du GEt commercial était délicate et que le contrôle de la quantité d'impuretés était difficile voire impossible. Ces impuretés sont susceptibles de donner des réactions de transfert qui limitent la masse molaire.

L'existence de fonctions hydroxyle en extrémités de chaînes peut ainsi être justifiée par des réactions de transfert dues à la présence d'eau dans le milieu sous forme d'hydrate de GEt. Il est évident qu'il serait beaucoup plus satisfaisant de disposer d'un monomère pur et de régler sa masse et sa fonctionnalité par addition contrôlée de molécules d'eau ou d'hydrate de GEt. Les lots de GEt fournis répondent au cahier des charges des applications visées par Clariant mais ne sont cependant pas satisfaisants pour notre travail.

Néanmoins, en dehors du contrôle de la masse molaire, qui pourrait faire l'objet d'un autre travail de thèse, nous pouvons parfaitement étudier les propriétés et les potentialités du PGEt dans la gamme de masses molaires que nous avons obtenue.

Ainsi, la détermination de la température plafond a pu être effectuée grâce à un suivi par RMN ^1H en température. Elle est proche de celle du PGMe, 37°C contre 27°C pour $[\text{M}]_0 = 1$ mol/L et nous oblige à, d'une part terminer le polymère en bloquant ses extrémités hydroxyle et d'autre part effectuer la polymérisation et la terminaison à basse température afin d'avoir des rendements de polymérisation élevés.

Deux terminaisons isocyanate ont été testées et validées. Les PGEt terminés ont été caractérisés par SEC et RMN ^1H . Des masses molaires, allant de 2 000 à 70 000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ en équivalent polystyrène ont été obtenues.

Différents amorceurs ont été utilisés tels que la triéthylamine ou des dérivés lithiés. La RMN ^{13}C montre que le choix de l'amorceur influe directement sur la tacticité du polymère.

Enfin, la température de transition vitreuse du PGEt est de l'ordre de 7°C , ce qui n'est pas favorable pour sa mise en oeuvre. Sa température de dégradation est d'environ 180°C et l'analyse isotherme démontre qu'à partir de 170°C on atteint ses limites d'applications.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 - H.-M. Dong, H.-H. Lu, L.-Q. Lu, C.-B. Chen, W.-J. Weng, *Adv. Synth. Catal.*, 349 (10), 1597, **2007**.
- 2 - M. Soueidan, J. Collin, R. Gil, *Tetrahedron lett.*, 47 (31), 5467, **2006**.
- 3 - Y. Yuan, X. Wang, X. Li, K. Ding, *J. Org. Chem.*, 69 (1), 146, **2004**.
- 4 - K. Wakita, G. B. Bajracharya, M. A. Arai, S. Takizawa, T. Suzuki, H. Sasai, *Tetrahedron: Asymmetry*, 18 (3), 372, **2007**.
- 5 - W. Chaladaj, P. Kwiatkowski, J. Majer, J. Jurczak, *Tetrahedron Lett.*, 48 (13), 2405, **2007**.
- 6 - A. Mandoli, S. Orlandi, D. Pini, P. Salvadori, *Tetrahedron: Asymmetry*, 15 (20), 3233, **2004**.
- 7 - C. Vaugelade, Thèse de 3^{ème} cycle, Université de Rouen, **1999**.
- 8 - D.R. Dyroff, V. D. Papanu, Monsanto Company, U.S. Patent, 4 225 685, **1980**.
- 9 - C. H. Brachais, Thèse de 3^{ème} cycle, Université de Rouen, **1995**.
- 10 - E. Muller, Thèse de 3^{ème} cycle, Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, **1992**.

CHAPITRE III :

COPOLYMERISATION DU STYRENE

PAR ATRP

Le chapitre précédent dédié à la synthèse du PGEt a montré l'existence de réactions de transfert qui conduisent à des polyols de masses molaires limitées. De plus, ces PGEt, de par leur faible température plafond, nécessitent un blocage des extrémités pour être utilisés.

Dans ce chapitre, nous avons choisi de tirer parti de l'existence de ces extrémités hydroxyle pour synthétiser des copolymères triblocs. La démarche envisagée repose sur l'élaboration d'un macroamorceur de polymérisation radicalaire par transfert d'atomes (ATRP) en bloquant les extrémités du PGEt par le bromure de 2-bromo-2-méthyl propionyle.

III.1 –PRINCIPE DE L'ATRP

Classiquement, une polymérisation radicalaire présente trois étapes principales : l'amorçage (activation de l'amorceur et création du radical M^\bullet), la propagation (insertion des monomères) et la terminaison (désactivation des radicaux par recombinaison ou dismutation) qui possèdent chacune une vitesse qui leur est propre (figure III.1).

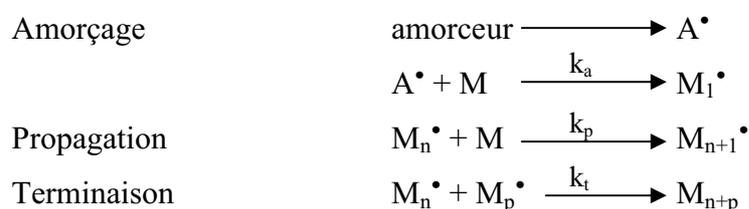


Figure III.1 : Principe de la polymérisation radicalaire

Où k_a est la constante d'amorçage, k_p celle de propagation et k_t celle de terminaison.

Des réactions de transfert peuvent également se produire dans le milieu, que ce soit à l'amorceur, au solvant, au monomère ou au polymère. Elles vont engendrer des terminaisons de chaîne ou des défauts de structure (pour le transfert au polymère).

Dans le cas d'une polymérisation radicalaire classique, la présence de réactions de terminaison, qui sont irréversibles, a pour effet d'une part, de limiter la taille des polymères synthétisés, mais également de conduire à une distribution large des masses molaires obtenues.

C'est pourquoi, afin d'obtenir des copolymères de structure choisie, nous avons utilisé une méthode de polymérisation radicalaire vivante contrôlée. Le caractère contrôlé traduit l'absence de réactions de transfert ou de terminaison tandis que l'aspect vivant révèle que le centre actif est toujours présent en fin de réaction, permettant ainsi de réamorcer une polymérisation et de synthétiser des copolymères. A partir d'un faible nombre de monomères, de nombreuses structures peuvent être synthétisées en variant la topologie (linéaire, en étoile, réseau, dendrimère), la composition et la structure (copolymères à blocs, statistiques, greffés) ou en fonctionnalisant la ou les extrémités. Ainsi, une gamme de polymères de propriétés différentes peut être obtenue⁽¹⁾.

Parmi les différentes méthodes de polymérisation radicalaire vivante nous avons choisi de travailler par polymérisation radicalaire par transfert d'atomes ou ATRP qui a l'avantage d'être contrôlée et vivante. Les chaînes sont générées à la même vitesse, ce qui conduit à un indice de polymolécularité faible. Pour cela, il faut que les constantes d'amorçage et de propagation soient du même ordre. De plus, pour que le contrôle soit efficace, la vitesse de propagation doit être inférieure à celle de formation de l'espèce dormante, et ainsi, la concentration en espèce active sera très inférieure à celle en espèce dormante.

Un aspect clé de l'ATRP est donc l'équilibre dynamique entre les espèces dormantes (RX ou RMX) et les espèces actives (R^\bullet ou RM^\bullet). Cela permet une concentration faible en radicaux par rapport au nombre total de chaînes en croissance, la durée de vie des chaînes est alors de quelques heures contre moins d'une seconde en polymérisation classique. La concentration en chaînes dormantes est alors environ 10^6 fois plus importante que celle en chaînes actives⁽²⁾. Ceci permet une croissance quasi-uniforme de toutes les chaînes et un nombre négligeable de terminaisons irréversibles par recombinaison de radicaux, conférant son caractère contrôlé à cette technique.

Le composé métallique M_t^n soustrait l'halogène de l'amorceur RX pour former l'espèce oxydée XM_t^{n+1} et le radical R^\bullet . Ce dernier réagit ensuite avec la double liaison du monomère M pour former l'espèce intermédiaire RM^\bullet qui donne RMX par réaction avec le composé oxydé XM_t^{n+1} . La forme réduite M_t^n est donc régénérée par le processus et peut participer à un nouveau cycle redox d'addition du monomère : c'est un processus catalytique.

Le ligand L, associé à l'activateur M_t^n pour former un complexe, modifie cet équilibre et peut changer la solubilité de ce complexe catalyseur suivant sa nature. Ainsi, une étape supplémentaire apparaît sur le schéma général de polymérisation, entre la propagation et la

terminaison, qui va permettre de contrôler le nombre d'espèces actives pouvant alors réagir avec un monomère (figure III.2).

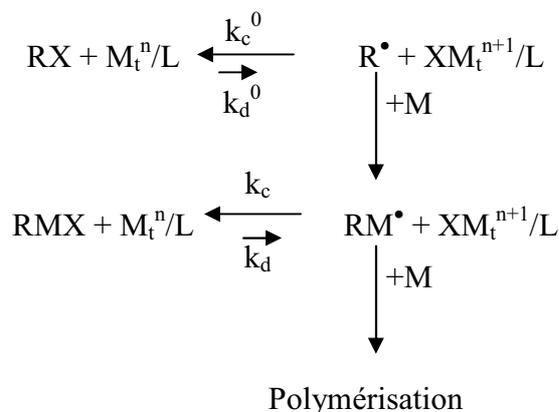


Figure III.2 : Principe de l'ATRP

Un système ATRP est caractérisé par la proportion de chacun des constituants : (amorceur/métal/ligand/double liaison) ($\text{RX}/\text{M}_t^n/\text{L}/\text{M}$), le pourcentage de solvant et la température.

On utilise parfois un solvant pour améliorer la solubilité du complexe et donc l'homogénéité du milieu. En effet, l'inhomogénéité du milieu affecte le mécanisme et la cinétique de réaction, ce qui se traduit par un indice de polymolécularité supérieur à 1,5 et un mauvais contrôle de la polymérisation.

Classiquement⁽³⁾, lors d'une ATRP en masse, on obtient une cinétique d'ordre 2/3, soit une équation de la forme :

$$\ln\left(\frac{[\text{M}]_0}{[\text{M}]_t}\right) = 1,5 k_p \left(\frac{k_d [\text{A}]_0}{3k_c k_t}\right)^{1/3} t^{2/3} \quad (\text{équation 1})$$

où $[\text{M}]_t$ la concentration en monomère au temps t , $[\text{M}]_0$ la concentration initiale en monomère, $[\text{A}]_0$ la concentration initiale en amorceur, k_p la constante de polymérisation, k_c celle de formation de RMX et k_t celle de terminaison.

Même si, en théorie on considère que la constante de terminaison ne dépend pas du temps, d'où une variation linéaire de $\ln\left(\frac{[\text{M}]_0}{[\text{M}]_t}\right)$ en fonction de $t^{2/3}$, la pratique montre qu'elle dépend de la taille des molécules, donc du temps de polymérisation. Ainsi, on considère que dans le

cas des polymérisations radicalaires contrôlées $\ln\left(\frac{[M]_0}{[M]_t}\right)$ varie linéairement en fonction du temps de polymérisation et peut alors s'écrire :

$$\ln\left(\frac{[M]_0}{[M]_t}\right) = k_{app} t \quad (\text{équation 2})$$

Où k_{app} est la constante apparente de polymérisation.

Deux autres relations, portant sur l'évolution de la masse molaire en fonction de la conversion (équation 3) et sur l'indice de polymolécularité (équation 4) sont caractéristiques des polymérisations radicalaires contrôlées.

$$\overline{Xn} = \frac{([M]_0 - [M]_t)}{2 f [A]_0 (1 - e^{-k_d t})} \quad (\text{équation 3})$$

Où f est le facteur d'efficacité et k_d la constante de dissociation de l'espèce dormante.

$$I_p = 1 + \frac{[A]_0}{[M]_0} + \left(\frac{\pi k_p^3 [A]_0}{k_d k_c k_t}\right)^{1/2} \quad (\text{équation 4})$$

Cette équation est valable pour les temps longs, c'est-à-dire pour des masses molaires importantes. Le but étant de synthétiser des polymères de grande taille, le rapport initial $[A]_0/[M]_0$ est faible et devient négligeable. L' I_p est alors proche de 1 et ne peut pas dépasser 1,5.

L'ATRP possède donc, en plus de sa simplicité de mise en œuvre un fort intérêt dû à son caractère vivant qui conduit à des polymères de faible indice de polymolécularité ($I < 1,5$) et à des longueurs de chaîne pouvant être choisies en jouant sur les concentrations initiales : $\overline{Xn} = \frac{\Delta M}{A_0}$ (où A_0 est la concentration initiale en amorceur et ΔM le monomère consommé).

Les limitations de cette technique résident essentiellement dans le fait qu'elle est restreinte à certains monomères (styréniques, acrylates...), les autres (acétate de vinyle, vinyl

pyridine...) ne permettant que peu de contrôle. La présence de métaux résiduels en fin de polymérisation est aussi l'un des aspects gênant et donc limitant de l'ATRP, cependant, des travaux de recherche récents apportent quelques améliorations concernant ce point particulier^(4,5).

III.2 – CARACTERISATION DU MACROAMORCEUR

Nous avons choisi de bloquer les extrémités du PGEt par le bromure de 2-bromo-2-méthyl propionyle (Br-PGEt-Br) de manière à obtenir des macroamorceurs d'ATRP (X-R-X)^(6, 7, 8).

Lors de cette réaction d'estérification, il y a libération d'HBr (figure III.3). Le PGEt étant fortement sensible à un milieu acide et se dégradant alors rapidement, de la triéthylamine est ajoutée en excès afin de neutraliser l'acide formé (annexe 3). Le schéma réactionnel est le suivant :

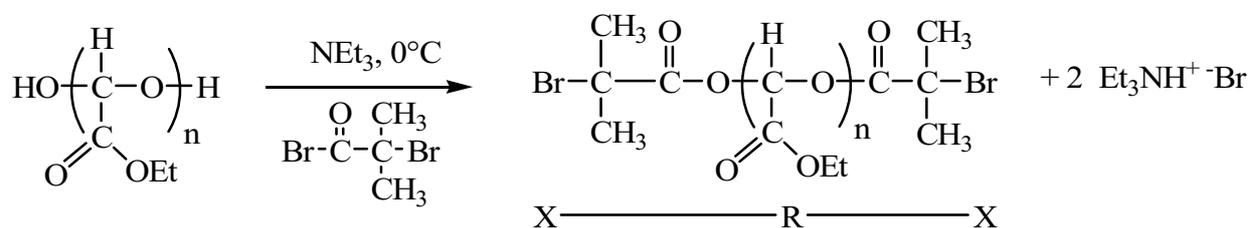


Figure III.3 : Réaction de terminaison du PGEt par le bromure de 2-bromo-2-méthyl propionyle.

Dans le cas de cette terminaison, on obtient une solution jaune à marron laiteuse. L'aspect laiteux est dû à la présence du sel de triéthylammonium qui n'est pas totalement soluble dans le dichlorométhane.

Les PGEt terminés ont été purifiés par précipitation et analysés. L'élimination complète du sel de triéthylammonium formé est difficile. La méthode la plus simple et la plus efficace consiste en une extraction eau/dichlorométhane. Le PGEt étant très sensible à l'eau, il est impératif de réaliser rapidement cette extraction et de sécher le polymère pour éviter sa dépolymérisation.

III.2.1 – Caractérisation du macroamorceur par RMN ^1H , ^{13}C et SEC

Les spectres RMN ^1H (figure III.4) et ^{13}C (figure III.5) montrent que la terminaison du PGEt est effective et que les seuls pics observés sont ceux correspondant aux protons et aux carbones de la chaîne principale, et à ceux relatifs à la terminaison.

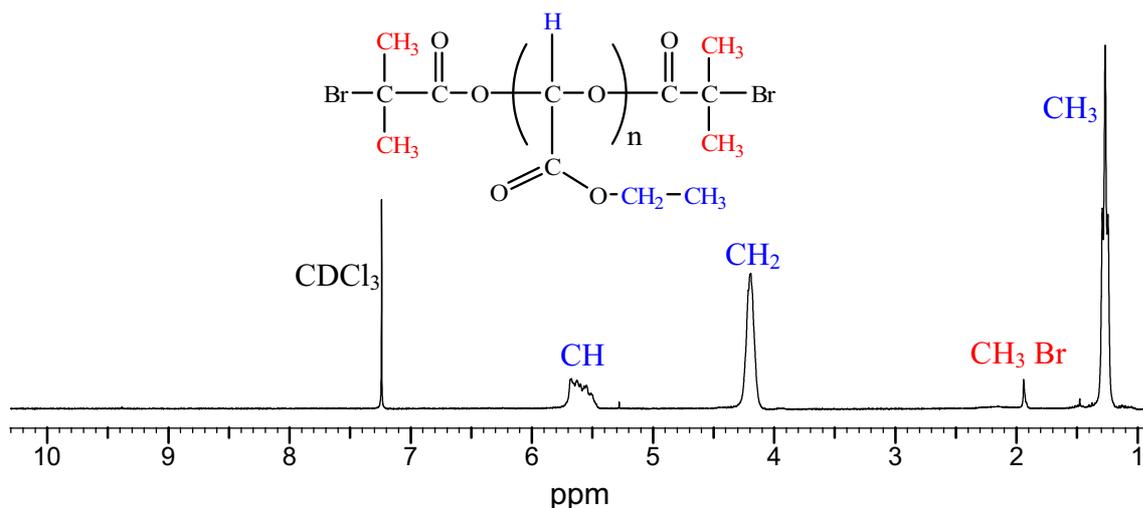


Figure III.4 : Spectre RMN ^1H d'un PGEt terminé par le bromure de 2-bromo-2-méthylpropionyle dans le CDCl_3 .

Par RMN ^1H , le déplacement chimique des signaux des terminaisons du PGEt et la précision des intégrations qui en résulte permettent de déterminer les masses molaires des PGEt. En faisant l'hypothèse qu'il y a effectivement deux extrémités bloquées par chaîne de PGEt, la $\overline{\text{Mn}}_{\text{RMN}}$ peut être déterminée selon :

$$\overline{\text{Mn}}_{\text{RMN}} = \frac{I_{\text{CH}}}{I_{\text{CH}_3\text{Br}}} 12 \cdot 102 + 316$$

Où I_{CH} est l'intégration du pic correspondant au H acétalique du PGEt, $I_{\text{CH}_3\text{Br}}$ celle des protons de la terminaison qui sont au nombre de 12 (quatre méthyles) par chaînes polymères (2 extrémités).

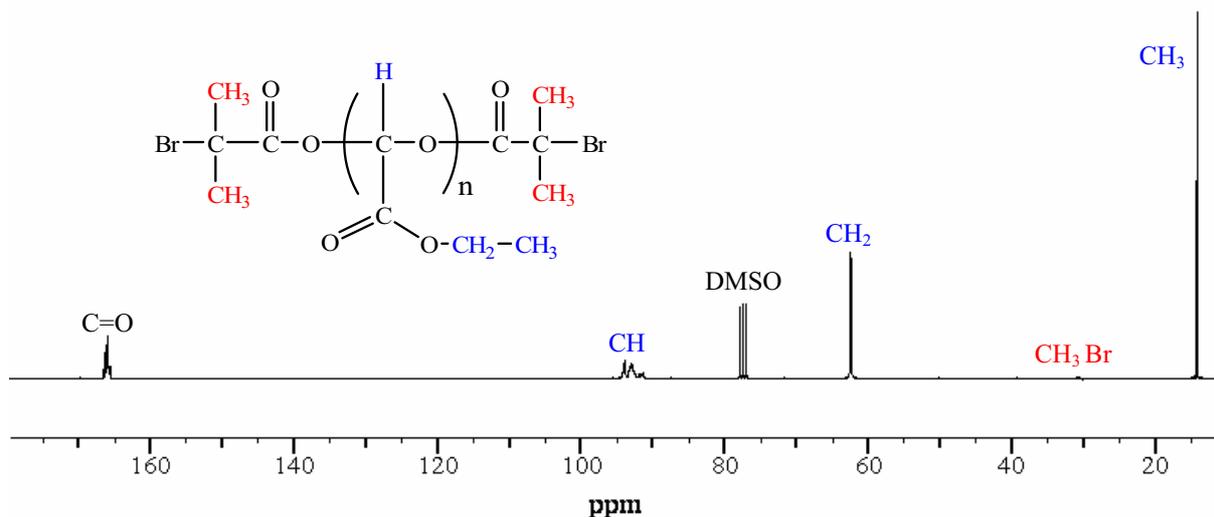


Figure III.5 : Spectre RMN ^{13}C d'un Br-PGET-Br.

Le tableau III.1 présente quelques résultats obtenus pour cette terminaison pour une même concentration initiale en triéthylamine de $3,6 \cdot 10^{-3}$ M et en GEt de 9,9 M dans le dichlorométhane.

$\overline{\text{Mn}}_{\text{RMN}}$	$\overline{\text{Mn}}_{\text{SEC}}$	Ip
2 400	3 200	1,4
4 300	4 100	1,5
5 900	7 100	1,5
11 300	13 600	1,6
19 000	25 000	1,9

SEC : étalonnage polystyrène

Tableau III.1 : Masses molaires (RMN ^1H et SEC) et indice de polymolécularité.

Comme dans le chapitre précédent, nous retrouvons que, globalement, plus la masse molaire est importante, plus l'indice de polymolécularité est élevé.

La fluctuation des $\overline{\text{Mn}}$ reste associée à la pureté des lots de GEt avec des valeurs bien en deçà de la valeur théorique de 280 000. En revanche, contrairement au cas des terminaisons par le phényl isocyanate, pour ce type de terminaison, il existe une relation linéaire entre la $\overline{\text{Mn}}_{\text{SEC}}$ et la $\overline{\text{Mn}}_{\text{RMN}}$ (figure III.6) :

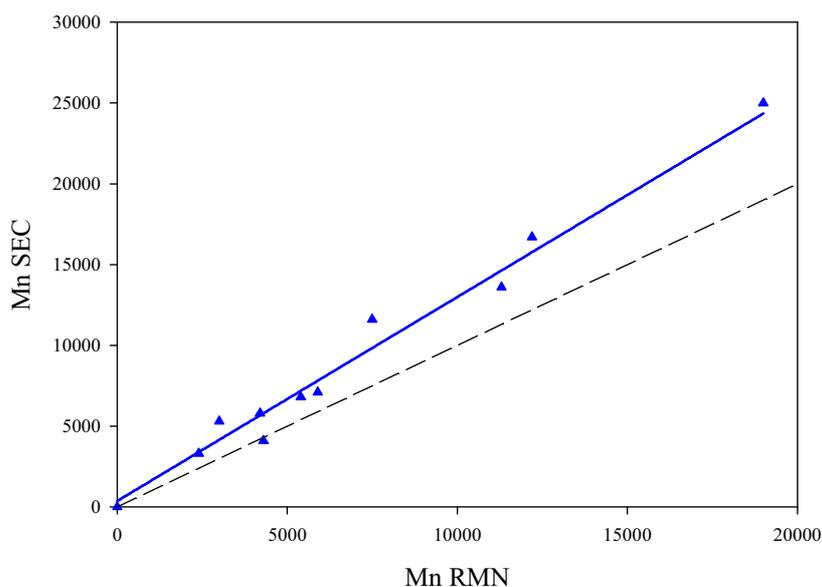


Figure III.6 : Evolution des masses molaires déterminées par SEC et RMN ^1H .

III.2.2 – Caractérisation du macroamorceur par spectrométrie de masse

Pour confirmer la présence d'un brome à chaque extrémité de chaîne, nous avons utilisé la spectrométrie de masse par électrospray (ESI). Cette technique d'ionisation se produit lors de la nébulisation d'une solution contenant l'analyte, à la sortie d'un capillaire métallique sur lequel on applique un champ électrique fort (3 à 6 kV/cm). L'accumulation de charges à la surface du liquide conduit à la formation de fines gouttelettes qui vont subir une diminution de taille par évaporation du solvant et explosion (due à la répulsion coulombienne des ions). Ainsi, les espèces moléculaires, souvent multichargées vont être libérées.

La spectrométrie de masse réside dans un premier temps dans la sélection d'ions de valeur m/z choisie. Ces ions piégés vont ensuite se fragmenter par collision à l'aide d'une tension radiofréquence correspondant à leur fréquence de résonance, et les ions produits formés sont à leur tour piégés. Cette technique peut être utilisée en positif ou en négatif suivant les molécules attendues. Elle s'applique préférentiellement en mode négatif sur des molécules possédant un caractère acide. Bien que nous ayons testé les deux méthodes, nous ne

présenterons ici que les résultats de la ESI positive où des atomes d'hydrogène (H^+), de sodium (Na^+) ou de potassium (K^+) sont alors liés à la molécule ou au fragment.

En théorie, il est possible de distinguer un composé monobromé (dont l'autre extrémité serait hydroxyle) d'un dibromé selon le nombre d'ions observés, en particulier en raison de la présence des 2 isotopes du brome (79 et 81) en proportion quasi équivalente (figure III.7).

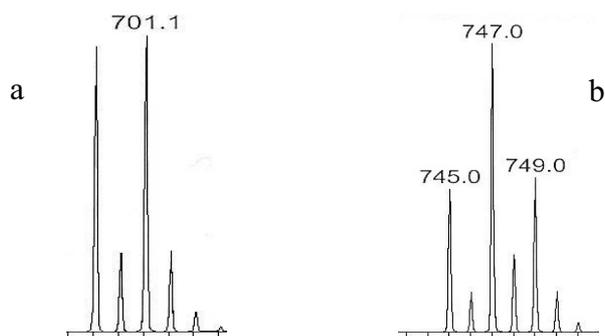


Figure III.7 : Spectres de masse théoriques $[M+ Na]^+$ d'un PGEt monobromé (a), c'est-à-dire possédant une seule extrémité bloquée, l'autre étant toujours hydroxyle et dibromé (b).

On constate que les massifs sont assez différents pour être identifiables, le monobromé pouvant être assimilé à un « doublet » quand le dibromé se rapproche d'un « triplet ».

Ensuite, un PGEt terminé par le bromure de 2-bromo-2-méthyl propionyle a été analysé (figure III.8).

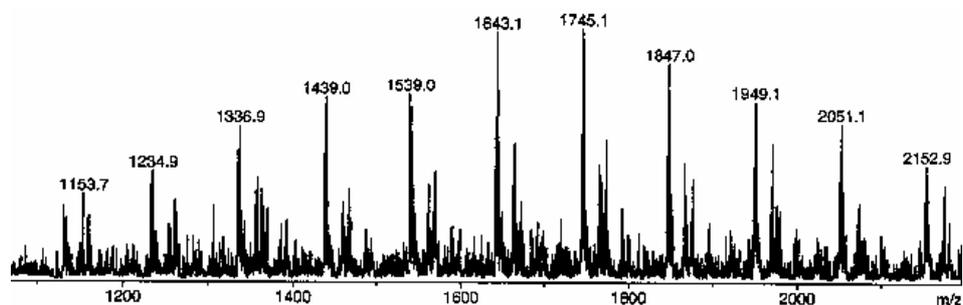
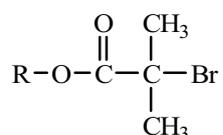


Figure III.8 : Spectre de masse d'un PGEt terminé par le bromure de 2-bromo-2-méthyl propionyle.

III.3 – COPOLYMERISATION DU STYRENE PAR ATRP

III.3.1 – Choix des conditions de polymérisation

Les monomères les plus utilisés en ATRP sont les dérivés styréniques et les méthacrylates. Le tableau III.2 présente quelques exemples de conditions utilisées pour la polymérisation par ATRP, pour un amorceur possédant les mêmes extrémités que le Br-PGEt-Br c'est-à-dire :



Monomère	Température de réaction (°C)	Dérivé métallique	Ligand	Réf.
Styrène	80	CuBr	Bipy	9
Styrène	85	[Ru(<i>p</i> -cymene)Cl ₂] ₂	Tricyclohexylphosphine	10
Styrène	110	CuBr	PMDETA	11
Styrène	110	CuCl	Bipy	9
Styrène	110	CuBr	Bipy	12
MMA	100	CuBr	Bipy	6
MMA	50	CuCl	Bipy	13

PMDETA : N, N, N', N'', N''-pentaméthyl-diéthylène triamine

Bipy : 2, 2'-bipyridine

Tableau III.2 : Exemples de conditions de polymérisation en masse par ATRP.

Nous avons choisi de travailler avec le styrène car son spectre RMN ¹H permet de facilement l'identifier vis-à-vis du Br-PGEt-Br.

Le complexe CuBr/PMDETA a été choisi car il est bien solubilisé dans le mélange PGEt/styrène. Les conditions retenues sont :

Br-PGEt-Br	Styrène	CuBr	PMDETA	Température
1	170	2	2	110°C

III.3.2 – Copolymérisation du Styrène en masse

Le protocole expérimental est décrit dans l'annexe 3. Après réaction, le mélange est solubilisé dans le chloroforme et passé sur colonne pour enlever le complexe métallique. Lors de l'introduction dans le méthanol, seul le copolymère précipite car le Br-PGEt-Br est de trop faible masse molaire ($\overline{M}_n = 4900$). Une poudre blanche est obtenue et analysée par RMN ^1H dans le CDCl_3 , afin de confirmer la structure obtenue (figure III.10).

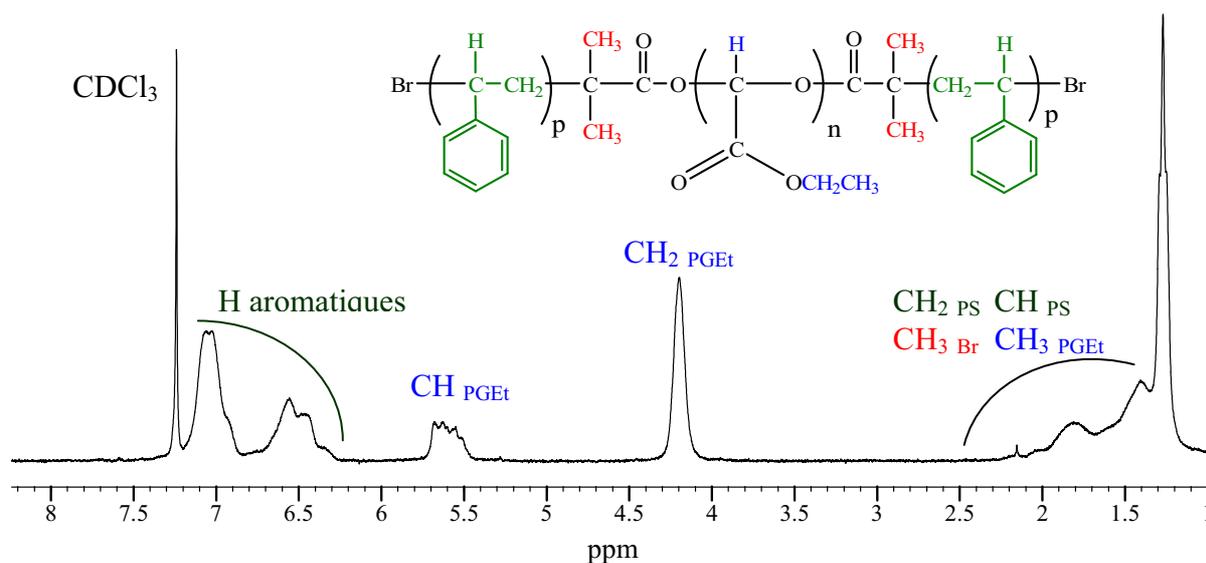


Figure III.10 : RMN ^1H du PS-PGEt-PS.

Le spectre RMN ^1H met en évidence, d'une part la présence des pics correspondants au polystyrène, et d'autre part, les pics du PGEt.

En utilisant le rapport des intégrations des pics du PGEt (CH ou CH_2) et des protons aromatiques du polystyrène, il est possible de calculer le degré de polymérisation de chaque bloc polystyrène.

$$\overline{X}_{n_{\text{PS}}} = \frac{1}{2} \frac{I_{\text{Ph}} 48}{I_{\text{CHPGEt}} 5}$$

où $\overline{X}_{n_{\text{PS}}}$ est le degré de polymérisation de chaque bloc polystyrène, I_{Ph} l'intégration des pics aromatiques, I_{CHPGEt} celle du CH du Br-PGEt-Br et 48 le \overline{X}_n du Br-PGEt-Br.

L'analyse par chromatographie d'exclusion stérique permet de connaître la masse molaire du polymère synthétisé et de calculer sa polymolécularité (figure III.11).

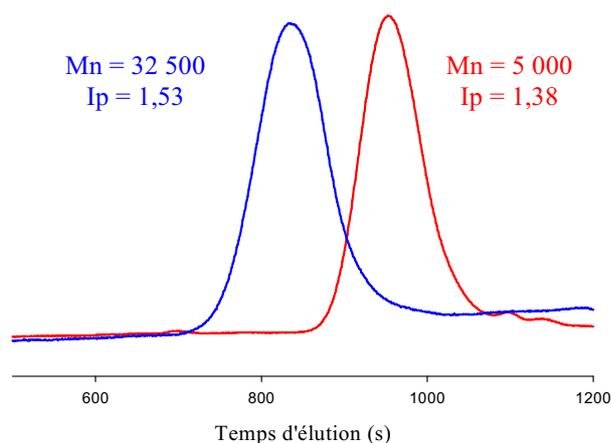


Figure III.11 : SEC du Br-PGEt-Br (—) et du PS-PGEt-PS (—).

Un déplacement du pic vers les plus hautes masses molaires ainsi que l'absence de signal au niveau du PGEt de départ permettent de confirmer que le Br-PGEt-Br joue effectivement le rôle de macroamorceur. De plus, l'absence d'un second pic ainsi que le fait que les indices de polymolécularité restent faibles indiquent qu'aucune polymérisation thermique ne se produit dans le milieu réactionnel. A partir des conditions initiales, nous avons calculé les \overline{M}_n et I_p théoriques du tribloc. Par pesée après purification du copolymère et en supposant que toutes les extrémités du Br-PGEt-Br ont amorcé, le pourcentage de conversion en polystyrène a été estimé à 65%.

\overline{M}_n théorique (65% de conversion)	\overline{M}_n RMN	\overline{M}_n SEC
16 400	38 900	32 500

$$\text{Avec } \overline{M}_{n_{th}} = \overline{M}_{n_{PGEt}} + 104 \overline{X}_{n_{th}} \text{ 65\%}$$

Tableau III.3 : Résultats de la copolymérisation du styrène par ATRP sur Br-PGEt-Br.

L'analyse des résultats montre que les masses molaires obtenues sont deux fois supérieures à celles attendues (tableau III.3).

Afin de vérifier l'efficacité des extrémités bromées et de confirmer le caractère contrôlé de la copolymérisation, une étude cinétique a été réalisée.

III.4 – ETUDE CINÉTIQUE

Pour mener cette étude, nous avons choisi de travailler dans l'anisole (ou méthoxybenzène) car il solubilise le couple CuBr/PMDETA (métal/ligand), le Br-PGEt-Br, le styrène et permet d'effectuer des prélèvements du milieu réactionnel (0,3mL) au cours du temps. Les conditions choisies sont les mêmes que pour l'analyse en masse, c'est-à-dire un ratio Br-PGEt-Br/CuBr/PMDETA/Styrène de 1/2/2/160, à 110°C et à 50 % dans l'anisole.

Lors du prélèvement, une fraction est utilisée pour une analyse RMN dans CDCl₃, le reste est filtré sur colonne de silice (pour retirer le complexe) puis précipité dans du méthanol et enfin analysé par SEC.

L'analyse RMN ¹H permet de suivre l'évolution de la concentration en styrène en fonction du temps. Pour cela, les pics caractéristiques du CH₂ de la double liaison du monomère sont comparés avec un pic étalon comme le pic CH₃ du solvant par exemple (figure III.12).

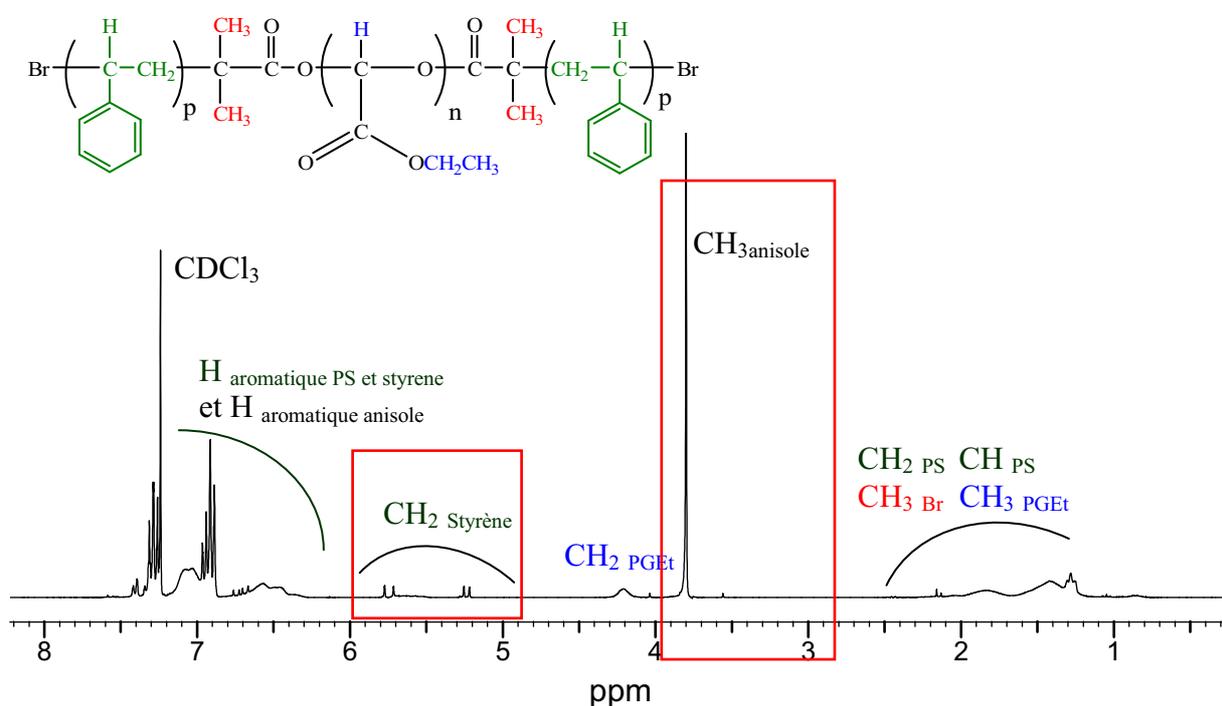


Figure III.12 : RMN ¹H du milieu réactionnel au cours d'une étude cinétique.

L'évolution de la conversion en fonction du temps de réaction à 110°C est présentée dans la figure III.13 suivante.

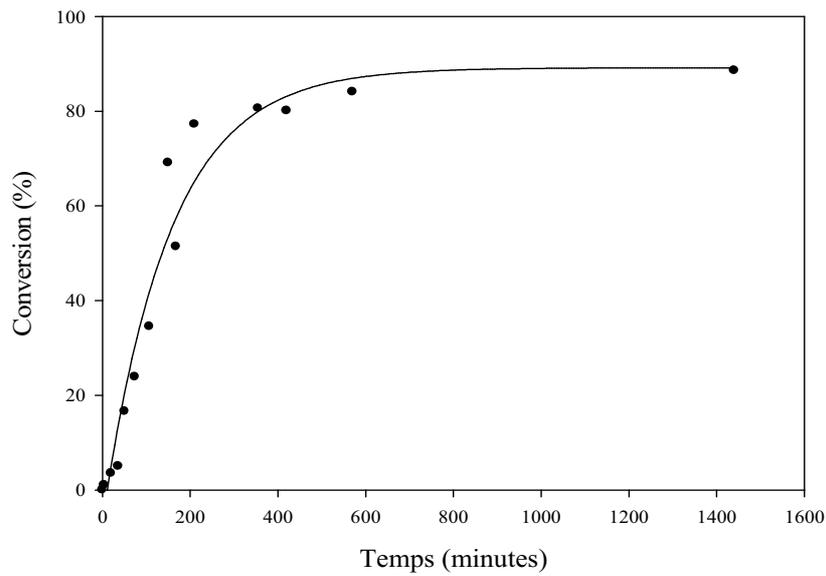


Figure III.13 : Evolution de la conversion en fonction du temps de polymérisation du styrène.

On peut observer que la réaction n'est pas totale et atteint environ 90% de rendement après six heures.

La figure III.14 présente les chromatogrammes obtenus au cours de l'étude cinétique.

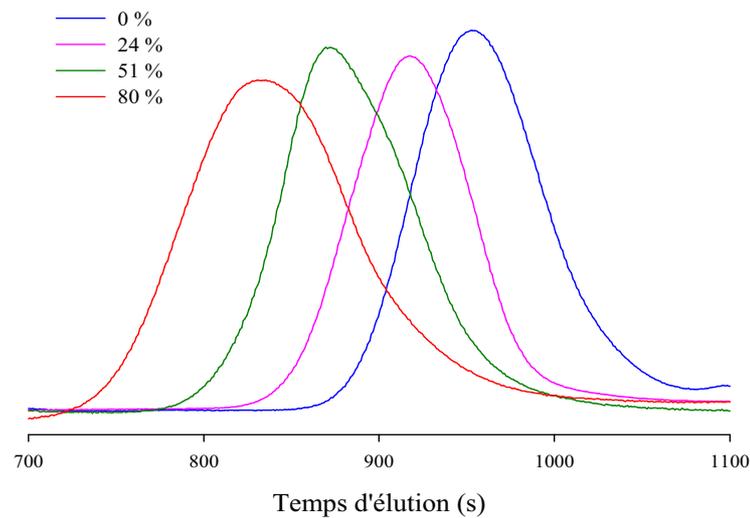


Figure III.14 : Evolution des chromatogrammes au cours de la copolymérisation.

Le déplacement des pics confirme l'augmentation de la masse molaire du copolymère au cours de la réaction. Les masses RMN sont déterminées (cf III.3.2) tandis que les masses théoriques sont calculées selon :

$$\overline{Mn}_{th} = 4900 + \text{conv.} \cdot \overline{Xn}_{th} \cdot 104$$

où 4900 correspond à la masse molaire du Br-PGEt-Br et 104 celle du styrène, conv. est la conversion en polystyrène déterminée par le rapport des intégrations du CH₂ du styrène au temps t et à t=0, en gardant l'intégration du CH₃ de l'anisole constante et \overline{Xn}_{th} est le degré théorique de polymérisation du polystyrène ($\overline{Xn}_{th} = \frac{[\text{Styrène}]_0}{[\text{Br-PGEt-Br}]_0} = 160$).

Les évolutions des masses molaires (RMN ¹H et SEC) en fonction de la conversion sont présentées en figure III.15.

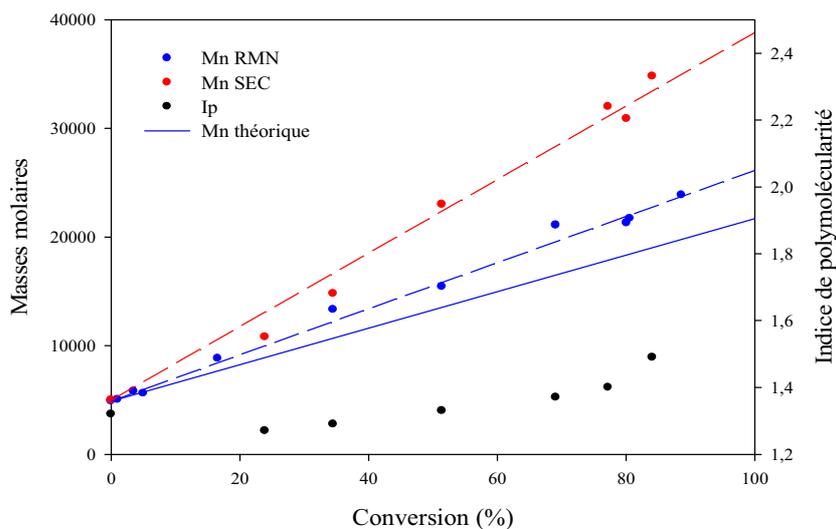


Figure III.15: Evolution des masses molaires et de l'indice de polymolécularité au cours de la copolymérisation.

L'évolution linéaire des masses molaires en fonction de la conversion et la faible évolution de l'indice de polymolécularité confirment le caractère contrôlé de la réaction.

Quelques commentaires supplémentaires permettent de mieux comprendre l'allure des courbes. Tout d'abord, il existe un rapport 2 entre les \overline{Mn}_{SEC} et \overline{Mn}_{th} comme ce qui a été observé lors de la copolymérisation en masse. Il est à noter que ces mesures correspondent aux masses molaires en polymère précipité et qu'en dessous d'environ 25% de conversion, les

copolymères restent solubles dans le méthanol. Ce fractionnement qui ne permet pas de comptabiliser les petites masses molaires est donc responsable de ces valeurs plus élevées.

Ensuite, les $\overline{Mn}_{\text{RMN}}$ sont voisines des $\overline{Mn}_{\text{th}}$ avec une efficacité, $f = \frac{\overline{Mn}_{\text{RMN}}}{\overline{Mn}_{\text{th}}} = 1,3$. Seule l'analyse RMN, qui est réalisée sur l'ensemble du milieu réactionnel, est représentative du processus de polymérisation.

Enfin, d'après l'équation 2 du paragraphe III.1 :

$$\ln\left(\frac{[M]_0}{[M]_t}\right) = k_{\text{app}} t \quad (\text{équation 2})$$

Nous avons tracé $\ln([M]_0/[M])$ en fonction du temps de réaction (figure III.16).

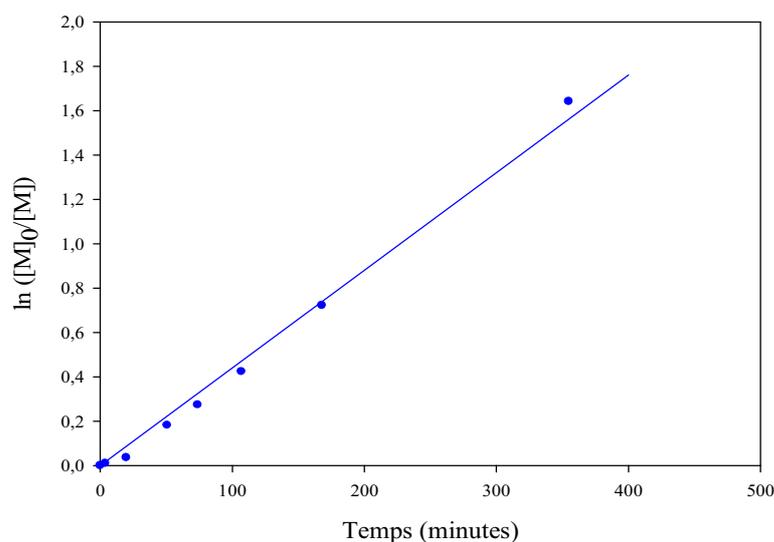


Figure III.16 : Evaluation de l'ordre de la cinétique de polymérisation du polystyrène sur le Br-PGEt-Br.

La copolymérisation est d'ordre 1, impliquant que la concentration en radicaux reste constante au cours du temps, ce qui confirme le caractère contrôlé de la réaction.

La constante apparente, k_{app} , observée est de $7,5 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$. Cette valeur est en accord avec celles de la littérature qui se situent, pour le styrène, entre $2,3 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ et $16 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ suivant le macroamorceur et le couple métal/ligand utilisés^(1,14).

III.5 – ANALYSE THERMO-GRAVIMETRIQUE

Les propriétés thermiques des copolymères synthétisés en masse ont été déterminées par analyse thermo-gravimétrique à 10°C/min sous atmosphère inerte (figure III.17).

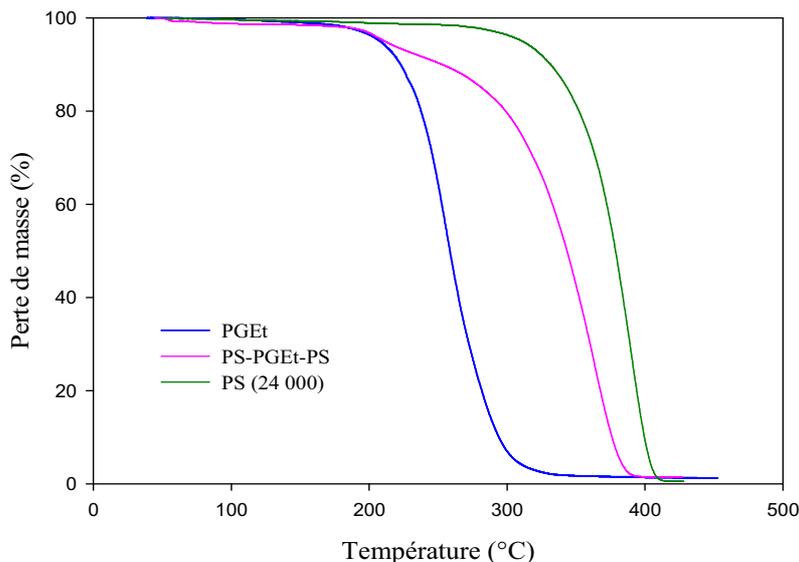


Figure III.17 : Thermogrammes comparés du PGEt, du PS-PGEt-PS et d'un homopolystyrène (PS-PGEt-PS : $\overline{Mn}_{PS} = 17\,000$; $\overline{Mn}_{PGEt} = 4\,900$).

Les résultats obtenus montrent que la tenue thermique du copolymère PS-PGEt-PS est intermédiaire entre celle du macroamorceur et celle du polystyrène de masse molaire voisine. De plus, on note que la dégradation thermique se fait en deux étapes. En effet, on note une première perte de masse à partir de 200°C correspondant au bloc PGEt et une seconde correspondant aux blocs polystyrène.

De plus, une étude a été menée sur l'évolution de la tenue thermique au cours de l'analyse cinétique (figure III.18).

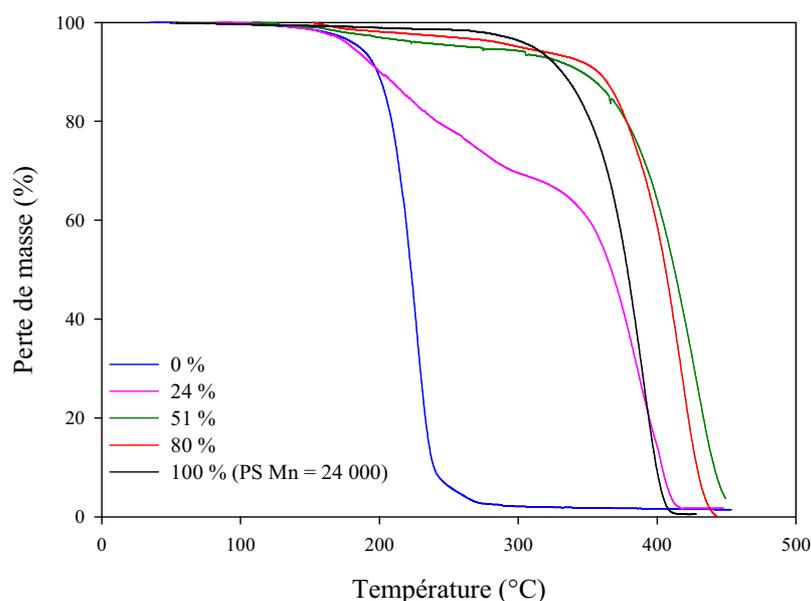


Figure III.18 : Evolution des thermogrammes au cours de la copolymérisation.

Ces résultats démontrent que la tenue thermique évolue au cours de la copolymérisation. En effet, si les deux étapes de la dégradation sont toujours observées, leur importance varie avec le taux de PGET.

Le PGET terminé par le bromure de 2-bromo-2-méthyl propionyle est utilisable comme amorceur de l'ATRP du styrène et permet la synthèse de copolymères à blocs de type ABA.

De plus, dans ce cas particulier, l'ajout de bloc polystyrène améliore les propriétés thermiques du PGET.

III.6 – ETUDE DE LA STABILITE DU BR-PGET-BR

En règle générale, les études de copolymérisation sont réalisées dans les heures, voire les jours, qui suivent la synthèse et la purification du Br-PGET-Br. Cependant, au cours de nos études cinétiques, certaines anomalies sont apparues.

Afin d'étudier l'effet du vieillissement du Br-PGEt-Br sur la cinétique de copolymérisation du styrène, une étude simple a été effectuée. Pour cela, un suivi cinétique identique à celui présenté précédemment, soit Br-PGEt-Br/CuBr/PMDETA/Styrène : 1/2/2/160 et à 50 % dans l'anisole, a été réalisé à différents temps de vieillissement du macroamorceur, c'est-à-dire lorsque le Br-PGEt-Br est laissé à température ambiante et sans précautions particulières. Les résultats obtenus pour des suivis à 1, 8, 18, 28 et 35 jours après la synthèse et la purification du Br-PGEt-Br sont reportés figure III.19.

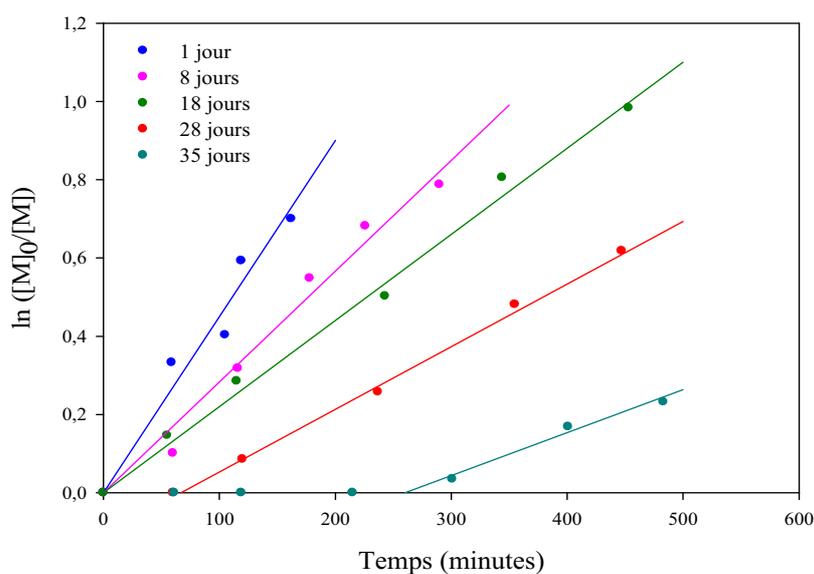


Figure III.19 : Cinétiques de polymérisation du styrène en fonction du temps de stockage du Br-PGEt-Br.

Du 1^{er} au 18^{ème} jour, aucun changement n'est visible sur le spectre RMN ¹H du PGEt avant polymérisation. Cependant, lorsque le mélange est placé à 110°C, température de copolymérisation, un pic, correspondant au GEt, apparaît et augmente tout au long du vieillissement (figure III.20). Les cinétiques restent d'ordre 1 mais les pentes diminuent.

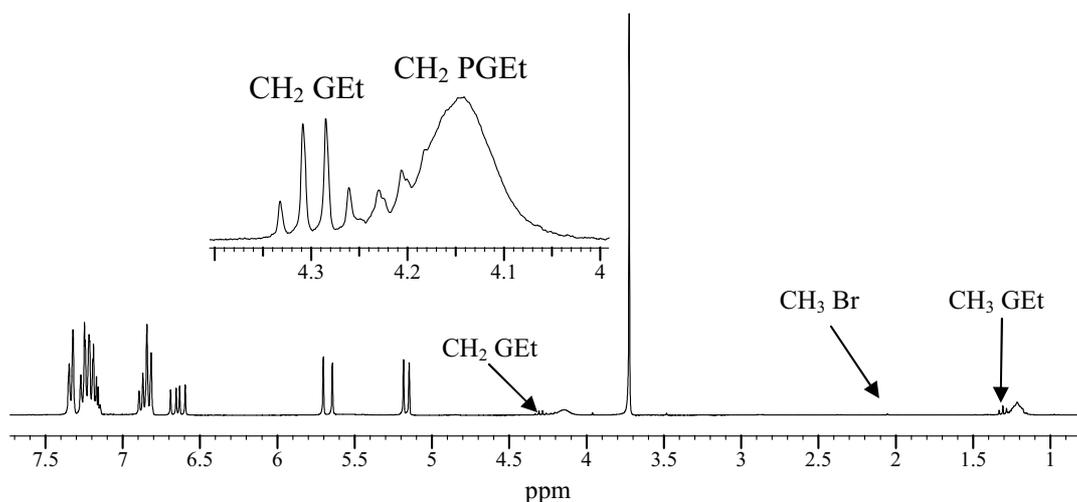


Figure III.20 : Spectre RMN ^1H lors d'une cinétique ATRP en solution à 110°C .

Du 28^{ème} au 35^{ème} jour, le GEt est présent sur le spectre RMN ^1H à température ambiante. La cinétique est toujours d'ordre 1 mais un effet inhibiteur s'ajoute à l'effet retardateur et augmente au fur et à mesure du vieillissement du Br-PGEt-Br.

La variation de la constante apparente de polymérisation (k_{app}) en fonction du temps de stockage est présentée figure III.21.

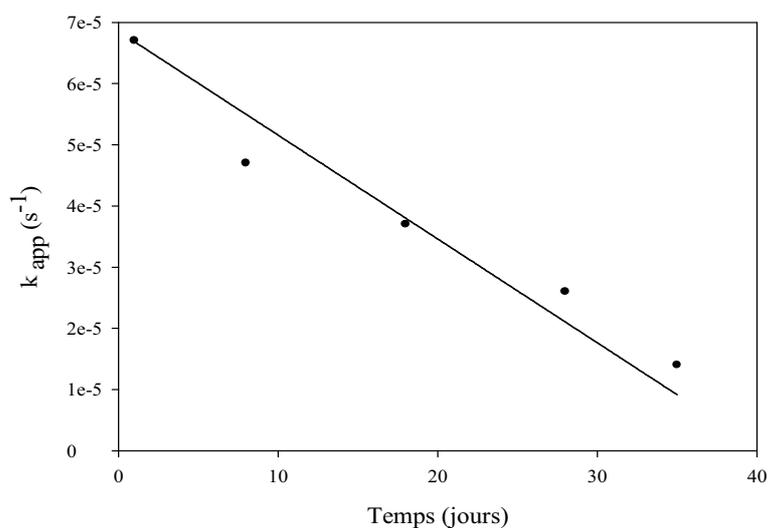


Figure III.21 : k_{app} en fonction du temps de stockage du PGEt-Br.

Deux hypothèses peuvent être émises quant à cette diminution de la vitesse de polymérisation : soit, une disparition progressive des extrémités actives, soit un effet retardateur dû à la présence de produits de dégradation.

Nous avons reporté figure III.24 la variation de k_{app} en fonction de l'intensité du pic correspondant au CH_3 de l'extrémité bromée.

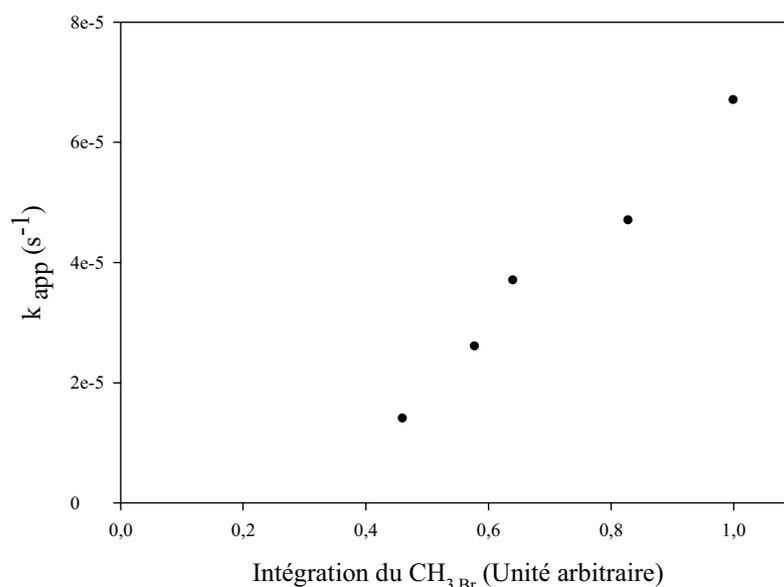


Figure III.22 : k_{app} en fonction de l'intégration du CH_3 de l'extrémité bromée.

Nous obtenons une droite qui ne passe pas par zéro. Cependant, dans le domaine considéré, cette variation linéaire montre clairement que la décroissance de la vitesse de polymérisation est directement liée à la disparition des extrémités actives. Ce phénomène peut être dû soit à une débromation⁽¹⁴⁾, soit à une déhydrobromation. Dans ce dernier cas, on peut s'attendre à une hydrolyse des esters pendants et/ou des coupures de chaînes responsables de l'apparition du GET.

A partir du 28^{ème} jour, l'effet inhibiteur observé pourrait être dû à la présence de fonctions acide carboxylique, voire d'autres sous-produits, dans le milieu qui entraînent une formation plus lente du centre catalytique^(15,16,17).

III.7 – CONCLUSION

Après avoir confirmé que le PGEt terminé par le bromure de 2-bromo-2-méthyl propionyle possédait effectivement deux extrémités bromées, une première étude de copolymérisation du styrène en masse a mis en évidence que le Br-PGEt-Br est un macroamorceur efficace d'ATRP. L'étude cinétique démontre que la réaction est d'ordre 1. Cependant, les masses molaires obtenues par RMN ^1H et SEC, bien qu'évoluant linéairement en fonction de la conversion, sont supérieures à la théorie.

De plus, nous avons pu vérifier que l'extrémité active évoluait au cours d'un vieillissement à température ambiante et sans précautions particulières de stockage. Il s'ensuit une diminution de la vitesse de polymérisation, associée à un effet inhibiteur.

Nous avons également pu confirmer qu'il était possible de jouer sur les propriétés thermiques des copolymères en jouant sur la taille des différents blocs. En effet, les propriétés thermiques des copolymères ABA synthétisés sont comprises entre celles du macroamorceur et d'un polystyrène de même masse molaire.

Cette voie d'accès à des copolymères à blocs mériterait d'être poursuivie en utilisant d'autres monomères afin d'apporter des propriétés spécifiques comme l'héxaéthyl méthacrylate^(18, 19, 20) ou l'acrylamide^(21, 22) qui conduisent à des polymères biocompatibles.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 - T. E. Patten, K. Matyjaszewski, *Adv. Mater.*, 10 (12), 901, **1998**.
- 2 - D. A. Shipp, X. Yu, *J. of Pol. Sci.: Part A: Pol. Chem.*, 42, 5548, **2004**.
- 3 - H. Fischer, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 37, 1885, **1999**.
- 4 - Y. Shen, H. Tang, S. Ding, *Prog. Polym. Sci.*, 24, 1053, **2004**.
- 5 - W. Jakubowski, K. Matyjaszewski, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 45, 4482, **2006**.
- 6 - Y. Ma, Y. Tang, N. C. Billingham, S. P. Armes, *Macromolecules*, 36, 3475, **2003**.
- 7 - L. Tao, G. Mantovani, F. Lecolley, D. M. Haddleton, *J. Am. Chem. Soc.*, 126, 13220, **2004**.
- 8 - J.H. Truelsen, J. Kops, W. Batsberg, S. P. Armes, *Macromol. Chem. Phys.*, 203 (14), 2124, **2002**.
- 9 - J. T. Wiltshire, G. Q. Qiao, *Macromolecules*, 39, 9018, **2006**.
- 10 - A. A. Farah, N. Hall, S. Morin, W. J. Pietro, *Polymer*, 47, 4282, 2006.
- 11 - Y. Deng, T. Yu, Y. Wan, Y. Shi, Y. Meng, D. Gu, L. Zhang, Y. Huang, C. Liu, X. Wu, D. Zhao, *J. Am. Chem. Soc.*, 129, 1690, **2007**.
- 12 - V. Coessens, T. Pintauer, K. Matyjaszewski, *Prog. Polym. Sci.*, 26, 337, **2001**.
- 13 - X. Sun, H. Zhang, X. Huang, X. Wang, Q.-F. Zhou, *Polymer*, 46, 5251, **2005**.
- 14 - K. Matyjaszewski, T. P. David, *Handbook of radical polymerization*, John Wiley and sons, **2002**.
- 15 - C. Hou, L. Ying, C. Wang, *J. Appl. Pol. Sci.*, 99, 1050, **2006**.
- 16 - W. Xu, X. Zhu, Z. Cheng, J. Chen, *J. Appl. Pol. Sci.*, 90, 1117, **2003**.
- 17 - M. Kamigaito, T. Ando, M. Sawamoto, *Chem Rev.*, 101, 3689, **2001**.
- 18 - T.-L. Wang, Y.-Z. Liu, B.-C. Jeng, Y.-C. Cai, *J. Polymer Res.*, 12, 67, **2005**.
- 19 - Y. Cai, S. P. Armes, *Macromolecules*, 38, 271, **2005**.
- 20 - K. L. Robinson, M. A. Khan, M. V. de Paz Banez, X. S. Wang, S. P. Armes, *Macromolecules*, 34, 3155, **2001**.
- 21 - H. B. Sonmez, B. F. Senkal, D. C. Sherrington, N. Bicak, *React. Funct. Polym.*, 55, 1, **2003**.
- 22 - S. K. Jewrajka, B. M. Mandal, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 42, 2483, **2004**.

CHAPITRE IV :

DEGRADATION DU

POLYGLYOXYLATE D'ETHYLE

Les polyglyoxylates sont des polyacétals sensibles à l'hydrolyse. Le polyglyoxylate de méthyle a fait l'objet d'une étude de dégradation fine par Brachais^(1,2). Les résultats montrent que les produits ultimes formés sont le méthanol et l'acide glyoxylique. Cependant, en milieu confiné, d'autres produits ont pu être identifiés au cours de l'hydrolyse (figure I.12 p.18).

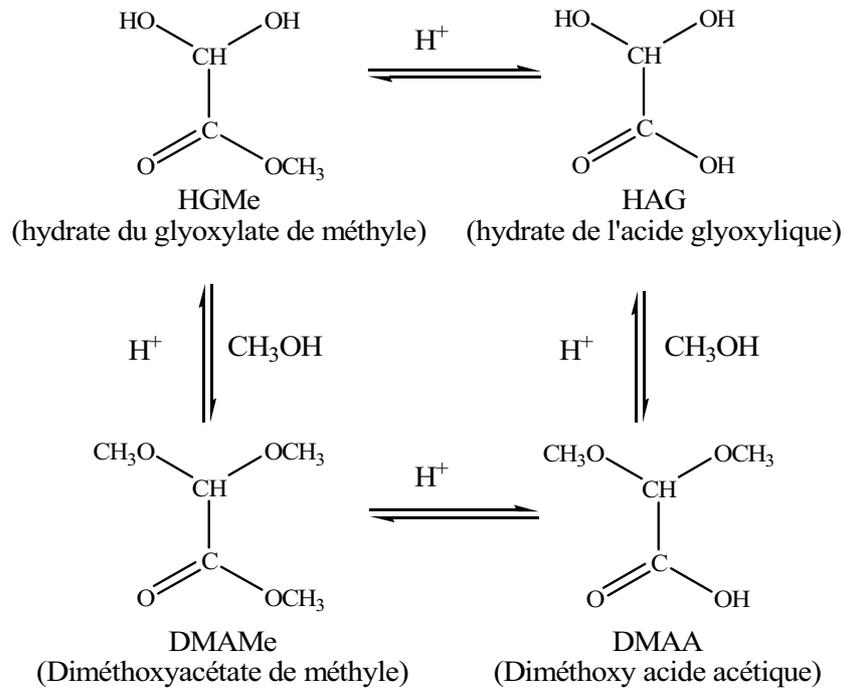


Figure I.12 : Molécules identifiées lors de la dégradation du PGMe en milieu confiné.

En nous basant sur les résultats obtenus pour le PGMe, une étude de dégradation par hydrolyse in vitro a été effectuée en suivant la prise en eau, la perte de masse et les évolutions pHmétrique, chromatographique (SEC) et spectroscopique (RMN ¹H).

IV.1 – ÉTUDE PRELIMINAIRE SUR MOLECULES MODELES

Dans cette première partie, nous analyserons le comportement des petites molécules pouvant apparaître dans le mécanisme de dégradation du PGEt.

IV.1.1 – Hydrate de l'acide glyoxylique

D'après le squelette de la chaîne polyglyoxylate d'éthyle, l'hydrate de l'acide glyoxylique (HAG) est le produit ultime de dégradation attendu en milieu aqueux. C'est pourquoi nous avons décidé d'étudier en détail ce composé qui se présente sous forme d'une poudre blanche.

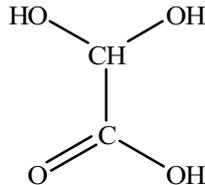


Figure IV.1 : Hydrate de l'acide glyoxylique (HAG).

Dans un premier temps, nous avons mesuré le pH du HAG dans l'eau distillée thermostatée à 37°C. Ces mêmes conditions, simulant la température du corps humain, seront maintenues lors du suivi pHmétrique de la dégradation du PGEt. Le pH du HAG à une concentration de $15 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ est de 2,3 ce qui correspond à un pKa de 2,8 selon :

$$\text{pKa} = 2 \left(\text{pH} + \frac{1}{2} \log C \right)$$

où C est la concentration en HAG dans le milieu.

Nous avons ensuite réalisé le spectre RMN ^1H du HAG à différents pH, en milieux tamponnés. Les spectres obtenus sont identiques quand l'acide glyoxylique monohydraté est placé uniquement dans D_2O ou à des pH acide ou neutre. Lorsqu'il est étudié à $\text{pH} = 9$, en présence de tétraborate de sodium comme agent tamponnant du mélange, on observe un déplacement du pic du HAG ainsi que l'apparition d'un second pic correspondant à la forme sel de sodium du HAG, le HGNa (figure IV.2). Ce déplacement est dû au fait qu'à pH basique les deux formes extrêmes HAG et HGNa cohabitent et sont clairement identifiées alors qu'aux autres pH un déplacement chimique intermédiaire est observé en raison de l'équilibre rapide entre la forme acide et sa base conjuguée.

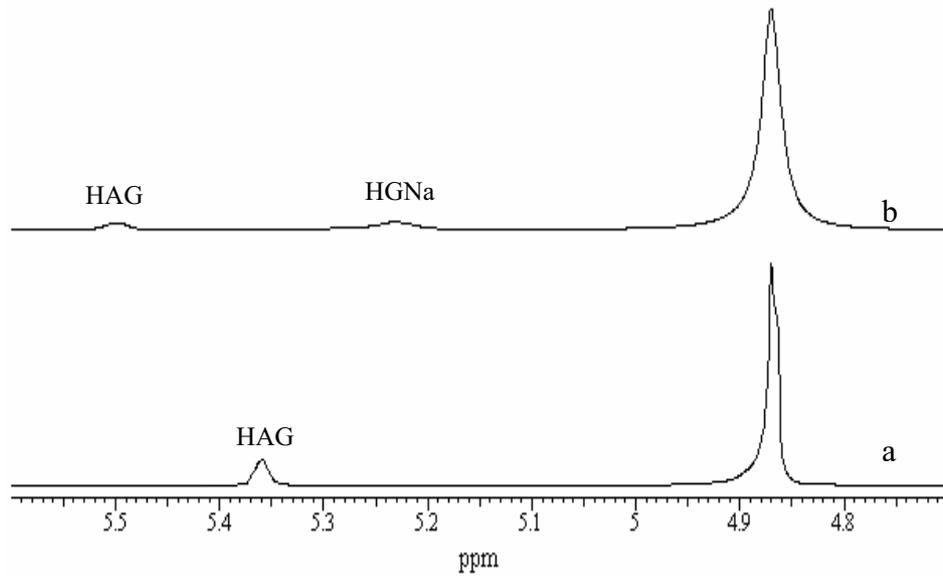


Figure IV.2 : Spectre RMN ^1H de l'hydrate de l'acide glyoxylique dans D_2O (a) et dans D_2O tamponné à $\text{pH} = 9$ (b).

La dégradation du PGEt étant effectuée dans un tube RMN, c'est-à-dire en milieu fermé, le HAG sera en présence d'éthanol. Or il a été montré que le HAG réagissait sur les alcools pour conduire aux esters correspondants⁽³⁾. Nous avons ainsi étudié l'évolution du spectre RMN ^1H du HAG en présence d'un excès d'éthanol. Ces conditions devraient favoriser la formation de l'hydrate du glyoxylate d'éthyle (HGEt) à partir du HAG, comme cela a été observé par Brachais pour le GMe.

Dans nos conditions, l'analyse RMN ^1H ne montre que des signaux de très faibles intensités attribuables à la formation de l'hydrate de glyoxyate d'éthyle (HGEt). Nous considérerons donc que le HAG, en milieu aqueux, ne réagira pas ou peu avec l'éthanol lors de la dégradation du PGEt (figure IV.3).

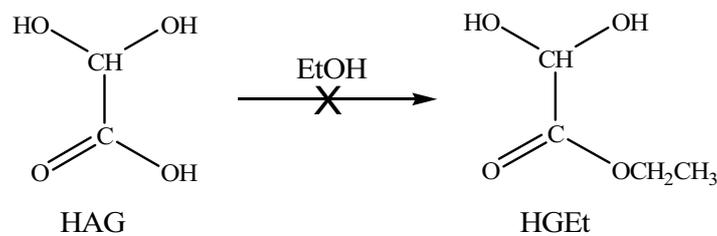


Figure IV.3 : HAG en présence d'un excès d'éthanol.

IV.1.2 – Dégradation de l'hydrate de glyoxylate d'éthyle

Ce sont les coupures de chaînes se produisant lors de la dégradation du PGEt par hydrolyse qui conduisent au monomère, GEt, sous sa forme hydratée HGEt (figure IV.4).

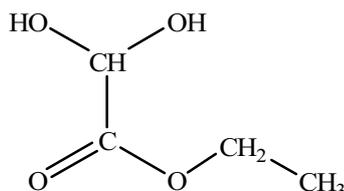


Figure IV.4 : Hydrate du glyoxylate d'éthyle (HGEt).

Le GEt est insoluble dans l'eau, mais, placé dans D₂O il forme instantanément son hydrate qui lui est soluble (figure IV.5.a). Le suivi de la stabilité du HGEt dans l'eau a alors pu être réalisé par RMN ¹H.

Lors de l'évolution du spectre RMN ¹H au cours du temps, on remarque une rapide transformation du HGEt en HAG avec apparition d'éthanol.

A t = 0 jours, on observe exclusivement les 3 signaux du HGEt : CH à 5,30 ; CH₂ à 4,25 et CH₃ à 1,25 ppm.

A t = 1 jour, la dégradation a commencé et on observe la présence de nouveaux pics correspondants à l'éthanol et au HAG (dédoublé du pic de HGEt à 5,28 ppm).

A t = 7 jours, les pics de HGEt sont à peine observables et de nouveaux signaux de très faibles intensités apparaissent pouvant appartenir à des formes acétal, le diéthoxyacétate d'éthyle (DEAE) et/ou le diéthoxy acide acétique (DEAA). Une étude plus approfondie de ces composés a été effectuée.

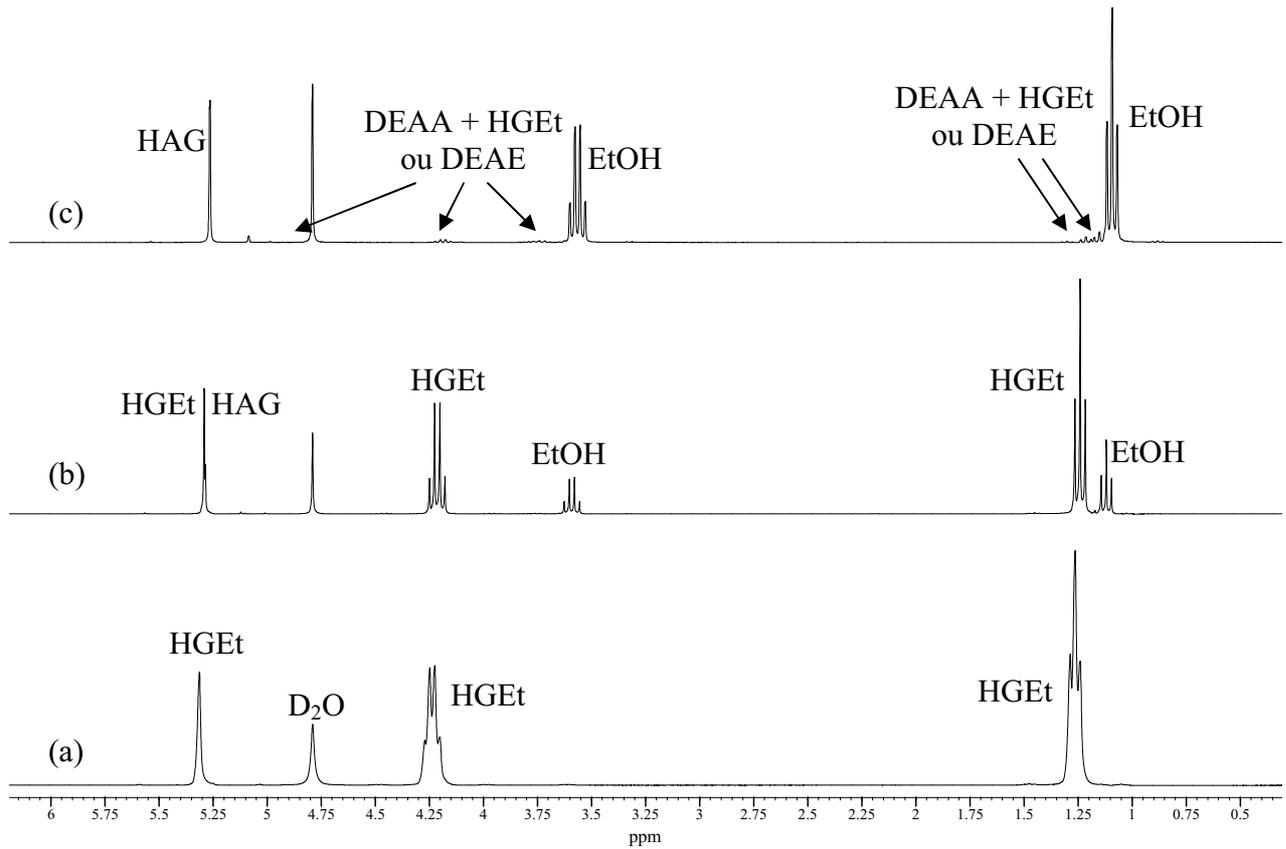


Figure IV.5 : Spectres RMN ^1H de l'hydrate du glyoxylate d'éthyle dans D_2O à $t = 0$ (a), 1 jour (b) et 7 jours (c) de dégradation.

IV.1.3 – Diéthoxyacétate d'éthyle

Le diéthoxyacétate d'éthyle (DEAE) se présente sous la forme d'un liquide incolore. Il nous a été fourni par la société Clariant.

Nous avons suivi la dégradation du DEAE dans D_2O par RMN ^1H . Les spectres obtenus à $t = 0$ et $t = 16$ jours sont présentés ci-après en figure IV.6.

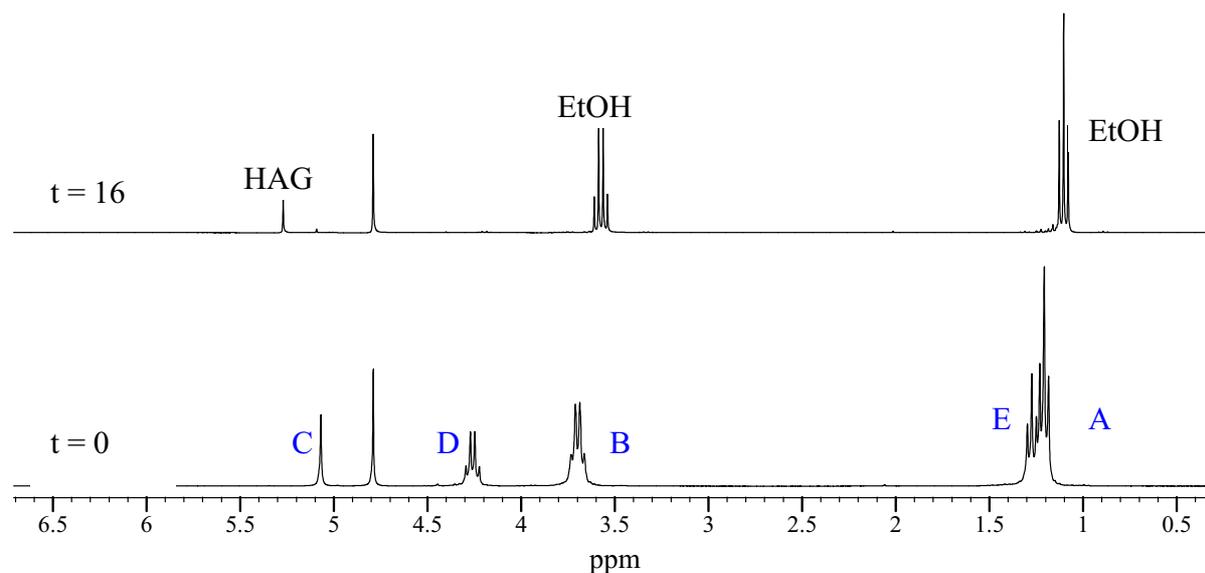


Figure IV.6 : Spectre RMN ^1H du diéthoxy acétate d'éthyle dans D_2O à $t = 0$ et 16 jours.

Les signaux de tous les protons de DEAE sont identifiés à $t = 0$. Au bout de 16 jours, le DEAE n'est plus détectable que sous forme de traces et les seules espèces majoritaires encore présentes sont le HAG et l'éthanol.

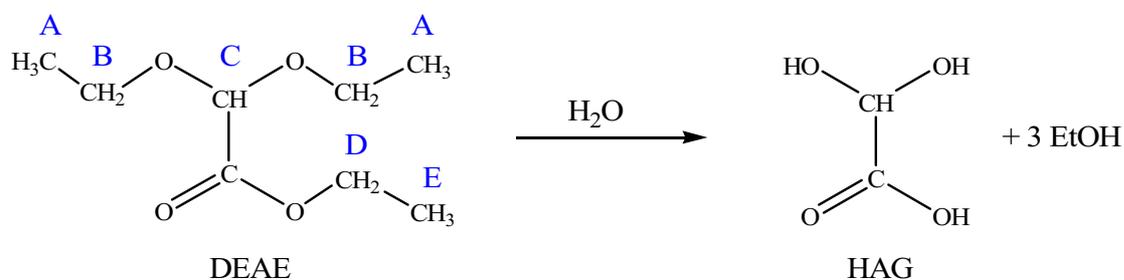


Figure IV.7 : Evolution du diéthoxy acétate d'éthyle (DEAE) dans l'eau.

Nous avons alors étudié le comportement du HGEt en présence d'un excès d'éthanol afin d'observer si la formation d'hémiacétal ou acétal (DEAA et/ou DEAE) était possible comme dans le cas du HGMe par RMN ^1H (figure IV.8).

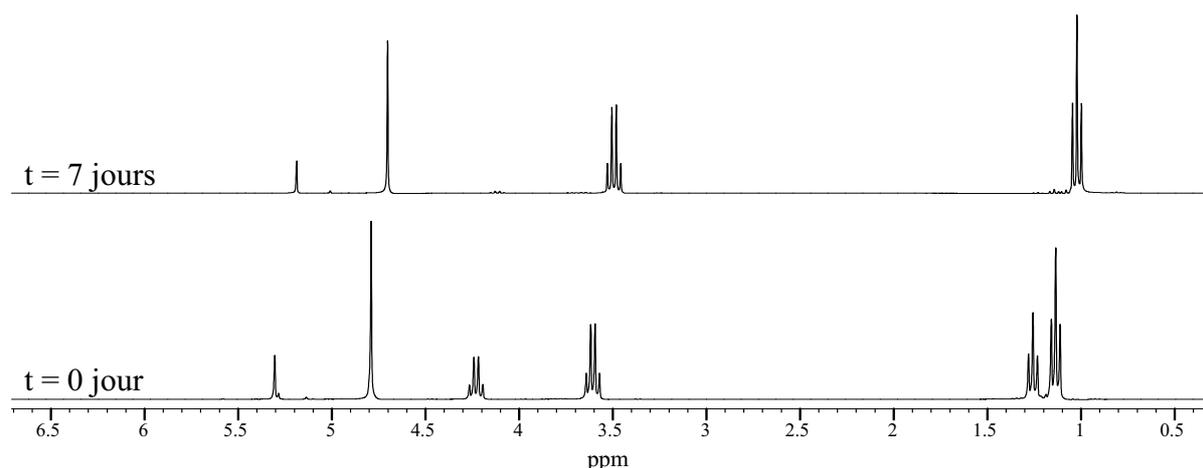


Figure IV.8 : Spectres RMN ^1H de l'hydrate de glyoxylate d'éthyle en présence d'un excès d'éthanol à $t = 0$ et 7 jours.

Dès le 1^{er} jour de dégradation le HGET libère de l'éthanol car le rapport des intégrations des pics HGET/éthanol diminue.

À $t = 7$ jours, les signaux du HGET ne sont plus détectables que sous forme de traces et les pics principaux restants sont ceux du HAG et de l'éthanol. Ainsi en milieu aqueux (conditions d'hydrolyse du PGET), et malgré la présence d'éthanol, le HGET conduit presque exclusivement au HAG et seules des traces pourraient être attribuées à la présence de DEAE et/ou DEAA.

IV.1.4 – Mécanisme de dégradation du HGET

Le tableau IV.1 résume les déplacements chimiques des différentes molécules analysées.

Signal	HAG	HGET	DEAE	DEAA
CH	5,25	5,30	5,10	5,05
CH ₂ ester	-	4,25	4,25	-
CH ₃ ester	-	1,25	1,25	-
CH ₂	-	-	1,20	1,20
CH ₃	-	-	3,70	3,70

Tableau IV.1 : Déplacements chimiques des protons du HAG, HGET, DEAE et DEAA.

Les déplacements chimiques des protons du HGEt, DEAE et DEAA s'avèrent très proches. Il est donc difficile de conclure sur le mode de dégradation du DEAE. On peut penser qu'il conduit au HAG à la fois en passant par la forme HGEt et par la forme DEAA.

Ainsi, nous retiendrons le schéma présenté en figure IV.9 représentant le comportement des petites molécules en milieu aqueux, et où les flèches en pointillé sont des réactions susceptibles de se produire mais que très faiblement observées dans nos conditions.

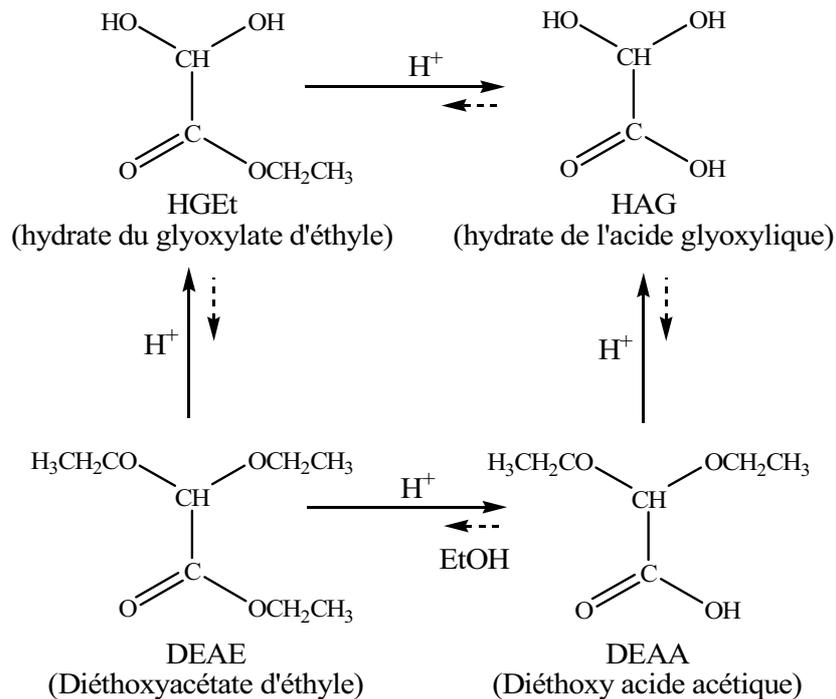


Figure IV.9 : Molécules identifiées lors de la dégradation du HGEt en milieu confiné.

IV.2 – DEGRADATION DU POLYGLYOXYLATE D'ETHYLE

Toutes les analyses ont été effectuées sur des films de PGEt terminé par le phényl isocyanate et en atmosphère humide à 37°C pour simuler la température corporelle humaine. La dégradation a été suivie par pesée (prise en eau et perte de masse du matériau), par pHmétrie (formation de fonctions acide), par chromatographie d'exclusion stérique (évolution

des masses molaires), par RMN ^1H (identification des molécules hydrosolubles libérées) et par DSC (évolution de la Tg).

L'hydrolyse du PGEt est une réaction hétérogène car il est insoluble dans l'eau mais conduit à la libération de produits hydrosolubles. Cette réaction dépend de la géométrie et de la surface de l'échantillon. C'est pourquoi, nous avons pris la précaution de travailler avec des films de PGEt de faible épaisseur (0,3mm) et de surfaces similaires (environ 0,5 cm²).

Dans un premier temps, des films de PGEt ont été placés dans une étuve saturée en eau à 37°C. Régulièrement, quatre échantillons sont pesés (étude de la prise en eau) et séchés 48 heures sous vide (0,1 mbar) à 50°C. Ils sont alors repesés (étude de la perte de masse) et deux d'entre eux sont analysés par SEC (suivi des masses molaires) tandis que les deux autres permettent le suivi DSC (évolution de la température de transition vitreuse).

Une seconde étude a porté sur le comportement du PGEt directement dans l'eau, par pHmétrie d'une part et par RMN ^1H d'autre part.

IV.2.1 – Etude à 37°C en atmosphère saturée en eau

Dans un premier temps, nous présenterons les différents résultats obtenus, puis ceux-ci seront discutés globalement au paragraphe IV.2.1.e.

IV.2.1.a – Prise en eau

L'évaluation de la prise en eau a été effectuée par pesées régulières de films de PGEt. Elle montre que pendant les vingt premiers jours, la prise en eau est faible, inférieure à 1,5%. Puis, jusqu'au 30^{ème} jour, l'augmentation est franche et rapide pour arriver à une prise en eau de 35% environ correspondant à 2 molécules d'eau. A partir du 30^{ème} jour, un plateau est observé (Figure IV.10).

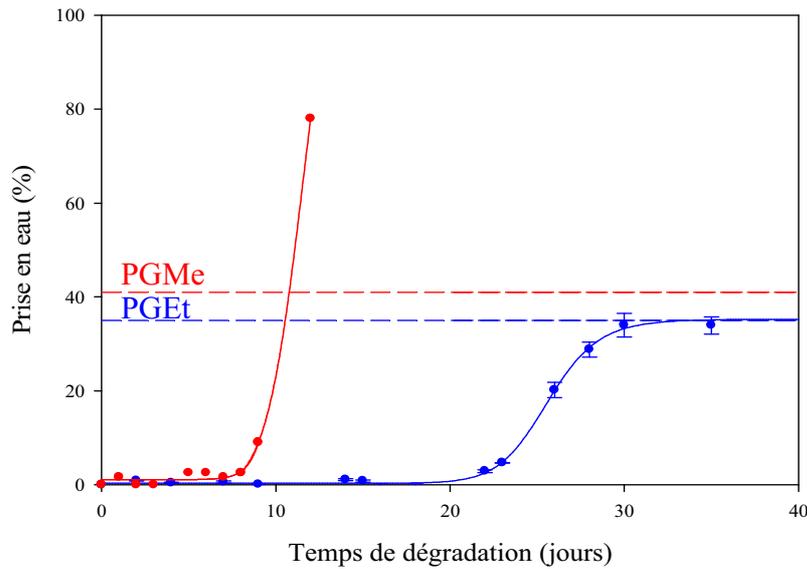


Figure IV.10 : Prise en eau de films de PGEt (—) et de PGMe⁽⁴⁾ (—) placés en atmosphère saturée d'eau à 37°C.

Ce résultat ne correspond pas à celui du PGMe, moins hydrophobe, pour lequel il a été observé une plastification du polymère par l'eau dans un premier temps. A partir du 9^{ème} jour une dégradation importante des chaînes polymères de PGMe est observée qui correspond à la formation de HAG. L'évaporation rapide du méthanol ($T_{\text{ébullition}} = 65^{\circ}\text{C}$) est largement compensée par le fort caractère hygroscopique du HAG.

IV.2.1.b – Perte de masse

Toutes les évolutions de masse ont été attribuées uniquement à la dégradation du PGEt. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure IV.11. Durant les 9 premiers jours, la masse des échantillons reste inchangée. Puis, jusqu'au 15^{ème} jour, une légère perte de masse (5%) est observée. Après 15 jours d'analyse, une perte importante de masse a lieu, jusqu'à arriver à environ 72% de la masse initiale en moins de 30 jours. Finalement, plus aucune évolution de masse n'est observée.

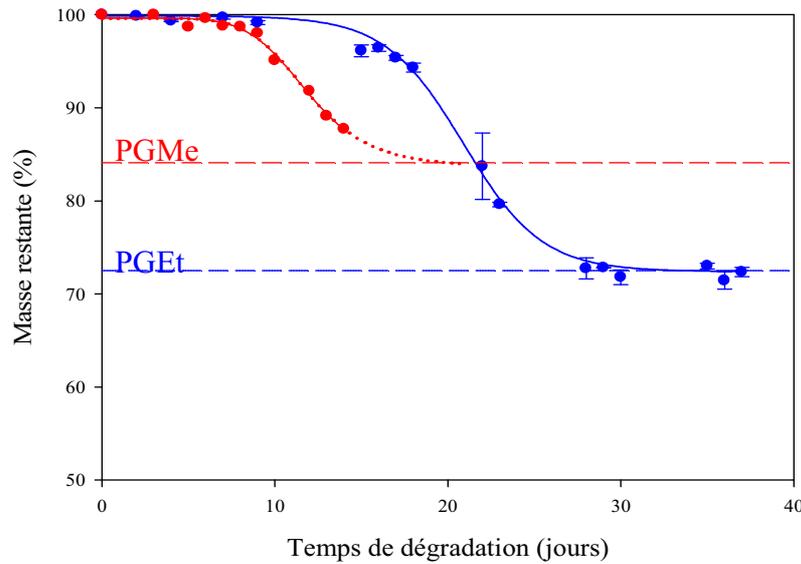


Figure IV.11 : Masse restante de films de PGEt (—) et de PGMe⁽⁴⁾ (—) placés en atmosphère saturée d'eau à 37°C ; (--) masse théorique restante si seul l'éthanol est libéré.

Toujours en raison de son caractère plus hydrophobe, la dégradation du PGEt est plus lente que celle du PGMe.

De plus, nous pouvons noter que la perte de masse du PGEt se stabilise vers -28%, ce qui correspond à la perte d'une molécule d'éthanol ($\frac{m_{AG}}{m_{GEt}} = \frac{74}{102} = 72,5\%$). Ce résultat est en accord avec celui du PGMe dont la perte de masse n'excède pas les 16% et correspond à une molécule de méthanol ($\frac{m_{AG}}{m_{GMe}} = \frac{74}{88} = 84\%$).

IV.2.1.c – Chromatographie d'exclusion stérique

Les échantillons utilisés pour la prise en eau et la perte de masse, ont ensuite été analysés par SEC à l'aide d'un étalonnage polystyrène (figure IV.12). De plus, le dichlorométhane étant le solvant d'analyse, seules les chaînes de PGEt sont solubilisées, les produits libérés lors de sa dégradation (HAG, HGEt, poly(acide glyoxylique)...) étant uniquement hydrosolubles.

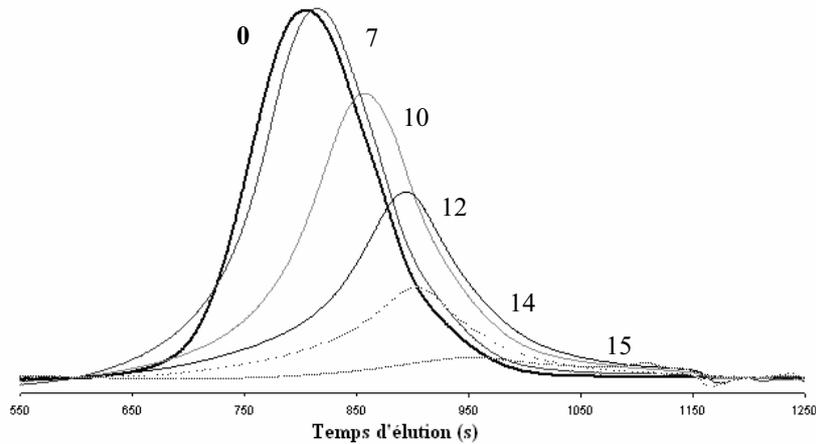


Figure IV.12 : Evolution des chromatogrammes de films de PGEt placés dans une atmosphère saturée d'eau à 37°C.

Jusqu'au 4^{ème} jour, aucun changement du chromatogramme n'est observé. Ensuite, il y a un déplacement et un élargissement progressif du pic indiquant une diminution des masses molaires et une augmentation de l'indice de polymolécularité (figure IV.13). A partir du 16^{ème} jour, plus aucun pic n'a pu être détecté, le mélange étudié étant alors totalement insoluble dans le dichlorométhane.

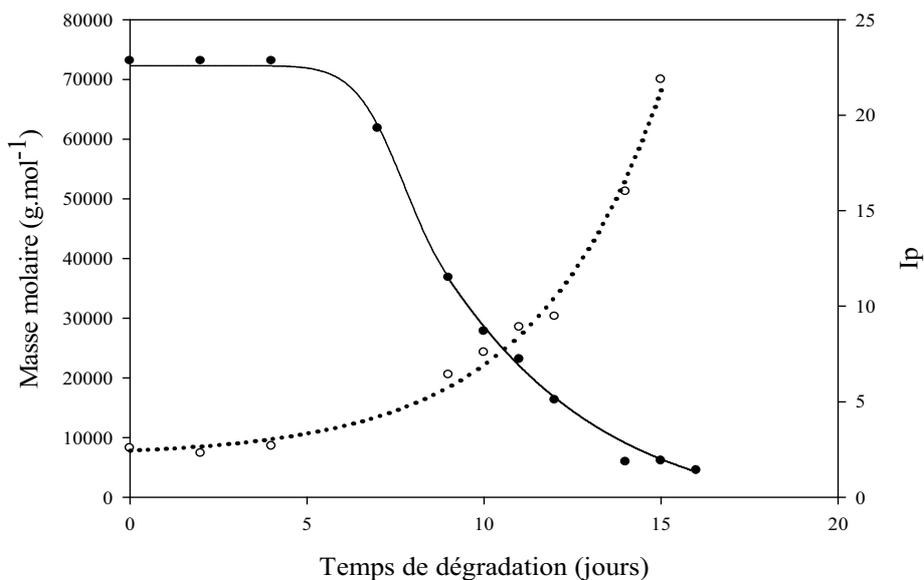


Figure IV.13 : Evolution des masses molaires (●) et de l'indice de polymolécularité (○) de films de PGEt lors de leur dégradation.

IV.2.1.d – Analyse enthalpique différentielle

Une partie des échantillons utilisés pour la perte de masse a été utilisée pour réaliser un suivi de la dégradation par DSC. Dans un premier temps nous avons envisagé deux études, l'une correspondant au mélange sec (équivalent à la perte de masse) et l'autre au mélange hydraté (équivalent à la prise en eau). Cependant, la T_g du PGEt étant faible (environ 7°C) un pic intense de fusion de l'eau (à 0°C) empêche le suivi dans le cas du PGEt hydraté. Seules les T_g , après séchage sous vide ont alors été suivies en fonction du degré d'avancement de la dégradation du PGEt (figure IV.14).

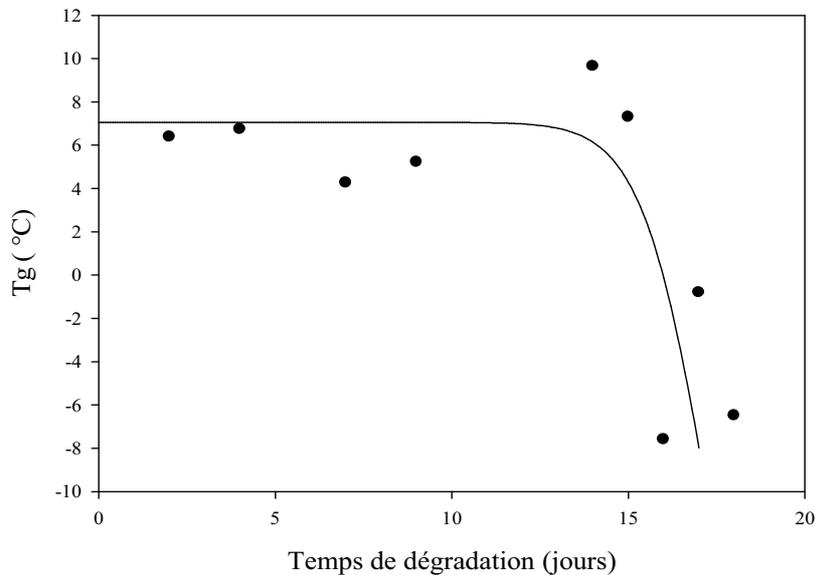


Figure IV.14 : Evolution de la T_g en fonction du temps de dégradation.

La variation de C_p du PGEt à la transition est faible ce qui entraîne une forte incertitude sur les valeurs de T_g . L'allure générale montre qu'il y a peu de changement de la T_g jusqu'au 15^{ème} jour. Puis, on observe une chute brutale d'environ 15°C en 48 heures comme observé pour le PGMe.

IV.2.1.e – Interprétations

L'interprétation de nos résultats repose sur deux hypothèses en termes de cinétiques réactionnelles :

- l'hydrolyse des fonctions ester du PGEt, hydrophobe, est beaucoup plus lente que celle du HGEt, soluble dans l'eau.
- Les réactions de coupures de chaînes, intra et intermoléculaires, catalysées par les fonctions acide carboxylique formées sont rapides.

Dans ces conditions, l'étape limitante est l'apparition lente de fonctions acide carboxylique en début de dégradation, par hydrolyse des fonctions ester pendantes.

Ainsi, d'après la figure IV.13, les coupures de chaînes apparaissent dès 5 jours puis s'accroissent. Les masses molaires passent de 73 000 à 4 500 en 10 jours ce qui correspond en théorie à environ 14 coupures de chaînes, soit 0,3 % d'eau. Ce résultat est en accord avec le début de la courbe de prise en eau (figure IV.10).

De plus, d'après les chromatogrammes, on peut également noter que ces coupures sont statistiques et ne génèrent pas de dépolymérisation. Si c'était le cas, seule l'intensité du pic diminuerait sans influencer l'indice de polymolécularité.

Dans ces conditions, l'éthanol n'apparaîtra, en quantité importante, que lorsque la dégradation sera suffisamment avancée pour générer des molécules de très faibles masses molaires jusqu'au monomère HGEt. L'apparition du HGEt dans le milieu réactionnel, qui s'hydrolyse rapidement en HAG, contribue à l'auto-accélération du processus. C'est ce que nous observons sur la courbe IV.11, où la perte de masse commence à partir du 15^{ème} jour. Cette dégradation rapide est parfaitement mise en évidence sur la courbe IV.14 où la température de transition vitreuse, qui reste sensiblement constante sur la plage de masse molaire 73 000 – 4500, chute brutalement dès le 15^{ème} jour.

D'après ces résultats, le mécanisme de dégradation serait le suivant :

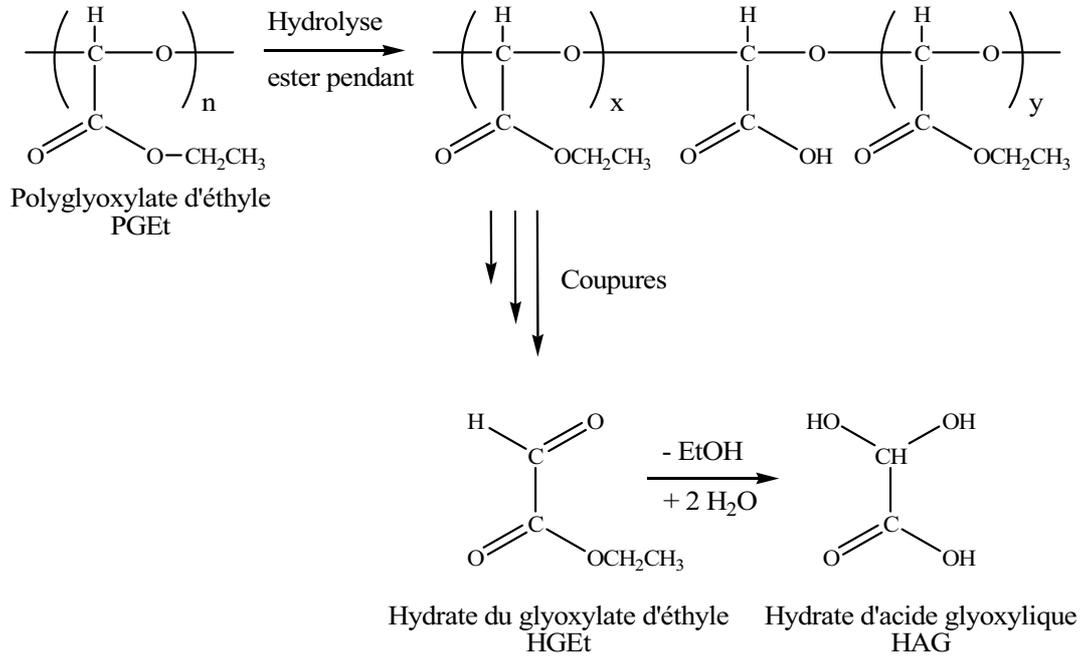


Figure IV.15 : Mécanisme de dégradation du PGEt en atmosphère saturée en eau.

Ce mécanisme justifie l'allure de la courbe IV.10, avec une prise en eau correspondant à deux molécules d'eau, le plateau observé pouvant s'interpréter comme une compensation entre l'évaporation de l'éthanol et une prise en eau associée à l'hygroscopicité du HAG. En effet, l'analyse RMN ^1H du milieu à 40 jours confirme la disparition de l'éthanol.

Concernant la perte de masse (figure IV.11), d'après le mécanisme proposé, on devrait observer un départ d'éthanol et un gain de masse correspondant à une molécule d'eau, pour la formation du HAG, soit une perte de masse de 10 % au lieu des 28 % expérimentaux. Notre interprétation repose sur le mode opératoire utilisé. En effet, avant la pesée, un séchage à 50°C sous vide est réalisé pendant 48 heures. Nous supposons que ces conditions expérimentales déplacent l'équilibre hydrate/aldéhyde, ce dernier s'oligomérisant en poly(acide glyoxylique) (figure IV.16).

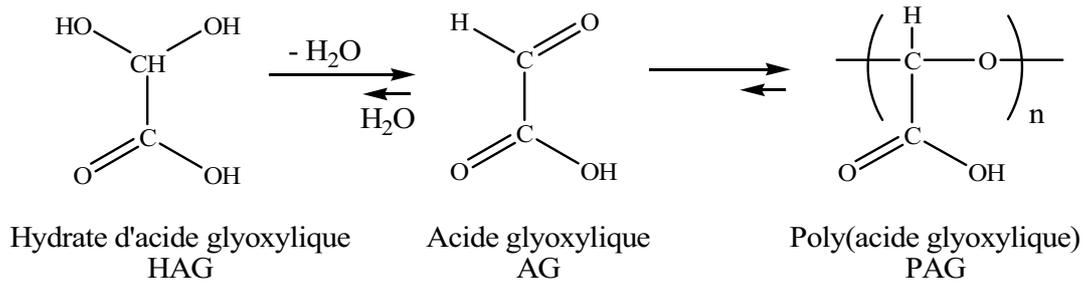


Figure IV.16 : Oligomérisation de HAG lors du séchage.

IV.2.2 – Etude à 37°C dans l'eau

IV.2.2.a – Suivi pHmétrique

De façon à mettre en évidence la formation de fonctions acide carboxylique, obtenues lors de l'hydrolyse des esters pendants du PGEt, un suivi pHmétrique a été effectué. Un film de PGEt a été placé dans de l'eau distillée thermostatée à 37°C (80 mg de PGEt/50 mL d'eau soit une concentration de $15 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$). Durant les 5 premiers jours, aucune évolution du pH n'a été détectée. A partir du 6^{ème} jour, une chute de pH est observée et est attribuée à la présence de fonctions acide carboxylique provenant de l'acide glyoxylique et/ou de motifs acide glyoxylique. On assiste à un phénomène d'auto-accélération important puisqu'à partir du 8^{ème} jour, plus aucun changement de pH n'est détecté (figure IV.17). Après quinze jours, le polymère a disparu, hormis quelques particules jaunes dans le milieu, ces dernières ont été analysées par spectrométrie de masse au IV.2.2.c.

Le pH final, de 2,3 correspond à celui de l'acide glyoxylique monohydraté dans les mêmes conditions de température et de concentration (cf IV.1.1). Les produits de dégradation ultimes sont donc incontestablement le HAG et l'éthanol.

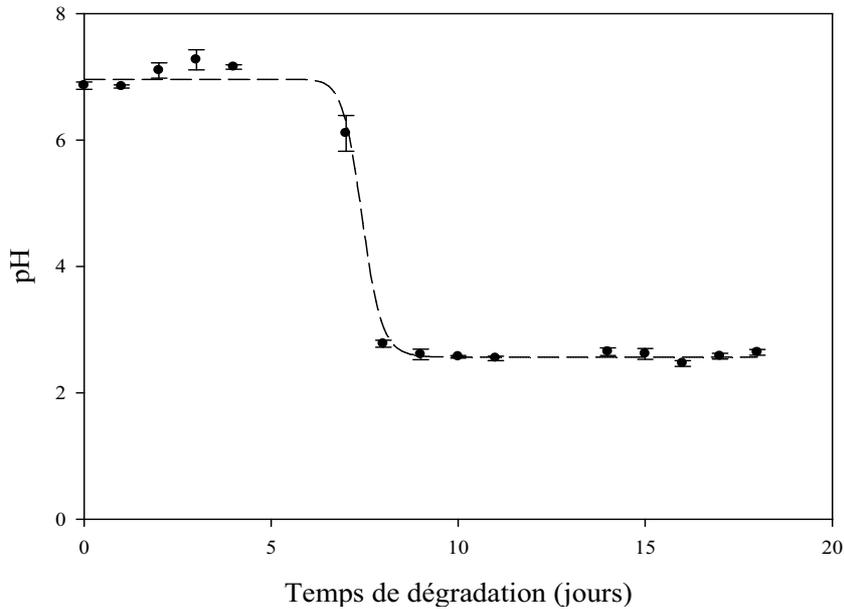


Figure IV.17 : Evolution du pH d'une solution contenant un film de PGEt à 37°C.

IV.2.2.b – Suivi par RMN ^1H

L'analyse de la dégradation du PGMe par RMN ^1H a été très étudiée par Brachais et al.⁽²⁾. Le PGMe étant insoluble dans l'eau, le suivi par RMN ^1H dans D_2O permet d'observer la libération et la cinétique d'apparition des espèces suivantes :

- Méthanol et HGMe (hydrate du glyoxylate de méthyle) à partir du 2^{ème} jour
- HAG (hydrate de l'acide glyoxylique) sous forme acide ou sel de sodium (dû à la présence de l'acétate de sodium comme étalon interne) à partir du 9^{ème} jour.
- DMAMe (diméthoxyacétate de méthyle) et DMAA (diméthoxy acide acétique) à partir du 31^{ème} jour.

Nous avons réalisé la même étude sur le PGEt, également insoluble dans l'eau.

- Identification des molécules libérées

Un film de PGEt a été placé dans un tube RMN dans D₂O (30 mg de PGEt pour 0,5 mL de D₂O), laissé dans une étuve à 37°C et analysé régulièrement par RMN ¹H. L'acétate de sodium (CH₃COONa) a été utilisé comme étalon interne car le signal correspondant au CH₃ sort dans une zone où aucun pic n'est attendu (environ 1,9 ppm). Tous les spectres ont été calibrés par rapport au pic du D₂O à 4,79 ppm (figure IV.18).

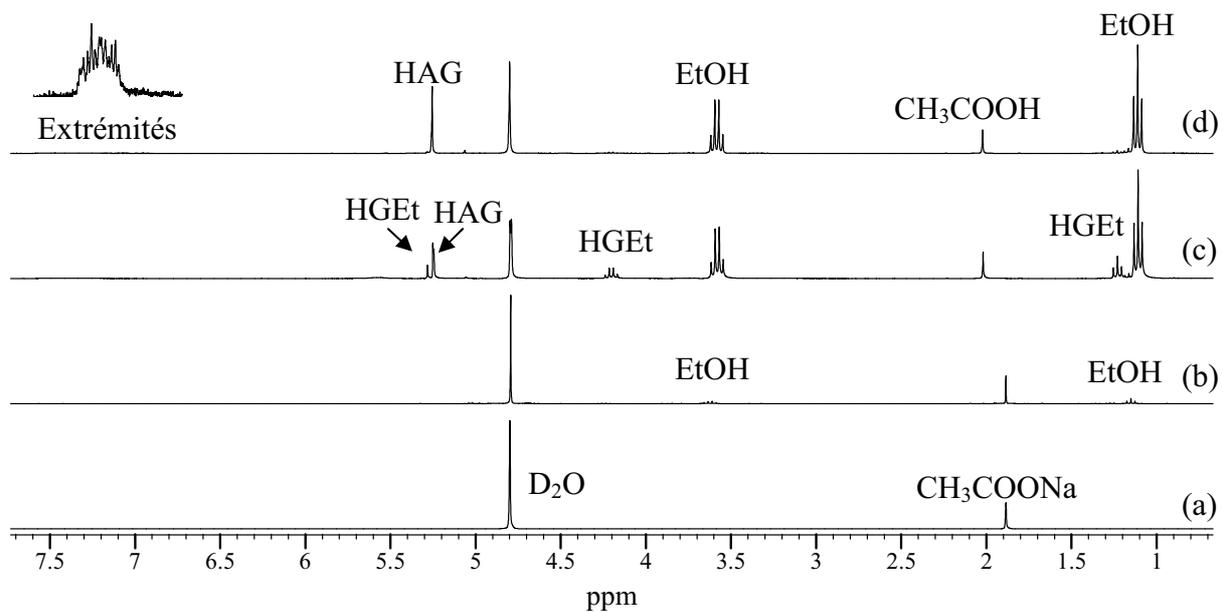


Figure IV.18 : Spectres RMN ¹H d'un film de PGEt placé dans D₂O à 37°C, à t = 0 (a), 22 jours (b), 39 jours (c) et 59 jours (d) de dégradation.

Le spectre à t = 0 ne présente que le signal résiduel du D₂O et celui de l'étalon interne l'acétate de sodium.

A partir du 22^{ème} jour, les pics de l'éthanol (CH₃ à 3,6 ppm et CH₂ à 1,1 ppm) sont identifiés.

A partir du 32^{ème} jour, les terminaisons phényle sont détectées dans la région des protons aromatiques à 7,4 ppm.

A t = 39 jours, un déplacement des pics est observable qui est probablement dû à l'acidité du milieu, particulièrement pour le pic de l'acétate de sodium qui est alors sous sa forme acide (CH₃COOH). On peut alors identifier les nouveaux pics grâce à l'étude préliminaire sur les molécules simples. L'hydrate du glyoxylate d'éthyle (HGEt), l'hydrate de l'acide glyoxylique

et l'éthanol sont alors tous trois présents. Un multiplet vers 5,6 ppm, bien que peu visible, est aussi présent correspondant vraisemblablement au H acétalique d'oligomères de faibles masses molaires de PGEt qui auraient été solubilisés. Enfin, un multiplet supplémentaire dans la région aromatique (7,4 ppm) est détecté correspondant aux extrémités phényle.

A partir du 59^{ème} jour le spectre RMN ¹H est simplifié pour ne présenter que les signaux du HAG, de l'éthanol, des extrémités phényle, et de traces de HGEt. Le diéthoxy acétate d'éthyle (DEAE) et le diéthoxy acide acétique (DEAA) ne sont pas décelables.

La libération d'éthanol confirme l'hydrolyse des esters pendants, tandis que les petites molécules telles que le HAG ou le HGEt sont dues aux coupures de chaînes qui se produisent lors de la dégradation par hydrolyse *in vitro* du PGEt.

- Cinétiques de libération des espèces

A partir des spectres RMN ¹H obtenus précédemment, et des intégrations des différents pics, nous avons pu déterminer les pourcentages de libération des principales espèces détectées que sont : le HAG, l'éthanol et le HGEt (figure IV.19).

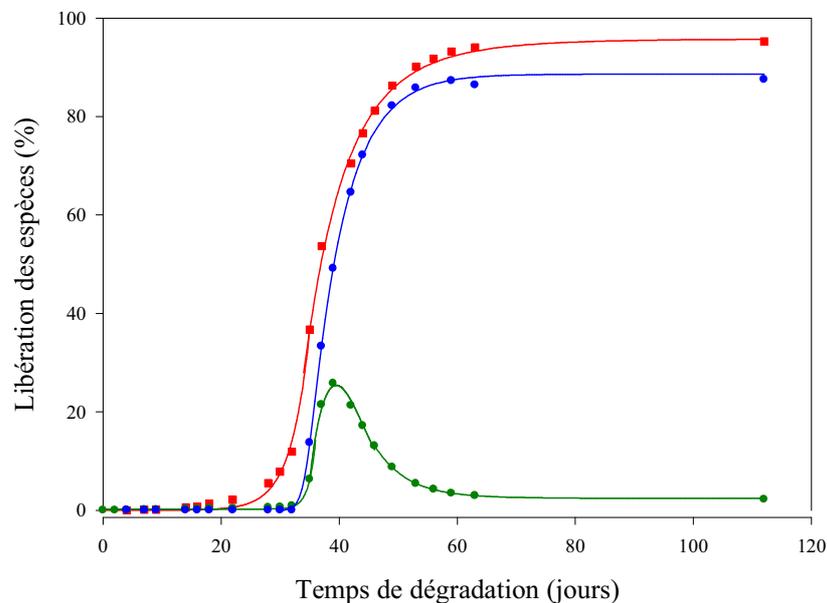


Figure IV.19 : Cinétique de libération de l'hydrate d'acide glyoxylique (●), de l'éthanol (■) et de l'hydrate de glyoxylate d'éthyle (●) lors de la dégradation d'un film de PGEt dans D₂O à pH = 7.

On observe que l'éthanol est la première espèce détectée sur les spectres RMN ^1H à partir du 20^{ème} jour. Après un mois de dégradation, le HAG est identifié. On note aussi la présence de HGEt, intermédiaire de dégradation entre le PGEt et le HAG. Après 40 jours, le pourcentage de HGEt diminue et finalement tend vers zéro.

Visuellement, le PGEt initialement sous forme de film transparent devient blanc et prend l'apparence d'un chewing-gum. A partir du 32^{ème} jour, quand les petites molécules apparaissent, l'allure du film de PGEt change rapidement pour redevenir transparent. A partir de 56 jours d'analyse, seules quelques petites particules jaunes sont encore présentes dans le milieu et ne disparaîtront pas par la suite (figure IV.20).

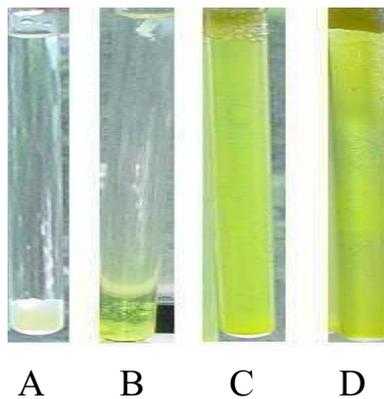


Figure IV.20 : Allure du film de PGEt lors de sa dégradation dans D_2O à $t = 32$ jours (A), 39 jours (B), 56 jours (C) et 59 jours (D).

En résumé, on peut supposer que :

- pendant les 20 premiers jours, des coupures de chaînes inter et intramoléculaires se produisent (cf résultats de la dégradation en atmosphère saturée d'eau), catalysées par les fonctions acide carboxylique issues de l'hydrolyse lente de fonctions esters pendantes. Ces coupures entraînent la libération de HGEt qui s'hydrolyse rapidement en éthanol et HAG, ce dernier induit une auto-catalyse de la réaction.

- L'aspect blanc du polymère en début de dégradation s'explique par une réaction initiale uniquement en surface du PGEt hydrophobe.
- L'hydrolyse des différentes molécules conduit quasiment exclusivement au HAG et à l'éthanol.
- Les particules jaunes observées dans cette étude et non identifiables par RMN ^1H , ont été étudiées par spectrométrie de masse.

- Influence du pH

L'acidification du milieu lors de la dégradation du PGEt entraîne une auto-accélération de la réaction. C'est pourquoi, nous avons voulu observer l'influence du pH du milieu sur la cinétique de libération des espèces majoritaires (éthanol, HGEt, HAG).

Pour cela, la même étude que celle présentée précédemment a été réalisée en milieu tamponné à pH = 4, 7 et 9.

Les résultats obtenus montrent que l'allure des courbes est toujours la même avec la libération en premier lieu de l'éthanol, puis simultanément de HAG et de HGEt. A pH = 4 cette évolution est à peine plus rapide que celle observée dans D_2O et devient un peu plus lente à pH = 7 (annexe 4).

Pour le pH = 9 par contre, les polyacétals étant généralement stable à pH basique, nous supposons que le polysel formé par hydrolyse des esters serait stable et qu'il n'y aurait pas de dégradation supplémentaire. Or, l'évolution est seulement plus lente (5 jours par rapport à l'étude dans D_2O) et on observe surtout une plus grande concentration en HGEt que pour les autres pH, celui-ci se décomposant plus lentement à ce pH en éthanol et en HGNa, sel de sodium du HAG (tampon tétraborate de sodium).

En conclusion, aucun impact notable du pH n'est observé sur le processus de dégradation du PGEt. Les principales espèces détectées sont identiques et le mécanisme met en jeu des coupures de chaînes et des hydrolyses des esters libérant à terme uniquement de l'éthanol et du HAG.

Cependant, on peut penser que le mécanisme de dégradation débute obligatoirement par une hydrolyse partielle des fonctions ester des chaînes polymères en contact avec le milieu

aqueux et que ce sont les fonctions acides carboxylique formées qui sont responsables des coupures de chaînes qui s'ensuivent par leur effet catalytique.

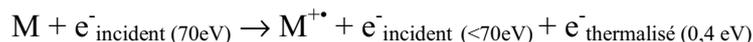
IV.2.2.c – Spectrométrie de masse

Une étude par spectrométrie de masse a été menée parallèlement à celles de dégradation en milieu aqueux dans le but de confirmer les résultats précédents et éventuellement d'identifier les sous-produits présents en très faible quantité.

La spectrométrie de masse (MS) est une méthode d'analyse moléculaire fondée sur l'étude des ions en phase gazeuse. Elle permet d'apporter des informations sur la composition chimique ainsi que sur la structure des molécules ionisées. L'ionisation a lieu dans la source du spectromètre de masse où règne un vide poussé. Puis les ions formés sont accélérés, triés par l'analyseur selon leur rapport masse sur charge (m/z) et détectés. Les courants ioniques amplifiés et enregistrés conduisent à un spectre de masse, sous la forme d'intensités normalisées des ions en fonction des rapports m/z . Le choix d'une méthode d'ionisation tels que l'impact électronique (IE) ou ionisation chimique (IC) est déterminé par la nature chimique (volatilité, polarité, thermostabilité) de la substance à analyser.

- Impact électronique (IE)

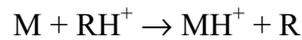
Le principe des sources IE repose sur l'arrachement d'un électron d'une molécule M par collision entre celle-ci et un électron incident possédant une forte énergie cinétique (70 eV) selon :



Les cations radicaux ($M^{+\bullet}$) obtenus, à nombre impair d'électrons, présentent des populations plus ou moins stables, les moins stables pouvant subir des fragmentations dans la source. Les ions fragments obtenus sont accélérés, analysés et détectés. Ces fragments apportent des informations sur la structure du composé. Ainsi un spectre IE obtenu sous 70 eV est caractéristique d'une molécule, sorte d'empreinte digitale de celle-ci.

- Ionisation chimique (IC)

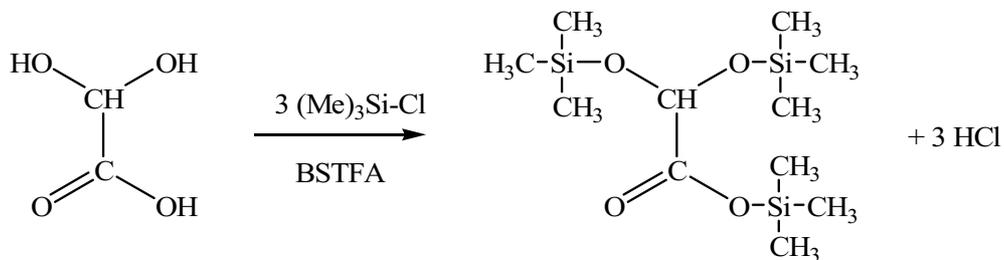
Le principe de l'IC est d'ioniser la molécule analyte à l'aide d'un gaz réactant (R) préalablement ionisé par IE, tel que l'isobutane (entité réactive : $C_4H_9^+$) ou l'ammoniac (entité réactive : NH_4^+) utilisés dans notre étude en mode positif. L'ionisation réside dans une réaction acido-basique entre ce gaz et le substrat (M). Les réactions intervenant dans l'IC sont :



Cette technique présente l'avantage de fournir un spectre simple pour lequel seul l'ion moléculaire, MH^+ , sera observé si le gaz réactant est judicieusement choisi (là où l'IE ne proposera que des fragments).

- Analyse des molécules modèles

Comme dans le cas de l'étude RMN, il nous a semblé nécessaire d'étudier les molécules modèles par GC-MS afin de pouvoir les identifier rapidement lors de l'analyse. Toutefois, ces composés ne peuvent pas être directement analysés par GC en raison d'une trop forte polarité ou trop faible volatilité. Une dérivation préalable s'avère alors nécessaire. La silylation est une méthode fréquemment utilisée pour dériver des molécules à analyser en GC-MS^(5,6). Les dérivés silylés se forment par remplacement d'un proton labile dans les groupements hydroxyle, carboxyle, amine, etc..., par un groupement alkyl du type triméthylsilyl⁽⁷⁾. Les dérivés silylés deviennent moins polaires, plus volatiles, plus thermostables que le produit initial. La figure IV.21 présente un exemple de réaction de silylation.



BSTFA : N, O-bis-(triméthylsilyl)trifluoroacetamide

Figure IV.21 : Silylation complète du HAG.

Les molécules modèles analysées sont le HAG et le DEAE, qui sont des produits commerciaux, et le DEAA qui a été obtenu par saponification du DEAE. Le HGEt étant peu stable n'a pas été étudié.

Les spectres obtenus pour les molécules dérivées (après modification par le $(Me)_3SiCl$) sont présentés tableau IV.2.

Produit	Temps de rétention (min)	Spectre de masse
DEAE	10:22	<p>Mass spectrum of DEAE showing peaks at 47, 58, 75, 86, 103, and 131.</p>
DEAA	11:27	<p>Mass spectrum of DEAA showing peaks at 47, 59, 75, 91, 103, 117, 131, 147, 161, 175, and 205.</p>
HAG	13:57	<p>Mass spectrum of HAG showing peaks at 45, 59, 73, 103, 131, 147, 191, 221, 265, and 293.</p>

Tableau IV.2 : Temps de rétention et spectres de masse du DEAE et des dérivés silylés du DEAA et du HAG par IE.

Le temps de rétention et le spectre IE nous permettent d'obtenir une carte d'identité de chacune des molécules. Afin de mieux appréhender cette technique, la fragmentation du HAG (figure IV.22) et les ions théoriques attendus (tableau IV.3) sont présentés ci-après.

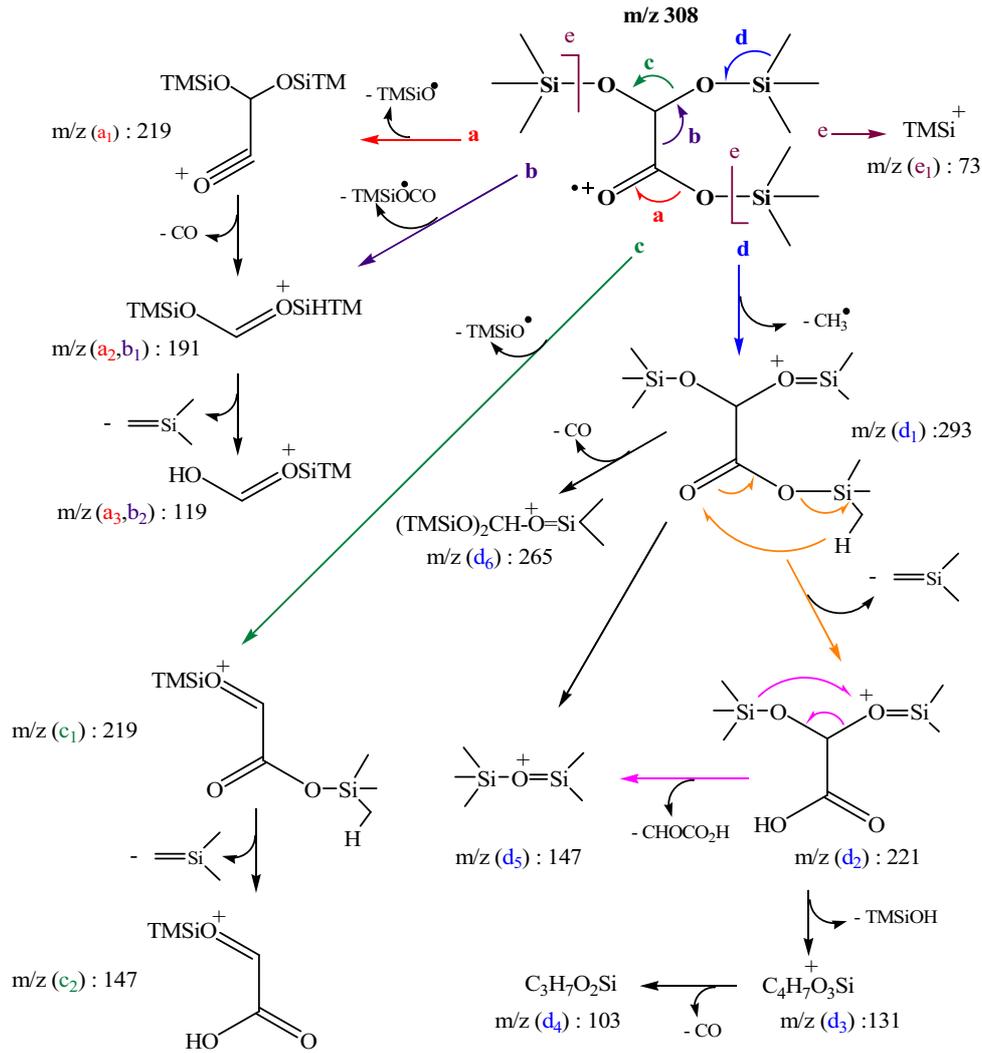


Figure IV.22 : Schéma de fragmentation du dérivé silylé du HAG.

Chemin de fragmentation	a	b	c	d	e
m/z	a ₁ : 219 a ₂ : 191 a ₃ : 119	b ₁ : 191 b ₂ : 119	c ₁ : 219 c ₂ : 147	d ₁ : 293 d ₂ : 221 d ₃ : 131 d ₄ : 103 d ₅ : 147 d ₆ : 265	e ₁ : 73

Tableau IV.3 : Ions identifiés du dérivé silylé du HAG en fonction du chemin de fragmentation suivi.

Le HAG, le HGEt, le DEAA et le DEAE étant des molécules de même structure générale, leurs schémas de fragmentation seront similaires. Ainsi, par analogie avec le HAG, et après confirmation à l'aide des spectres du DEAA et du DEAE, nous avons déterminé les masses m/z des ions théoriquement attendues pour le HGEt silylé.

Chemin de fragmentation	a	b	c	d	e
m/z	a ₁ : 219 a ₂ : 191 a ₃ : 119	b ₁ : 191 b ₂ : 119	c ₁ : 175 c ₂ : 147	d ₁ : 249 d ₂ : 221 d ₃ : 131 d ₄ : 103 d ₅ : 147 d ₆ : 265	e ₁ : 73

Tableau IV.4 : Ions attendus pour le HGEt silylé.

- Analyse des produits ultimes de dégradation du PGEt

L'analyse GC-MS des produits ultimes de dégradation a été effectuée sur un échantillon vieilli pendant 4 mois dans D₂O et contenant des particules jaunes (étude RMN ¹H). Deux fractions ont été analysées. La première, appelée solution, correspond au prélèvement du surnageant. La seconde, appelée particule, a été obtenue en éliminant un maximum de surnageant.

Les résultats montrent que les deux fractions (solution et particules) présentent les mêmes pics sur le chromatogramme et que ceux-ci correspondent aux mêmes ions, seules les proportions diffèrent. Cette observation est évidemment en accord avec le mode opératoire des fractions. Seuls les résultats obtenus pour la solution seront présentés dans ce qui suit.

Le chromatogramme de la solution silylée est présenté en figure IV.23.

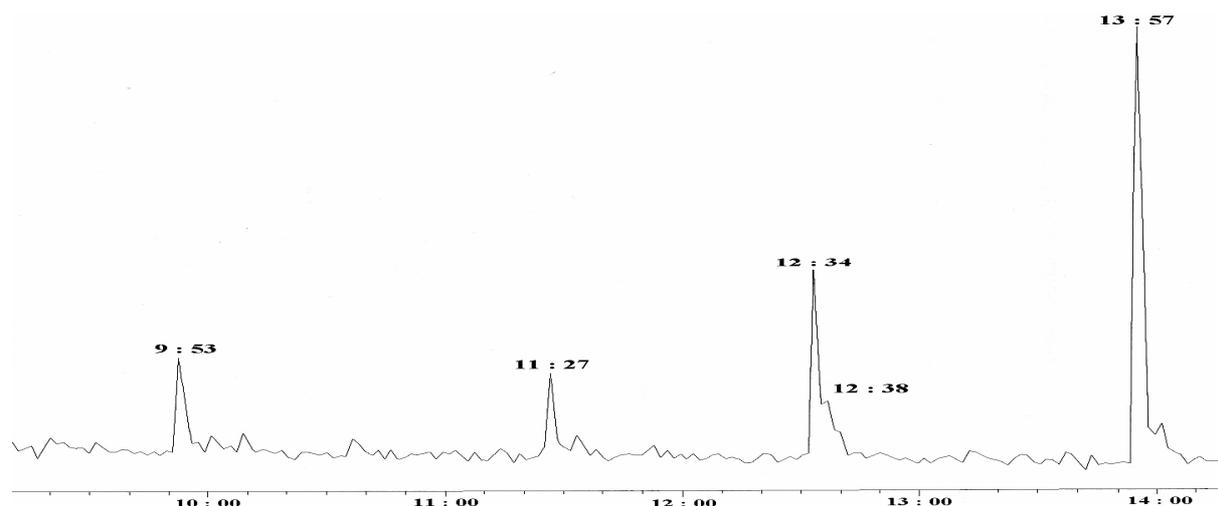


Figure IV.23 : Chromatogramme des produits ultimes de dégradation du PGEt.

Les premiers pics chromatographiques, élués avant 9 minutes, sont des pics de solvant et de réactifs de dérivation présents dans la solution.

Les pics à 11:27 et 13:57 sont attribués respectivement au DEAA et au HAG (cf. tableau IV.2). Le pic à 12:34 a été assigné au HGEt, d'une part en raison de sa masse molaire comprise entre celle du DEAA et du HAG et, d'autre part, car son spectre de masse correspond aux ions attendus (cf. tableau IV.4). L'ordre d'éluion des dérivés du HAG résultant est reporté sur la figure IV.24.

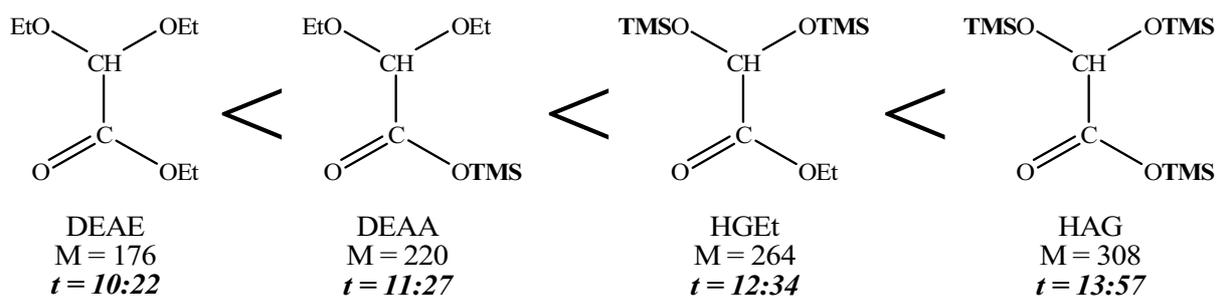


Figure IV.25 : Ordre d'éluion des différentes espèces attendues.

On peut noter l'absence de DEAE dans le milieu (temps de rétention 10:22) et la forte réponse du HGEt et du DEAA qui d'après la RMN ne sont présents qu'à l'état de traces.

Le pic à 9:53 (figure IV.25) a été identifié comme étant un dérivé silylé de l'acide oxalique d'après la valeur de son ion moléculaire $(\text{MH})^+ = 235$. Ce composé, dont l'intensité

n'est pas non plus en rapport avec sa concentration, peut provenir soit de l'acide oxalique lui-même, soit de mono et/ou di-ester hydrolysés lors de la dégradation.

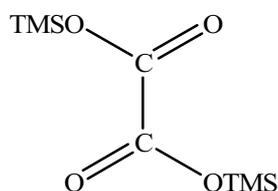


Figure IV.25 : Composé correspondant au pic à 9:53.

Enfin, l'épaule à 12:38 a été caractérisé (figure IV.26).

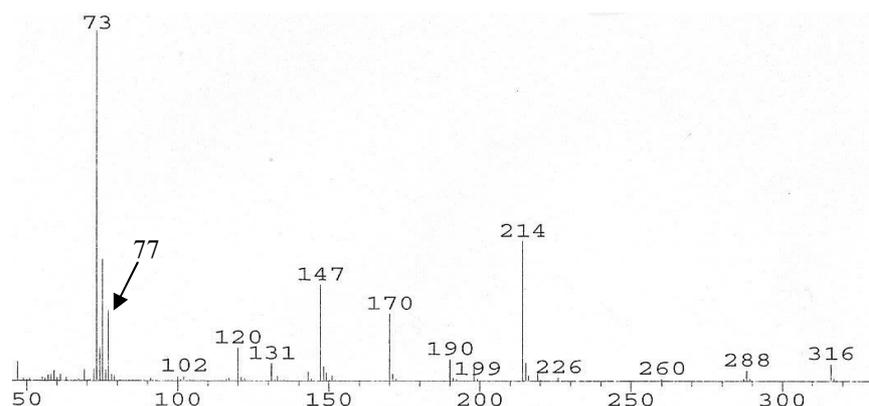


Figure IV.26 : Spectres de masse (IE) des pics à 12:38.

Sur ce spectre, on retrouve les fragments déjà identifiés à partir des molécules modèles (73, 131, 147, 219). De plus, le pic à 73 et des pertes de 90 u.m.a. (316 à 226 et 26 à 170) confirme la présence d'au moins un –OTMS.

L'ion à 77, caractéristique d'un ion phénylium, et celui à 120 correspond à un groupement Ph-NH=CO⁺ indiquent clairement que nous avons affaire aux extrémités.

L'analyse par ionisation chimique nous a permis de connaître la valeur de l'ion moléculaire (MH⁺) : 332. Celle-ci valeur ne correspond pas à la structure simple que l'on pourrait attendre. Il est vraisemblable que des réarrangements, voire des recombinaisons de molécules, ont lieu lors de l'étape de dérivation.

Pour conclure cette étude, le tableau IV.5 répertorie les différentes espèces présentes dans le tube RMN après quatre mois de dégradation, par GC/MS.

Temps de rétention (min)	Masse molaire correspondante	Molécule identifiée
11 : 27	220	DEAA
12 : 34	264	HGEt
12 : 38	331	Extrémités
13 : 57	308	HAG

Tableau IV.5 : Identification des différents pics de GC.

Qualitativement, nous retrouvons les molécules que nous avons déjà identifiées par RMN ^1H , c'est-à-dire le HAG et le HGEt. Nous avons pu également noter la présence de DEAA et d'un dérivé de l'acide oxalique.

IV.3 – CONCLUSION

La combinaison des différents résultats montre que la dégradation dépend des conditions d'analyses. En effet, bien que les suivis potentiométrique et RMN ^1H soient réalisés dans l'eau et sur un même film de PGEt, les cinétiques de dégradation sont différentes. La chute de pH qui apparaît dès le 6^{ème} jour correspond à l'hydrolyse des esters et entraîne l'apparition de fonctions acide carboxylique. Or, l'apparition d'éthanol lors de l'analyse RMN ^1H n'a lieu qu'à partir de 20 jours. Le PGEt étant insoluble dans l'eau, la réaction de dégradation se produit d'abord en surface et sera très dépendante du milieu environnant. Ainsi, le suivi pHmétrique étant effectué sous agitation et en milieu dilué ($15 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$), les fonctions acide carboxylique formées sont fortement dissociées (dilution d'Oswald) et l'effet catalytique sera maximum. En revanche, lors du suivi par RMN, réalisé en milieu plus concentré ($0,59 \text{ mol.L}^{-1}$ de motif GEt), les fonctions acide carboxylique formées auront les propriétés d'un acide faible.

Lors de la dégradation en atmosphère humide le phénomène principal mis en jeu est une réaction de surface entraînant une dégradation aussi lente qu'en milieu concentré quelle que soit la technique utilisée (SEC, prise en eau et perte de masse).

Les différents résultats obtenus sont par conséquent cohérents et démontre que la dégradation du PGEt implique des coupures de chaînes et l'hydrolyse des esters pendants de manière concomitante (figure IV.27).

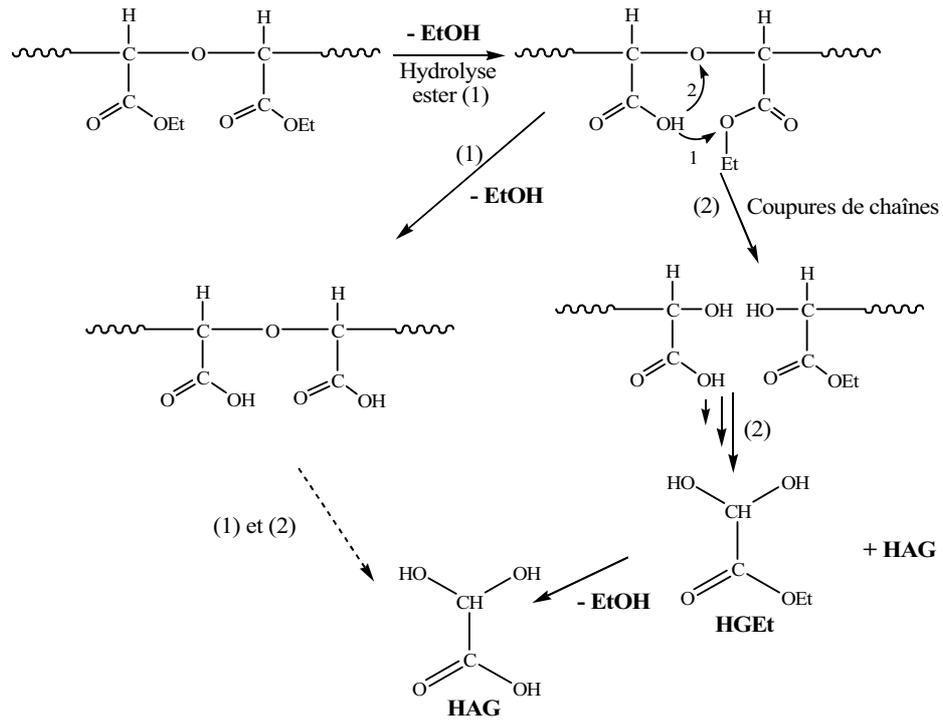


Figure IV.27 : Mécanisme de dégradation du PGEt par hydrolyse *in vitro*.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 - C. H. Brachais, J. Huguet, C. Bunel, L. Brachais, *Polymer*, 39 (4), 883, **1998**.
- 2 - C.-H. Brachais, J. Huguet, C. Bunel, L. Brachais, *Polym. Degrad. Stab.*, 64, 243, **1999**.
- 3 - F. Chastrette, C. Bracoud, M. Chastrette, G. Mattioda, Y. Christidis, *Bulletin de la société chimique de France*, n°1, II-66, **1985**.
- 4 - C.-H. Brachais, Thèse de 3ème cycle, Université de Rouen, **1995**.
- 5 - K. Blau, J. Halket, *Handbook of derivatives for chromatography* (2nd edition), John Wiley & sons, New York, **1993**.
- 6 - D. R. Knapp, *Handbook of analytical derivatization reactions*, John Wiley & sons, New York, **1979**.
- 7 - A. Pena, P. Sandra, *J. Chromatogr. Sci.*, 33 (3), 116, **1995**.

CHAPITRE V :

BIODEGRADABILITE ET TOXICITE DU

POLYGLYOXYLATE D'ETHYLE

Dans le chapitre précédent, l'étude de la dégradation in vitro du PGEt a montré que les produits ultimes formés étaient l'éthanol et l'acide glyoxylique qui est un métabolite du cycle de Krebs végétal (figure V.1). Plus spécifiquement, ce dernier fait partie du « cycle du glyoxylate », qui permet la mobilisation des réserves lipidiques de la graine au cours des premières étapes de sa germination^(1,2).

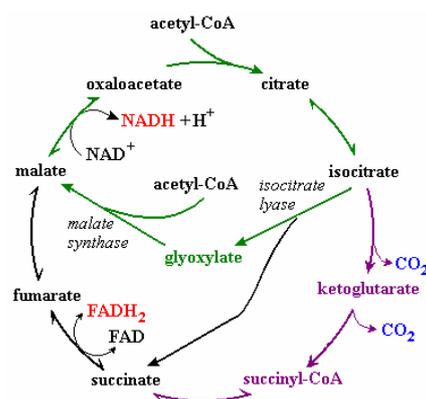


Figure V.1 : Cycle de Krebs végétal.

Dans ce dernier chapitre, nous allons évaluer d'une part, le caractère biodégradable du PGEt par respirométrie suivant un protocole dérivant de la norme européenne 13432, et d'autre part, évaluer l'impact de la dégradation du PGEt sur l'écosystème environnant. De plus, la toxicité sur les micro-organismes (écotoxicité) et les plantes (phytotoxicité) sera également évaluée. Un test de toxicologie alternative (sans mammifère) sera utilisé pour estimer la toxicité du PGEt et de ses dérivés sur les êtres vivants.

V.1 – BIODEGRADATION

De nombreuses définitions du terme biodégradation sont présentes dans la littérature. Elles varient principalement selon les auteurs, les méthodes de mesures ou le site de biodégradation (sol, eau, compost, décharge). Pour résumer, d'après l'ADEME^(3,4), un matériau est dit « biodégradable » s'il est dégradé par des micro-organismes, pour finalement

se convertir en dioxyde de carbone, eau et/ou méthane et des sous-produits (résidus, nouvelle biomasse) non toxiques pour l'environnement.

Les méthodes de mesure de la biodégradabilité peuvent être réalisées *in vitro* au laboratoire. Elles consistent à mettre le matériau en présence de micro-organismes ou inoculum et d'évaluer la libération de CO₂ ou la consommation de O₂ en mode aérobie ou le dégagement de méthane en mode anaérobie. Les méthodes d'essais *in situ* consistent à enfouir le matériau à analyser pendant un temps donné en sol ou en compost (tableau V.1).

N° normes	Date de publication	Intitulé	Conditions d'application	Nature / objectif du test	Paramètre d'évaluation
ASTM D 5271	01/09/93	Détermination de la biodégradation de matériaux plastiques <i>Un système de traitement d'eaux usées</i>	Aérobie	Biodégradabilité	O ₂
ASTM D 5338	01/08/99	Détermination de la biodégradation de matériaux plastiques en conditions de compostage contrôlées	Aérobie	Compostage	CO ₂
ASTM D 5988	01/09/96	Détermination de la biodégradation en sol de matériaux plastiques après compostage	Aérobie	Biodégradation dans les sols	CO ₂
ASTM D 5210	01/12/98	Détermination de la biodégradation de matériaux plastiques en présence de boues d'épuration	Aérobie	Biodégradabilité	CO ₂ /CH ₄

Tableau V.1 : Exemples de tests standardisés pour l'évaluation de la biodégradation des plastiques.

Une autre technique pour évaluer la biodégradation d'un composé réside dans des tests en milieu aqueux⁽⁵⁾ qui ont l'avantage d'être simple à mettre en œuvre. Le taux de biodégradation est alors mesuré par consommation de l'oxygène (O₂), test de Sapromat⁽⁶⁾, ou libération de dioxyde de carbone (CO₂), test de Sturm⁽⁷⁾. Cependant, bien qu'ils présentent généralement des résultats reproductibles, ils ne sont pas représentatifs des conditions réelles de biodégradation et peuvent mettre en jeu des mécanismes différents, induisant alors des conclusions erronées^(8,9).

Pour des raisons de simplicité de mise en œuvre à l'échelle du laboratoire, de bonne reproductibilité des résultats et de possibilité d'obtenir un résultat proche du terrain, nous avons choisi d'utiliser un test de respirométrie. Il existe à l'heure actuelle de nombreuses méthodes respirométriques certaines utilisant des respiromètres⁽¹⁰⁾, des bioréacteurs⁽¹¹⁾, des biomètres^(12,13). Cependant, le laboratoire ne possédant pas le matériel requis, nous avons utilisé une méthode plus simple et moins coûteuse qui est une adaptation de la norme ASTM D5988-96⁽¹⁴⁾, proposée par l'Unité de Chimie Organique Moléculaire et Macromoléculaire (UCO2M – UMR 6011) de l'Université du Maine. Le mode opératoire est présenté dans l'annexe 5.

V.1.1 – Test de Respirométrie

Le test de respirométrie est basé sur le piégeage du dioxyde de carbone libéré par l'échantillon et la terre dans une solution de soude (figure V.2). Dans un récipient étanche, à 28°C dans l'obscurité, sont placés trois flacons :

- un contenant de l'eau afin que l'atmosphère soit saturée en eau,
- un contenant de la terre pour les témoins (ou la terre avec des morceaux de film de PGEt pour les flacons échantillons), le tout humidifié à la capacité de rétention en eau de la terre,
- un contenant de la soude pour piéger le dioxyde de carbone libéré.

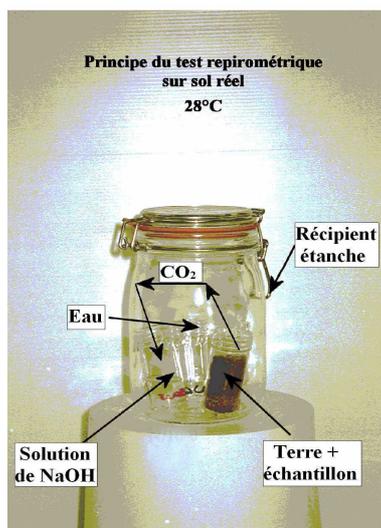


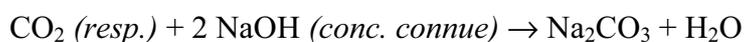
Figure V.2 : Principe de la respirométrie.

Suivant les quantités de matériau introduit, la quantité de CO₂ maximale à libérer peut être calculée comme suit :

$$Q_{\text{TCO}_2} = \frac{E_T \cdot C_E}{100} \cdot 3,664$$

Où Q_{TCO_2} est la quantité totale de CO₂ libérable (en mg), E_T la masse de l'échantillon (en mg), C_E la teneur en carbone de l'échantillon, déterminée par analyse élémentaire, soit 48,38% pour le PGEt et 44,44% pour la cellulose et 3,664 correspond au rapport $\frac{M_{\text{CO}_2}}{M_C} = \frac{44}{12}$.

Le dioxyde de carbone libéré par la terre (ou la terre et l'échantillon) est capté par la soude (NaOH) pour former du carbonate de sodium (Na₂CO₃). Après ajout de chlorure de baryum (BaCl₂), un précipité blanc de carbonate de baryum (BaCO₃) est observé. Par dosage de l'excès de soude, c'est-à-dire de la portion n'ayant pas réagi avec le CO₂, à l'aide d'acide chlorhydrique (HCl) et d'une solution de thymolphtaléine comme indicateur coloré, on détermine la quantité de dioxyde de carbone libéré par le milieu analysé. Ainsi, l'évolution de la libération de CO₂ au cours du temps peut être suivie par dosage en utilisant les équilibres chimiques suivantes :



Chaque essai correspond à trois études de la terre seule (témoins) et trois études sur la matière à analyser (échantillons). Ainsi, le taux de biodégradation du PGEt s'exprime en faisant le rapport entre la quantité de CO₂ libérée par le PGEt ($CO_{2\text{échantillon}} - CO_{2\text{témoin}}$) et la quantité de CO₂ théorique libérable.

Nous nous sommes alors basés sur les directives de la norme NFU52-001 sur « les matériaux biodégradables pour l'agriculture et l'horticulture ». Celle-ci précise les caractéristiques d'une terre utilisée pour un test respirométrique. D'une part, elle préconise que la terre utilisée doit avoir un pH compris entre 6 et 8 et ne pas présenter un taux de carbone organique supérieur à 2 %.

De plus, il est précisé que :

- un test identique doit être mené sur un matériau de référence (cellulose micronisée) pour lequel le taux de biodégradation doit être supérieur à 70 % après 6 mois d'essai,
- la différence entre 2 résultats d'essais menés simultanément ne doit pas excéder 20 % relatifs.

Enfin, cette norme considère qu'un matériau est biodégradable s'il libère une quantité de CO₂ correspondant, au minimum, à 60 % du dioxyde de carbone libéré par la cellulose, dans un délai maximum de un an.

V.1.2 – Résultats obtenus

Cette étude a été conduite sur une terre de prairie normande, de pH 7,0 et possédant 12,32g de carbone/kg de terre (dosé par oxydation sulfochromique). Cette terre est alors tamisée (diamètre de maille de 2 mm) avant utilisation afin d'en ôter les plantes, pierres et autres matériaux inertes⁽¹⁵⁾. Le PGEt est alors incorporé, sous forme de morceaux de film de taille contrôlée, à hauteur d'environ exactement 4,3 mg/g de terre et la cellulose sous forme de poudre micronisée (environ 4,5 mg/g de terre) afin de travailler avec la même quantité de CO₂ à libérer. Les résultats obtenus pour le PGEt et la cellulose micronisée (50µm), sont consignés dans la figure V.3.

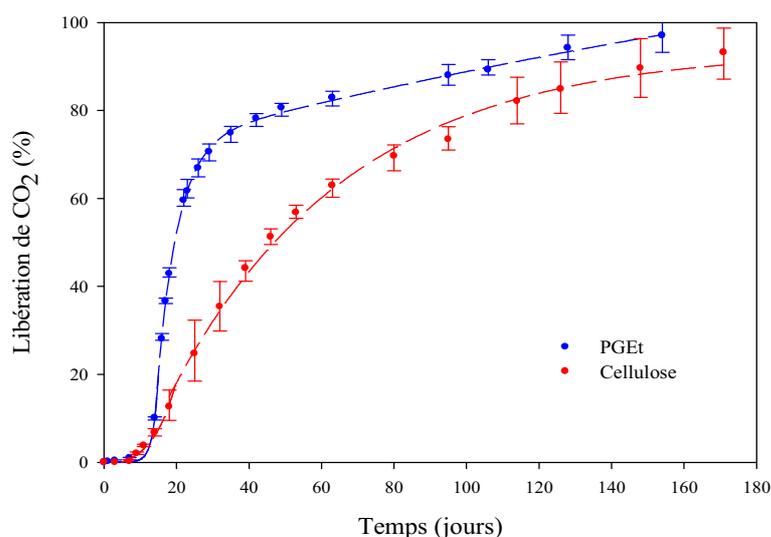


Figure V.3 : Libération du CO₂ de la biodégradation du PGEt et de la cellulose.

Après une quinzaine de jours où aucune libération de CO₂ n'est observée, le PGEt subit une dégradation rapide, atteignant environ 80 % en un mois. Les 20 % restant sont ensuite libérés peu à peu jusqu'au 5^{ème} mois. Le même profil est observé au départ de l'analyse de la cellulose mais la biodégradation se fait de manière plus monotone pour atteindre 95 % de libération du CO₂ en 170 jours. Ce temps de latence, déjà observé dans la littérature⁽²⁵⁾, peut être dû à une adaptation des microorganismes au milieu de culture, c'est-à-dire le temps nécessaire pour qu'ils synthétisent les enzymes adaptées au substrat.

Enfin, des moisissures sont observées, à l'œil nu pendant la forte biodégradation du PGEt (entre le 20^{ème} et le 50^{ème} jour) confirmant l'importante colonisation du milieu par les microorganismes (figure V.4). Au-delà du 50^{ème} jour, les moisissures disparaissent.



Figure V.4 : Terre au cours de la biodégradation du PGEt, à t = 26 jours.

Sur la base des normes ASTM-5988 et NFU52, il nous est ainsi possible de conclure que le PGEt est biodégradable.

V.1.3 – Ecotoxicité

Afin d'évaluer l'écotoxicité du PGEt et de ses produits de dégradation, c'est-à-dire son aptitude à provoquer des effets néfastes sur les organismes vivants, ici les micro-organismes, une étude simple a été envisagée.

Pour cela, un échantillon de PGEt a été placé dans la terre ayant déjà servi pour une biodégradation complète d'un premier échantillon de polymère afin de voir si les micro-organismes sont encore vivants et susceptibles de dégrader un nouveau morceau de polymère (figure V.5).

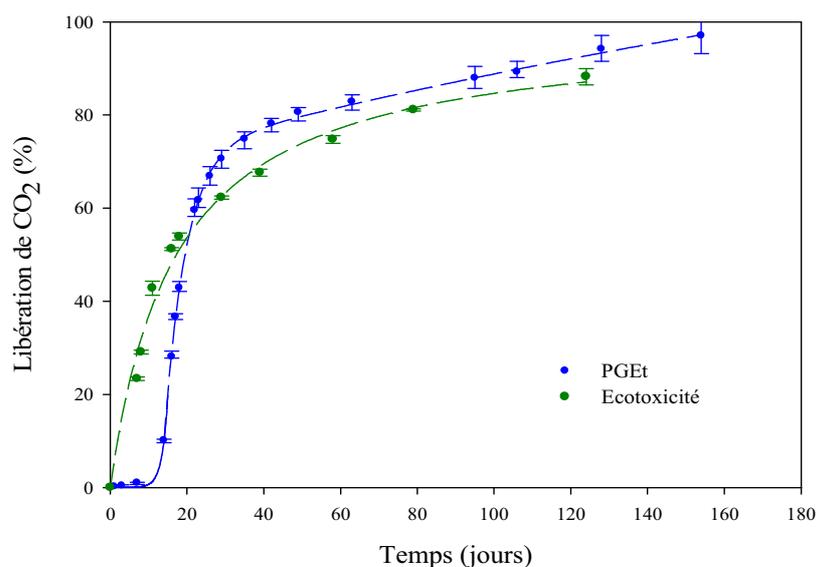


Figure V.5 : Libération du CO₂ lors de l'étude d'écotoxicité du PGEt.

Des taux comparables de CO₂ libéré sont observés après 20 jours. Le temps de latence présent lors de la première étude n'est pas retrouvé lors de l'écotoxicité. Cela est dû au fait que les micro-organismes se sont déjà acclimatés aux conditions d'études lors de la première biodégradation du PGEt. De plus, une colonisation du milieu par les micro-organismes (moisissures) a de nouveau pu être observée lorsque les vitesses de libération de CO₂ sont les plus élevées, c'est-à-dire les 30 premiers jours.

Cet essai confirme la non toxicité du PGEt lors de sa biodégradation vis-à-vis des micro-organismes qui conservent leur capacité à dégrader une nouvelle source de carbone.

V.2 – PHYTOTOXICITE

Le PGEt étant totalement biodégradable et non écotoxique, nous avons voulu connaître son effet sur les plantes dans le cas d'éventuelles applications agronomiques. Nous avons mis en place une étude de phytotoxicité selon Tuominen et al.⁽¹⁶⁾ en collaboration avec C. Plasson et L. Menu de l'UMR CNRS 6037.

V.2.1 – Principe des essais

L'effet du PGEt sur l'émergence et la croissance foliaire de plantes a été estimé en conditions contrôlées (phytotron^a) sur une période de 22 jours de culture. Deux concentrations en polymère ont été testées, l'une correspondant à celle utilisée pour la détermination de la biodégradation (soit 0,5g / 100 g de terre) et étant particulièrement concentrée pour ce type d'application, l'autre étant plus faible et plus proche des taux classiquement utilisés (soit 0,1 g de PGEt/100 g de terre). De plus, les essais de phytotoxicité nécessitent en général l'étude d'une monocotylédone et d'une dicotylédone. C'est pourquoi, nous avons choisi de travailler respectivement avec l'orge (*Hordeum vulgare*) et le cresson (*Lepidium sativum*) qui sont, de plus, particulièrement sensibles (annexe 6). Enfin, un essai témoin est validé afin d'évaluer si les différences observées sont ou non significatives⁽¹⁷⁾.

Deux études ont été réalisées :

- Essai 1 : le PGEt, sous forme de morceaux fins de taille homogène, est mélangé soigneusement avec un terreau. Les graines (cresson ou orge) sont mises à germer au temps $t = 0$ jour de biodégradation.
- Essai 2 : les graines sont ajoutées au temps $t = 21$ jours de biodégradation, c'est-à-dire lorsque le PGEt est environ à 50% biodégradé (cf figure V.3).

a - Un phytotron est un laboratoire dans lequel on recrée et étudie toutes les conditions de vie des plantes. La température, l'hygrométrie, les alternances jour/nuit et l'arrosage des plantes y sont contrôlés.

En considérant que les graines de cresson et d'orge germent en environ 7 jours, les deux essais réalisés sont complémentaires. En effet, l'essai 1 permet préférentiellement de déterminer les effets de la biodégradation du PGEt sur la croissance foliaire et sur l'évolution de la biomasse alors que l'essai 2 permet en plus de connaître l'influence de ce polymère sur l'émergence des plantes c'est-à-dire sur la germination des graines.

V.2.2 – Etude sur la germination

Les graines ayant germées sont dénombrées à 5, 10 et 15 jours. Les plants ne germant pas forcément en même temps, de part la profondeur variable de mise en terre de la graine ou de l'état de la graine. Seuls les résultats obtenus au bout de 15 jours pour chacun des essais à chacune des concentrations sont présentés figure V.6.

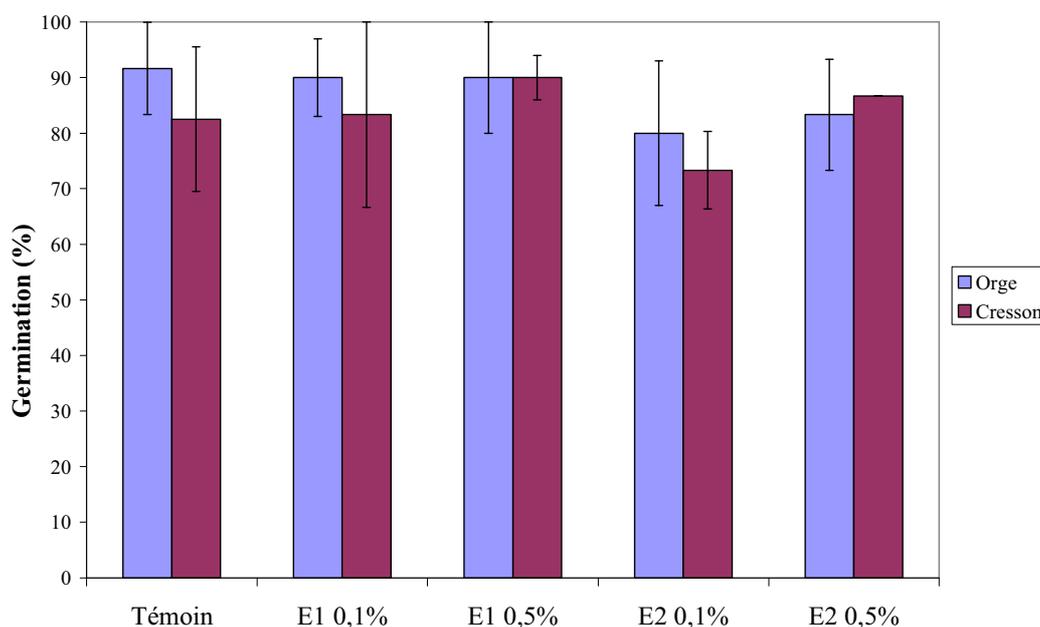


Figure V.6 : Taux de germination des graines d'orge et de cresson après 15 jours de mise en culture.

Pour l'essai 1, qui correspond à une biodégradation du PGEt synchronisé avec la mise en germination des graines, aucun effet significatif n'est observé quelle que soit la quantité de

PGEt introduite dans le terreau. Des résultats très voisins sont obtenus pour l'essai 2, qui correspond à une mise en place des graines alors que le PGEt est déjà fortement biodégradé.

V.2.3 – Influence du PGEt sur la croissance et la biomasse de l'orge

Au bout de 28 jours de culture, les parties aériennes des plantes sont coupées, puis mesurées individuellement et enfin séchées à l'étuve jusqu'à obtenir une masse stable (masse sèche). Celle-ci correspond à la biomasse de l'orge. Les longueurs des plants ainsi que leurs masses sèches en fonction du type d'essai et de la concentration en PGEt présent dans la terre sont présentés figure V.7. Les résultats sont normalisés à 100% par rapport au témoin.

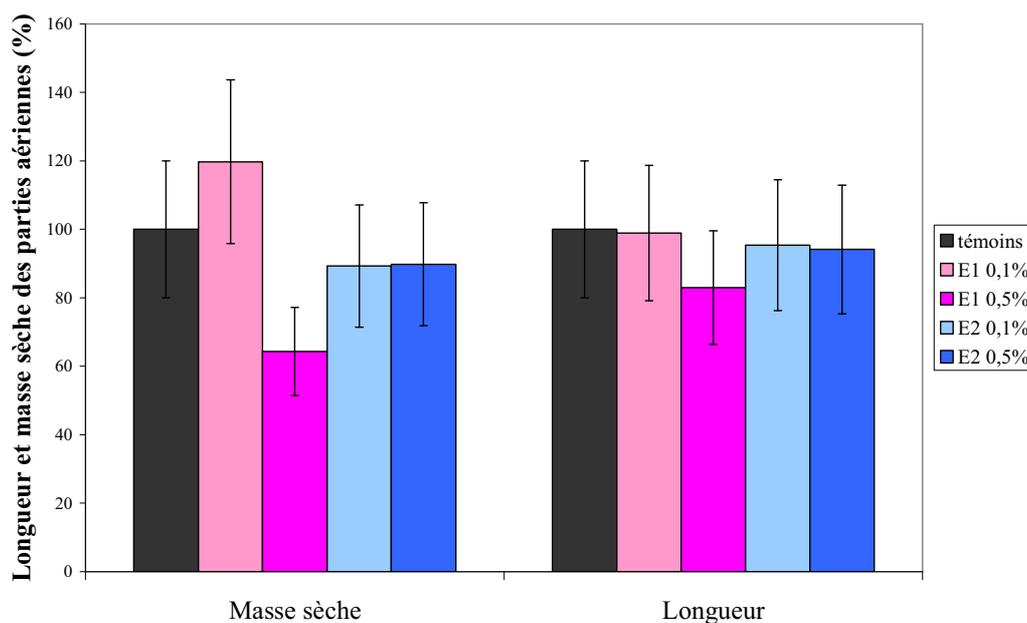


Figure V.7 : Longueur et masse sèche des parties aériennes des plants d'orge.

Bien qu'aucun effet particulier ne soit observé ni sur la croissance foliaire (longueur des parties aériennes) ni sur la biomasse (masse sèche) dans le cadre de l'essai 2 aussi bien à 0,1% de PGEt dans le terreau qu'à 0,5%, un effet de dose est présent pour les essais 1. En effet, lorsque le PGEt est incorporé à faible dose (0,1%), aucun effet voire un effet positif est observé tandis qu'à plus forte concentration une conséquence néfaste est détectée,

particulièrement sur la masse sèche. Cet effet ne peut pas être attribué à la diminution de pH (dû à la formation de fonctions acide carboxylique, cf chapitre IV) car elle n'est pas assez importante. En effet, le pH du terreau est de 6,3 et un suivi au cours de chacun des essais ne présente aucun pH inférieur à 5,5.

Des résultats similaires sont obtenus pour l'étude du cresson (figure V.8).

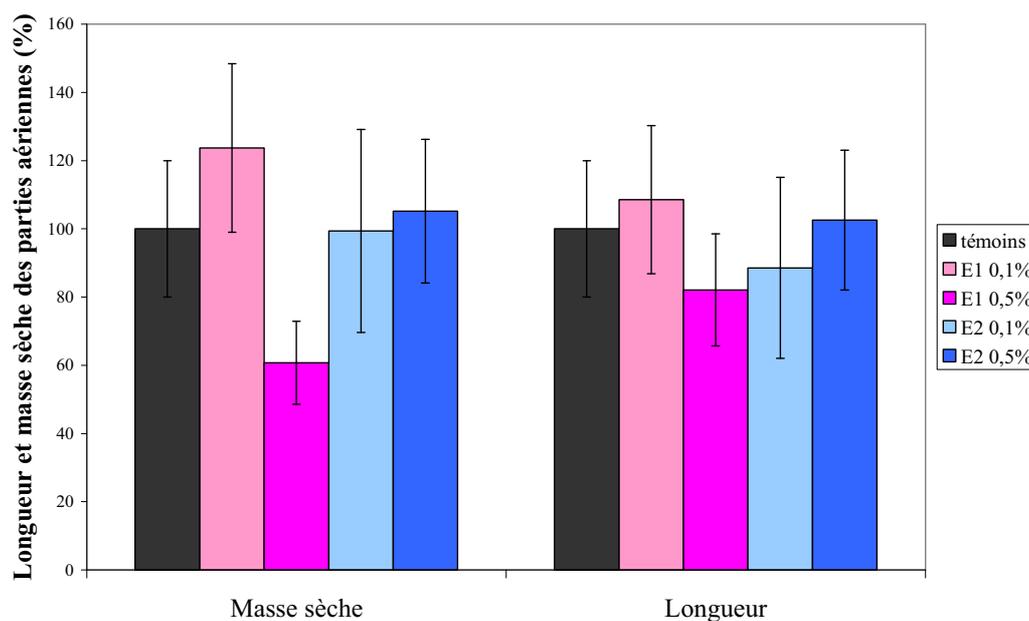


Figure V.8 : Longueur et masse sèche des parties aériennes des plants de cresson.

V.2.4 – Conclusions

Tout d'abord, les résultats obtenus pour le cresson et l'orge sont semblables. Les taux de germination sont proches quelle que soit la concentration en PGEt et la plante étudiée.

Lorsque les graines sont mises en germination alors que le PGEt est déjà fortement biodégradé (essai 2), aucun effet caractéristique sur la croissance ou la biomasse n'est remarqué. Ceci peut s'expliquer par le fait qu'après 28 jours (21 jours + 7 jours de germination), 80% du PGEt est biodégradé.

En revanche, lorsque le polymère est mis en terre au même moment que les graines (essai 1), la croissance de la plante coïncide avec la (bio)dégradation du polymère. On note alors un

effet de dose, positif ou neutre lorsque l'on se place à faible concentration en PGEt et négatif (- 40% pour la masse sèche de l'orge) lorsque la concentration est plus forte (figure V.9). Cette diminution peut être due soit aux molécules formées lors de la dégradation du PGEt, soit à la prolifération des micro-organismes apparaissant lors de la biodégradation du polymère (cf figure V.4). Dans les deux cas, plus le PGEt va être présent dans la terre, plus la concentration en sous-produits ou en micro-organismes sera forte et ainsi plus l'effet néfaste va être accentué.

Cet effet de dose nous permet de connaître les limites d'utilisation du PGEt dans des applications agronomiques.

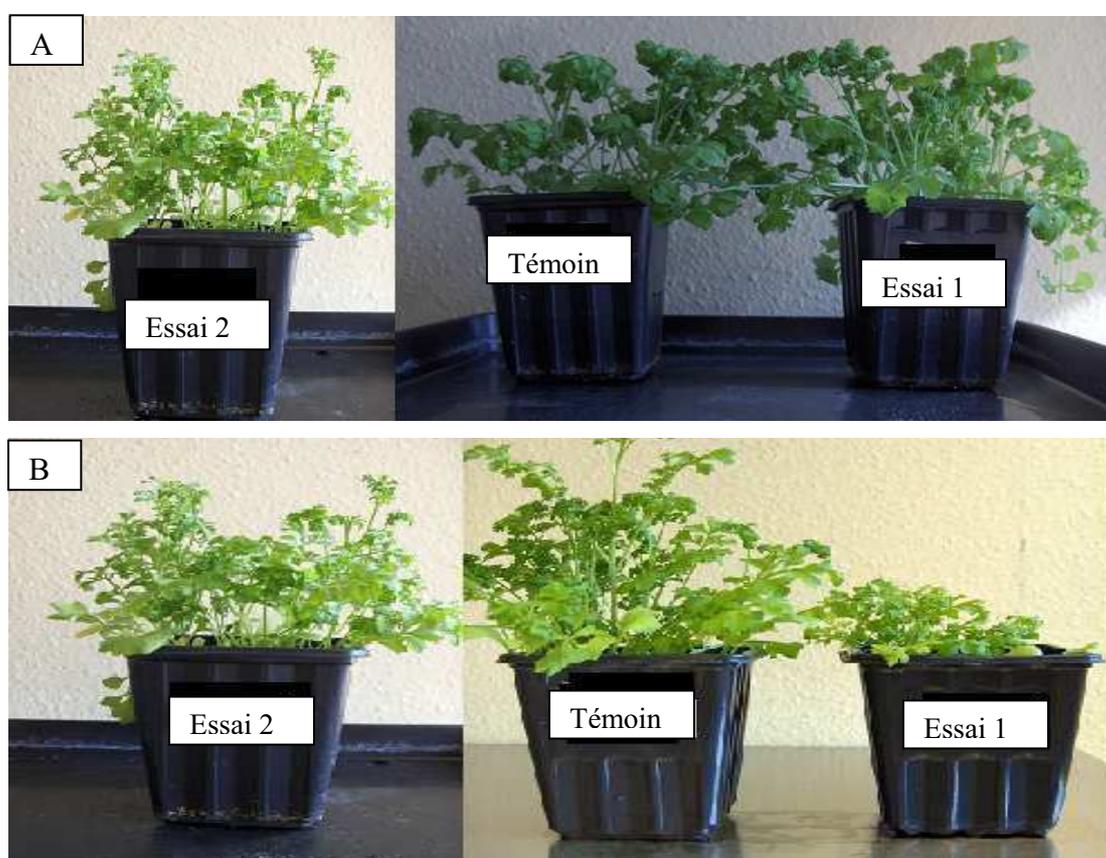


Figure V.9 : Plants de cresson après 28 jours d'essai, pour des concentrations de PGEt de 0,1g (A) et 0,5g (B) pour 100g de terreau.

V.3 – TOXICITE

Brachais⁽¹⁸⁾ a montré que le PGMe pouvait avoir un fort intérêt pour des applications pharmaceutiques. En effet, des études préliminaires de toxicité sur un PGMe terminé par l'hexaméthylène diisocyanate ne présentent aucun effet toxique sur les animaux traités, même à des doses supérieures à celles recommandées. De plus, il a été montré par une étude galénique qu'il était possible d'utiliser le PGMe comme matrice pour la libération de principe actif⁽¹⁹⁾.

Afin de vérifier que le PGEt est lui aussi non toxique pour les êtres vivants, une première étude de cytotoxicité sur les hématies (test d'hémolyse) et une seconde sur un organisme entier, le nématode *C. elegans* ont été conduites.

V.3.1 – Hématotoxicité

La libération contrôlée de principe actif est l'une des applications envisagées pour le PGEt en tant que matrice. Pour cela, il nous a semblé nécessaire de tester l'innocuité du PGEt vis-à-vis du sang.

Nous avons également testé un poly(acide lactique) amorphe (D,L-PLA) comme polymère biocompatible témoin.

Une première étude comparative d'hématotoxicité de ces deux polymères a donc été entreprise. Le protocole expérimental utilisé a déjà été validé au laboratoire dans une étude précédente⁽²⁰⁾. Plus précisément, un échantillon de PGEt est mis en contact avec des hématies à 37°C, pendant deux heures, puis le taux d'hémoglobine libérée dans le surnageant, reflet de la lyse des hématies, est évalué par mesure de la densité optique à 540nm. Un témoin négatif, c'est-à-dire présentant 0% de lyse d'hématies est déterminé en mettant en contact des hématies avec uniquement le milieu d'incubation et un témoin positif (100% de lyse) est obtenu en plaçant des hématies en présence d'un détergent, le dodecyl sulfate de sodium (SDS).

Le pourcentage d'hématies intactes est calculé selon :

$$\text{Hématies intactes (\%)} = 100 - \frac{A_{\text{éch}} - A^-}{A^+ - A^-} 100$$

Où $A_{\text{éch}}$ représente l'absorbance du surnageant des hématies en contact avec un matériau, A^- est l'absorbance du contrôle négatif (sans traitement) et A^+ celle du contrôle positif (lyse à 100%).

Les résultats obtenus, pour chacun des polymères ainsi que pour le blanc, ne contenant que de l'eau, sont présentés dans la figure V.10.

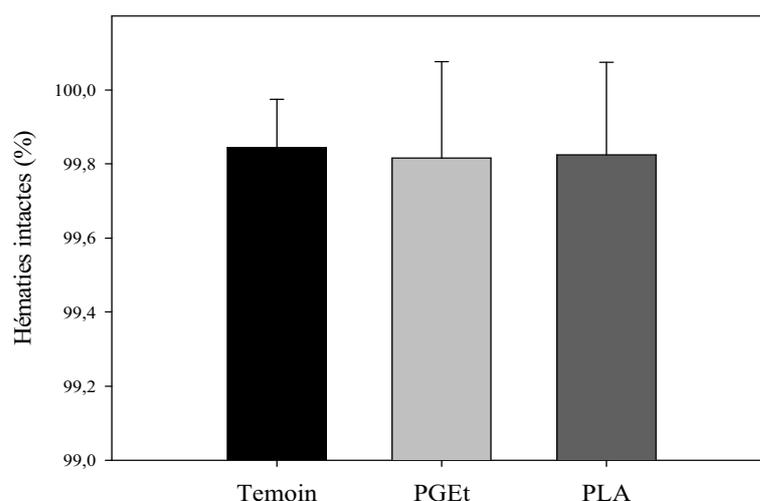


Figure V.10 : Pourcentage d'hématies intactes après 2 heures de contact avec de l'eau physiologique (témoin), du PGEt ou du PLA à 37°C (6 mesures pour chaque condition).

Les valeurs obtenues pour le PGEt sont sensiblement identiques à celles du PLA et du témoin, de l'ordre de 99,8 % d'hématies intactes au bout de 2 heures de contact. On peut donc conclure que le PGEt n'a pas d'effet néfaste sur les hématies. Cependant, on peut se poser la même question vis-à-vis des produits de dégradation.

Nous avons alors étudié l'hématotoxicité des produits ultimes de dégradation du PGEt : le HAG et l'éthanol. Ils ont été placés dans les mêmes concentrations et les mêmes conditions d'analyse que le PGEt (figure V.11).

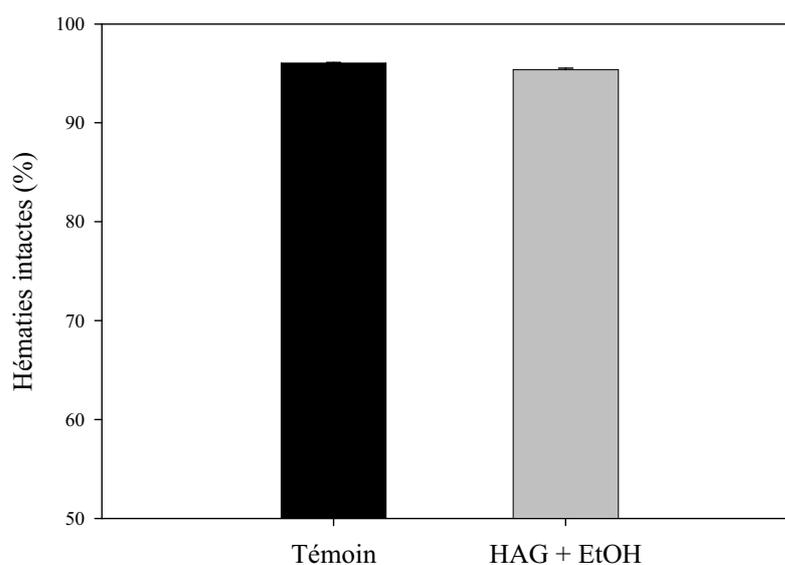


Figure V.11 : Pourcentage d'hématies intactes après 2 heures de contact avec de l'eau physiologique (témoin) ou du HAG + EtOH à 37°C (5 mesures pour chaque condition).

Il est à noter que le caractère acide du HAG, lorsqu'il est étudié seul, provoque un changement de coloration du milieu contenant les hématies dès le début de la période d'incubation (coloration marron au lieu de rouge). Etant donné que la mesure du taux d'hémoglobine libéré se fait par mesure de la densité optique, nous avons choisi d'étudier uniquement le mélange (HAG + EtOH).

Les résultats ne présentent aucun effet toxique, et même si cette étude préliminaire reste à confirmer, les produits ultimes de dégradation du PGEt ne semblent pas présenter d'effet hémolytique.

V.3.2 – Toxicité du PGEt sur *C. Elegans*

Une étude préliminaire de la toxicité du PGEt sur un organisme entier a été conduite en collaboration avec l'entreprise ADIPharm. Cette société a développé un test de toxicité alternative aiguë sur organisme entier non mammifère⁽²¹⁾. Le modèle animal utilisé est le nématode *Caenorhabditis Elegans* (*C. Elegans*) (figure V.12). Il s'agit d'un ver transparent de 1 millimètre de longueur environ à l'âge adulte, qui est hermaphrodite et vit dans la terre.

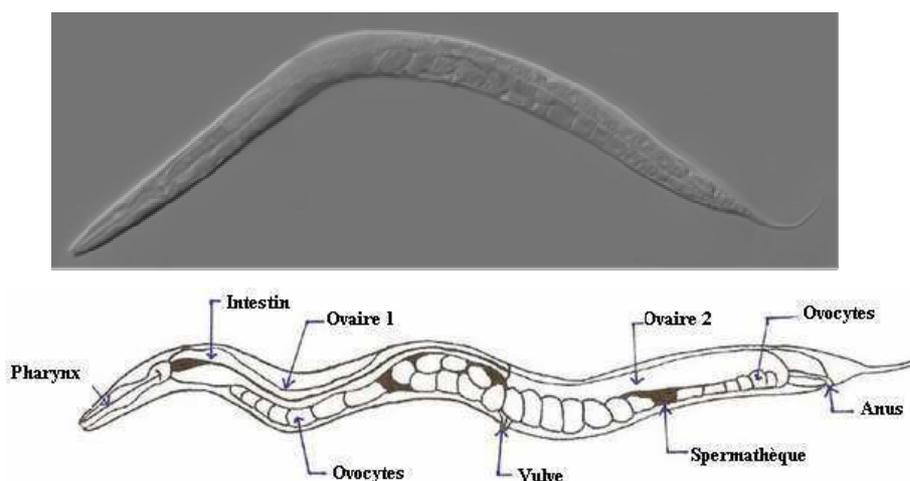


Figure V.12 : Photographie et détails du corps d'un *C. Elegans*.

Notre choix s'est porté sur ce ver car c'est un modèle en biologie moléculaire⁽²²⁾. Il permet d'étudier entre autres : l'apoptose⁽²³⁾ (suicide programmé de certaines cellules), le vieillissement cellulaire, le développement embryonnaire. De plus, une grande partie des cellules du ver étant des cellules neuronales⁽²⁴⁾, elles permettent également l'étude du système nerveux.

V.3.2.a – Principe de l'essai

Cette étude est menée en corrélation avec l'analyse par RMN ¹H de la dégradation *in vitro* (voir chapitre IV). En effet, un film de PGEt est placé dans de l'eau milliQ à 37 °C dans les mêmes concentrations (120 mg/ 4 mL d'eau). Un échantillon de la solution est alors étudié à différents temps de dégradation du PGEt.

Pour que tous les vers utilisés lors des expériences soient de même âge et de même taille, une première étape de synchronisation des vers est nécessaire. Elle consiste à faire fondre la membrane des vers adultes en utilisant une solution d'eau de javel et de soude (bleaching). Les œufs libérés par le corps des adultes sont déposés sur une gélose. Après 36 heures, les œufs éclosent libérant ainsi des vers synchronisés. 48 heures après leur éclosion, environ vingt vers vivants sont prélevés et déposés sur une gélose sans nourriture, sur laquelle a été déposé un échantillon (50 µL) de la solution de dégradation du PGEt ou d'eau stérile (témoin). Les

vers sont alors dénombrés au microscope à transmission après 3h. Ce nombre est considéré comme le 100% de vers vivants déposés sur la gélose. A $t = 24$ h et $t = 48$ h de contact les vers vivants sont dénombrés sur chaque boîte de gélose.

V.3.2.b – Résultats

Les études ont été menées sur la solution après 14, 26, 41, 56, 85 et 117 jours de dégradation du PGEt. Pour mémoire, la figure V.13 représente la libération des différentes espèces (voir chapitre IV), les traits rouges désignant les jours d'analyse de toxicité sur *C. Elegans*.

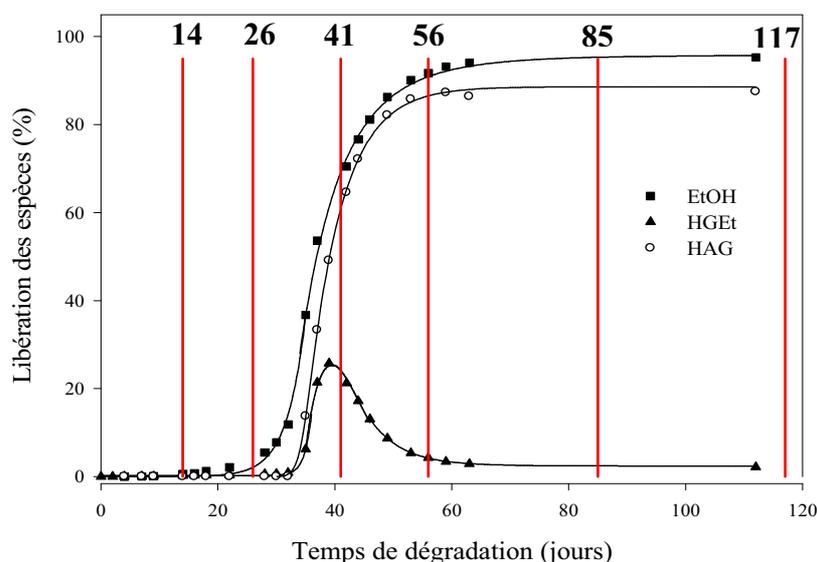


Figure V.13 : Espèces libérées lors de la dégradation du PGEt.

On s'attend à ce que les deux premières analyses, à 14 et 26 jours, ne présentent pas de mortalité accentuée des vers étant donné qu'aucune espèce n'est réellement relarguée. Le test à 41 jours devrait nous permettre, entre autres, d'évaluer la toxicité du HGEt qui est alors à son taux maximum. Les essais à 56, 85 et 117 jours enfin, permettront de savoir si les produits ultimes de dégradation sont toxiques ou non. Les taux de survie des vers au bout de 24 et 48 heures sont présentés en figure V.14.

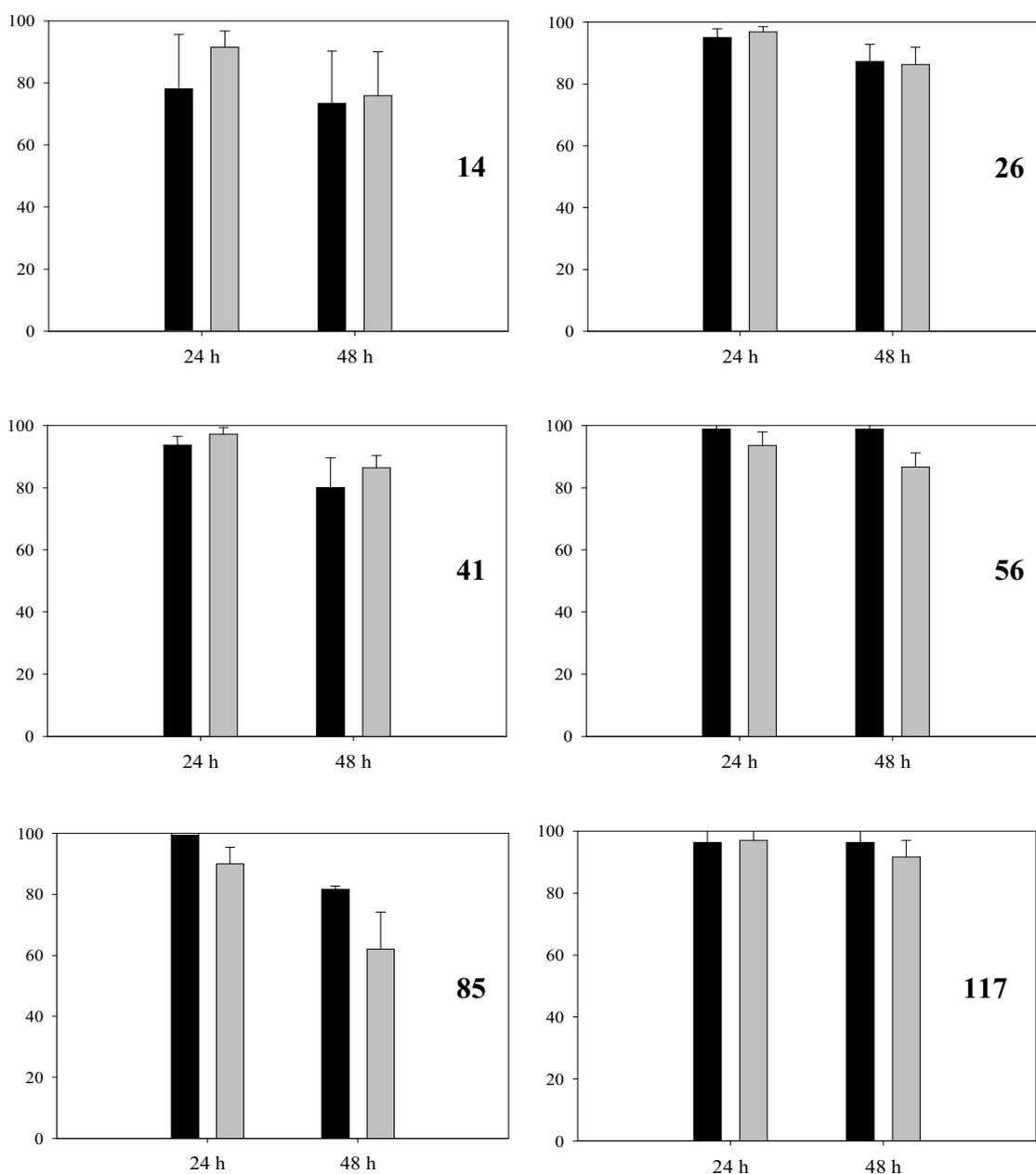


Figure V.14 : Taux de survie des *C. Elegans* après 24h et 48h en présence d'une solution de PGEt (■) à 14, 26, 41, 56, 85 et 117 jours de dégradation ou d'un témoin (■), 6 mesures pour chaque condition.

Les taux de survie des vers sont comparables pour le PGEt (par rapport au témoin), quel que soit le jour de l'étude, démontrant l'innocuité de ce polymère et de tous ses sous-produits. Pour le confirmer, l'ultime produit de la dégradation du PGEt, le HAG seul a alors été testé dans les mêmes conditions d'analyse (figure V.15).

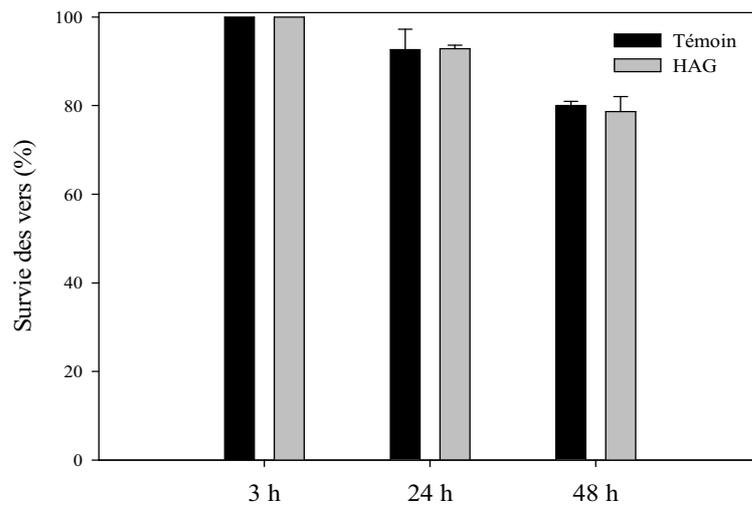


Figure V.15 : Taux de survie des *C. Elegans* en présence d'une solution d'hydrate d'acide glyoxylique.

D'une part, une diminution du taux de survie est observée tout au long de l'étude, aussi bien pour les tests du HAG que pour le témoin, ceci étant dû à l'absence de nourriture. D'autre part, au cours de tous les essais, les résultats obtenus pour les échantillons sont toujours similaires à ceux des témoins (ne comportant que de l'eau).

Ces premiers tests ne montrent donc aucun effet toxique aigu du PGEt.

V.4 – CONCLUSION

L'étude du dosage de la libération de dioxyde de carbone lors du test de respirométrie a permis de confirmer que le PGEt est biodégradable. De plus, l'étude d'écotoxicité a démontré que les micro-organismes étaient toujours présents et actifs en fin de biodégradation.

Le PGEt n'a aucune influence sur la germination de l'orge et du cresson quelle que soit la dose étudiée (0,1 ou 0,5% de PGEt). Cependant, un effet de dose du PGEt sur la croissance de ces plantes semble indéniable. En effet, à fortes concentrations en PGEt, une diminution notable de la longueur des parties aériennes et de la masse sèche est observée. Celle-ci peut être due à la prolifération des micro-organismes lors de la phase la plus rapide de la biodégradation.

Enfin, les études préliminaires de cytotoxicité sur les hématies et de toxicité alternative sur le nématode *C. Elegans* montrent qu'il n'y a aucun effet toxique ni des produits libérés par le PGEt au cours de sa dégradation, ni de son produit ultime le HAG.

Ces résultats sont très encourageants et permettent d'envisager de nombreuses applications, tant dans le domaine médical ou pharmaceutique (matrice à libération contrôlée de principe actif) qu'agronomique (paillis, enrobage protecteur de graine).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 - E. M. Firenzuoli, P. Vanni, E. Mastronuzzi, A. Zanobini, V. Baccari, *Life sciences*, 7 (24), **1968**.
- 2 - P. J. Eastmond, A. G. Ian, *Trends in plant science*, 6 (2), 72, **2001**.
- 3 - H. Bewa, ADEME, *Biodégradabilité et matériaux polymères biodégradables, note de synthèse I*, **2005**.
- 4 - S. Grima, thèse de 3ème cycle, Institut National Polytechnique de Toulouse, **2002**.
- 5 - Handbook of biodegradable polymers, Rapra technology limited, Shawbury, UK.
- 6 - P. Püchner, W.-R. Müller, D. Bardtke, *J. Environ. Polym. Degr.*, 3 (3), 133, **1995**.
- 7 - OECD 301B, Ready biodegradability: Modified Sturm test, Guidelines for testing of chemicals, Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), Paris, France, **1993**
- 8 - U. Pagga, D. B., Beimborn, J. Boelens, B. De Wilde, *Chemosphere*, 31 (11/12), 4475, **1995**.
- 9 - M. Tosin, F. Degli-Innocenti, C. Bastioli, *J. Environ. Polym. Degr.*, 6 (2), 79, **1998**.
- 10 - M. O. Rutiaga, L. J. Galan, L. H. Morales, S. H. Gordon, S. H. Imam, W. J. Orts, G. M. Glenn, K. A. Nino, *J. Polym. Environ.*, 13 (2), 185, **2005**.
- 11 - S. Lefaux, A. Manceau, L. Benguigui, I. Campistron, A. Laguerre, M. Laulier, V. Leignel, G. tremblin, *C. R. chimie* 7, 97, **2004**.
- 12 - E. Chiellini, A. Corti, G. Swift, *Polym. Degrad. Stab.*, 81, 341, **2003**.
- 13 - E. Chiellini, A. Corti, *Macromol. Symp.*, 197, 381, **2003**.
- 14 - P. Feuilloley, G. Cesar, L. Benguigui, Y. Grohens, I. Pillin, H. Bewa, S. Lefaux, M. Jamal, *J. Polym. Environ.*, 13 (4), 349, **2005**.
- 15 - Norme ISO **1999b** : Plastics – Determination of the ultimate aerobic biodegradability in soil by measuring the oxygen demand in a respirometer or the amount of carbon dioxide released.
- 16 - J. Tuominen, J. Kylma, A. Kapanen, O. Venelampi, M. Itavaara, J. Seppala, *Biomacromolecules*, 3, 445, **2002**.
- 17 - Norme XP U 44-167 : Amendements pour sols organiques - Biotest pour l'évaluation de la phytotoxicité en conditions d'utilisation.
- 18 - C.-H. Brachais, Thèse de 3ème cycle, Université de Rouen, **1995**.

- 19 - C.-H. Brachais, R. Duclos, C. Vaugelade, J. Huguet, M.-L. Capelle-Hue, C. Bunel, *Int. J. Pharm.*, 169, 23, **1998**.
- 20 - L. Poussard, F. Burel, J.-P. Couvercelle, O. Lesouhaitier, Y. Merhi, M. Tabrizian, C. Bunel, *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, 16 (3), 335, **2005**.
- 21 - O. Lesouhaitier, C. Leprettre, M. C. J. Feuilleley, *Alternative toxicity tests for cosmetics and primary products: towards an integrated in-vitro approach.*, Cosminov, Orléans, 11-12 octobre **2007**.
- 22 - S. Brenner, *Genetics*, 77, 71, **1974**.
- 23 - J. F. Kerr, A. H. Wyllie, A. R. Currie, *Br J Cancer*, 26, 239, **1972**.
- 24 - J. G. White, E. Southgate, J. N. Thomson, S. Brenner, *Phil.Trans.Roy.Soc.Lond.B.*, 314, 1, **1986**.
- 25 - G. Kale, R. Auras, S. P. Singh, R. Narayan, *Polymer testing*, 26, 1049, **2007**.

CONCLUSION

Dans ce travail de thèse, notre objectif était de valider les potentialités du polyglyoxylate d'éthyle (PGEt) pour des applications pharmaceutiques, médicales ou agronomiques... en évaluant ses bio-performances.

En ce sens, nous pouvons considérer que notre objectif a été atteint. En effet, dans un premier temps, nous avons purifié et polymérisé le glyoxylate d'éthyle (GEt) à partir de lots industriels qui, a priori, ne sont pas parfaitement adaptés à nos synthèses en termes de pureté. Bien que nous ne contrôlions pas les réactions de transfert mises en jeu, des polymères à extrémités hydroxyle ont été obtenus sur une large gamme de masses molaires.

Une étude des paramètres thermodynamiques de la polymérisation a été réalisée. La température plafond (T_p) du PGEt est basse, 37°C , pour une concentration de 1 mol.L^{-1} . Le blocage des extrémités, rendu nécessaire en raison de la faible valeur de T_p , a été optimisé.

L'utilisation du phényl isocyanate, qui conduit à des extrémités neutres, a permis d'étudier les propriétés du PGEt. Ainsi, sa tenue en température est bonne (jusqu'à 180°C) mais sa température de transition vitreuse est basse (7°C) ce qui complique sa manipulation.

De plus, nous avons tiré parti de ces extrémités hydroxyle pour préparer des copolymères triblocs par polymérisation radicalaire contrôlée, en modifiant les extrémités du PGEt par le bromure de 2-bromo-2-méthyl propionyle. Des copolymères ont été obtenus de manière contrôlée. La validation de cette technique sur le styrène permet d'envisager son élargissement à d'autres monomères, permettant alors l'élaboration de copolymères à propriétés variables.

Une étude de la dégradation du PGEt en milieu aqueux a ensuite été menée. Par RMN ^1H et en suivant l'évolution de molécules modèles (glyoxylate d'éthyle, acide glyoxylique, diéthoxyacétate d'éthyle) dans l'eau, nous avons pu identifier les différentes espèces apparaissant lors de la dégradation du PGEt.

Ces résultats, couplés à une étude en atmosphère saturée en eau, ont permis de proposer un mécanisme de dégradation par hydrolyse *in vitro* mettant en jeu des coupures de chaînes et des hydrolyses des esters.

Concernant les bio-performances, tout d'abord un suivi de la libération du dioxyde de carbone libéré par le PGEt au cours d'un test respirométrique a démontré que le polymère était totalement biodégradable et n'avait pas d'effet néfaste sur les micro-organismes.

De plus, une étude de phytotoxicité a établi que le PGEt n'avait aucun effet sur la germination des graines d'orge et de cresson, mais que seul un effet de dose existait sur la longueur des parties aériennes et la biomasse.

Enfin, le PGEt n'est pas hématotoxique et n'a pas non plus d'influence sur la mortalité des vers *C. Elegans*.

En conclusion, le PGEt est un excellent candidat pour des applications pharmaceutiques, médicales ou agronomiques. Ses potentialités sont démontrées mais sa synthèse reste à optimiser et ce seront ses propriétés physico-chimiques, en termes de Tg et de vitesse de dégradation, qui guideront ses domaines d'applications comme homopolymère.

Une nouvelle voie de recherche a été ouverte, relative aux copolymères triblocs, qui devrait permettre de moduler et d'adapter les propriétés de ces systèmes aux applications envisagées.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Synthèse du PGEt

- **Préparation du dichlorométhane**

Le dichlorométhane (Acros qualité spectroscopie – 99,8%) est distillé sur sodium, à pression atmosphérique. Le dichlorométhane recueilli est alors conditionné dans des piluliers sertis et conservé au congélateur.

- **Préparation de la triéthylamine**

La triéthylamine (Acros – 99%) est distillée sur potasse, à pression atmosphérique. Elle est ensuite conservée dans des piluliers sertis au congélateur.

- **Purification du glyoxylate d'éthyle**

La société Clariant nous fournit un mélange 50/50 v/v GEt/toluène qu'il est donc nécessaire de purifier. Pour cela, il est distillé sur pentaoxyde de phosphore (P_2O_5) et sous vide contrôlé. Le schéma du montage est donné figure 1.

Pour limiter au maximum la présence d'eau, la verrerie est placée auparavant dans une étuve à 110°C et le montage est flammé avant insertion du ballon réactionnel.

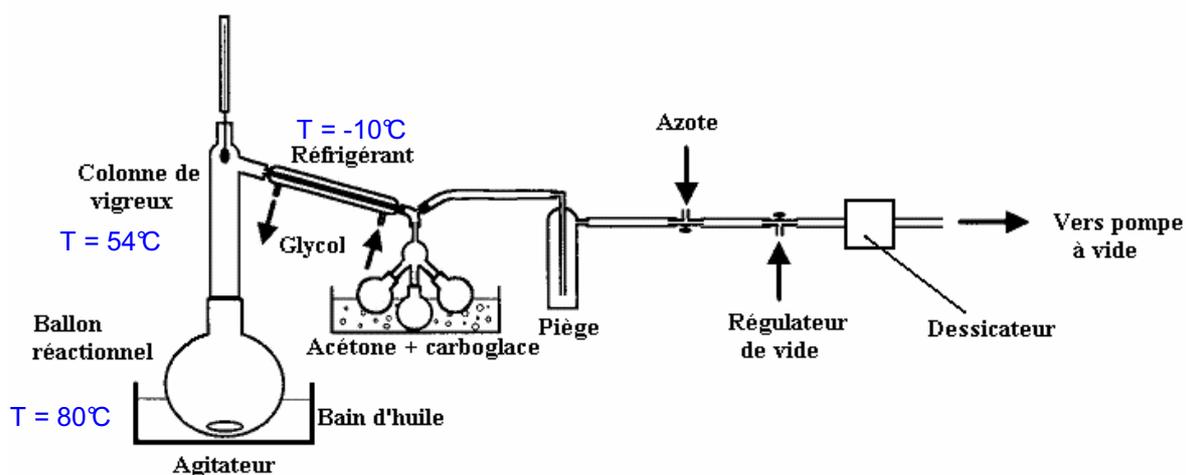


Figure 1 : Montage de purification du GEt

Dans le ballon réactionnel, on introduit environ 100 g de mélange GEt/toluène 50/50 (soit environ 1 mole de GEt) et 25 g de P₂O₅. Le ballon est adapté au montage sous azote avant de le faire chauffer à 90°C pendant ½ heure afin d'activer le P₂O₅. Le montage est alors placé progressivement sous vide. La tête de distillation, contenant le toluène et des impuretés, est récupérée à partir de 120 mbar à 80°C. Le monomère est recueilli à partir de 100°C sous une pression de 50 mbar dans un bain d'acétone/carboglance de façon à éviter toute oligomérisation. En fin de distillation, le montage est replacé sous azote et le ballon contenant le GEt est rapidement fermé par un septum.

- **Polymérisation du GEt**

Le ballon de récupération du GEt étant taré, on connaît exactement la masse de monomère distillé obtenue (m_{GEt}). Sous agitation magnétique, dans un bain acétone/carboglance à -20°C, on ajoute à l'aide d'une seringue un volume d'une solution connue dichlorométhane/triéthylamine (1 mL / 2μL) telle que :

$$V_{\text{solution}} = \frac{m_{\text{GEt}}}{4}$$

Le mélange change alors de couleur et de viscosité, de jaune et liquide à incolore et visqueux. Il est ensuite maintenu à cette température pendant 1 heure.

- **Terminaison du PGEt**

De nombreuses réactions de transfert se produisant dans le milieu réactionnel, l'agent de terminaison est ajouté en excès, comme si la masse molaire du polymère était de 3000 g.mol⁻¹ suivant l'équation :

$$V_{\text{agent de terminaison}} = \frac{m_{\text{PGEt}}}{M_{\text{PGEt}}} 1,1 \frac{M_{\text{agent de terminaison}}}{d_{\text{agent de terminaison}}} 2$$

où : $V_{\text{agent de terminaison}}$ est le volume d'agent de terminaison à introduire

$M_{\text{agent de terminaison}}$ est la masse molaire de l'agent de terminaison

$d_{\text{agent de terminaison}}$ est la densité de l'agent de terminaison

$$m_{\text{PGEt}} = m_{\text{GEt}}$$

$$\overline{Mn}_{\text{PGEt}} = 3000 \text{ g.mol}^{-1}$$

1,1 correspondant à un excès de 10% et 2 car il y a 2 extrémités par chaîne.

- ***terminaison par le phenyl isocyanate :***

Quelques gouttes de dilaurate de dibutyl étain (DBTL) sont d'abord ajoutées à la seringue au mélange réactionnel, toujours placé dans un bain d'acétone/carboglance, puis le phénylisocyanate. Le mélange est laissé remonter à température ambiante pendant la nuit puis placé à 40 °C pour 24 heures supplémentaires.

Le polymère est alors précipité dans le méthanol et/ou dans l'éther de pétrole (suivant les masses molaires obtenues) puis séché à l'étuve sous vide.

- ***terminaison par le bromure de 2-bromo-2-méthyl propionyle :***

Afin de neutraliser l'acide potentiellement produit par la réaction de terminaison, un excès (20% par rapport à $\overline{Mn}_{\text{PGEt}}$ définie à 3000 g.mol⁻¹) de triéthylamine, est ajouté à la seringue au mélange réactionnel, toujours placé dans un bain d'acétone/carboglance car la réaction est exothermique. Le bromure de 2-bromo-2-méthyl propionyle est alors ajouté au goutte à goutte sous vive agitation. Le mélange est laissé remonter à température ambiante pendant la nuit. Après deux extractions eau/dichlorométhane, un séchage sur sulfate de calcium et une filtration (afin d'éliminer le sel de triéthylamine formé), la phase organique est concentrée à l'évaporateur rotatif. Le polymère est alors précipité dans le méthanol et/ou dans l'éther de pétrole (suivant les masses molaires obtenues) puis séché à l'étuve sous vide.

ANNEXE 2 : Caractérisations

- **Chromatographie d'exclusion stérique (SEC)**

Les masses molaires moyennes ($\overline{M_n}$) ont été mesurées par chromatographie d'exclusion stérique, dans le dichlorométhane, après étalonnage à l'aide de standards polystyrène.

Conditions utilisées : débit : 1mL/min
 colonne : PL Gel mixte C, 5 μ m, longueur 60 cm, diam. 11 cm
 détecteur : RI Shimadzu RID-10A
 pompe : Spectra series P100

- **Résonance magnétique nucléaire (RMN ^1H et ^{13}C)**

Les études RMN ont été réalisées sur un spectromètre Bruker 300 MHz dans le CDCl_3 ou le $\text{DMSO-}d_6$ pour les analyses des PGEt, et dans le D_2O pour le suivi de la dégradation du polymère.

- **Analyse enthalpique différentielle (DSC)**

L'appareil que nous avons utilisé est un modèle Perkin Elmer DSC 7. Le système est divisé en deux boucles de contrôle. L'une sert au contrôle de la température de l'échantillon et l'autre permet, lorsqu'une différence de température se produit entre l'échantillon et la référence, d'ajuster la puissance d'entrée de manière à compenser cette différence. Un signal, proportionnel à la différence de chaleur fournie à l'échantillon et à la référence, $\frac{dH}{dt}$, est enregistré.

Le refroidissement du bloc est assuré dans les deux cas par un système de fréon permettant d'atteindre -60°C (Intracooler 2 Perkin Elmer). L'étalonnage a été effectué avec de l'indium ($T_f = 156,6^\circ\text{C}$ et $\Delta H_f = 28,45 \text{ J.g}^{-1}$).

Conditions utilisées : rampe de température : $10^\circ\text{C}/\text{min}$
 prise d'essai : 5 à 15 mg

- **Analyse thermogravimétrique (TGA)**

Les analyses thermogravimétriques ont été réalisées grâce à un appareil Perkin Elmer modèle TGA 7. Il est composé de deux éléments principaux : une microbalance et un four. Dans le cadre de nos études, l'ensemble est balayé d'un courant d'azote.

La microbalance est apte à détecter une variation de 0,1µg pour une capacité totale de 1,3g. L'échantillon est placé dans une coupelle, et le fléau maintenant la nacelle support dévie. Cette déviation est détectée par des capteurs optiques et un apport de courant compensateur vers un électroaimant, ramène le fléau à sa position initiale. La quantité de courant fourni est directement liée à la masse de l'échantillon. La microbalance est étalonnée avec une tare de 100mg.

Le four permet de travailler dans une gamme de température allant de l'ambiante à 950°C avec des rampes éventuellement très rapides (200K/min). Un thermocouple chromel-alumel à proximité de la coupelle échantillon mesure la température et assure sa régulation.

L'étalonnage a été effectué avec de l'alumel et du perkalloxy dont les points de curie sont respectivement de 163°C et 596°C, suivi d'une calibration du four.

Conditions utilisées : rampe de température 10°C/min
 prise d'essai : 5 à 20 mg
 balayage d'azote : 200 mL/min

ANNEXE 3 : Copolymérisation du PGEt par ATRP

La N,N,N',N'',N''-pentaméthyl-diéthylène-triamine, PMDETA, (Acros) et l'anisole (Acros, 99% extra pure) sont utilisés sans purification supplémentaire.

- **Préparation du bromure de cuivre, CuBr**

Le bromure de cuivre (Acros) est lavé à l'acide acétique glacial pendant quelques heures sous agitation, puis filtré sur fritté et lavé d'une part à l'éthanol et d'autre part à l'éther. Il est enfin séché sous vide (0,1mbar) à 50°C pendant 24 heures.

- **Préparation du Styrène**

Le styrène (Acros – 99%) est distillé sous pression réduite (0,1mbar) à température ambiante. Il est ensuite placé sous azote et conservé au congélateur.

- **Copolymérisation en masse du styrène par ATRP**

Dans un ballon schlenk, le macroamorceur PGEt (0,4 g ; $1,02 \cdot 10^{-4}$ mol), la PMDETA (35,4 mg ; $2,04 \cdot 10^{-4}$ mol) et le bromure de cuivre (29,3 mg ; $2,04 \cdot 10^{-4}$ mol) sont dégazés par 3 cycles gel (bain dans l'azote liquide)/dégel puis placés sous azote. Le styrène est ajouté à l'aide d'une seringue préalablement dégazée. Le tout est alors placé dans un bain thermostaté à 110°C et sous atmosphère d'azote.

Après 16 heures de réaction, le polymère est dissous dans du chloroforme et la suspension est filtrée sur une colonne de silice pour éliminer les sels de cuivre. Après concentration, le polymère est récupéré par précipitation dans un excès de méthanol.

- **Etude cinétique de la copolymérisation du styrène par ATRP**

Deux ballons schlenk contenant, d'une part, le macroamorceur PGEt (0,4 g ; $1,02 \cdot 10^{-4}$ mol) et l'anisole (2 mL ; 18,3 mmol), et d'autre part, la PMDETA (35,4 mg ; $2,04 \cdot 10^{-4}$ mol) et le bromure de cuivre (29,3 mg ; $2,04 \cdot 10^{-4}$ mol) sont dégazés par 3 cycles gel (bain dans l'azote liquide)/dégel puis placés sous azote.

La solution de PGEt est alors ajoutée au complexe PMDETA/CuBr à l'aide d'une seringue préalablement dégazée. Le mélange est alors placé dans un bain thermostaté à 110°C, sous atmosphère d'azote et le styrène est incorporé à l'aide d'une seringue préalablement dégazée.

A chaque prélèvement, quelques gouttes du mélange sont placées dans du CDCl_3 afin de déterminer la conversion par RMN ^1H . Le reste du prélèvement (0,3 mL) est passé sur colonne de silice (éluant : chloroforme) pour éliminer les sels de cuivre. Après concentration, le polymère est récupéré par précipitation dans un excès de méthanol.

ANNEXE 4 : Dégradation du PGEt dans D₂O et à pH = 4 et 9.

• Préparation des films de PGEt

Pour obtenir un film de 0,3 mm d'épaisseur : 2,1 g de PGEt sont dissous dans 29,6 mL de dichlorométhane. Le mélange est versé dans un moule en silicone de dimension 7,2 cm x 7,2 cm x 0,6 cm puis laissé 24 heures sous une hotte et séché 24 heures à 50°C sous vide (0,1 mbar).

Le film est alors découpé au scalpel en morceaux d'environ 0,5 cm x 1 cm et utilisé pour les différentes études.

• pH = 4

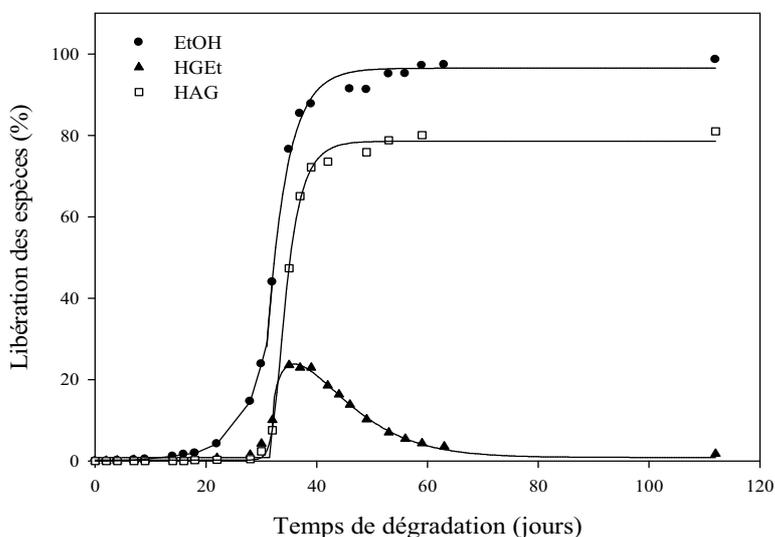


Figure 2 : Libération des espèces (éthanol, hydrate de glyoxylate d'éthyle et hydrate d'acide glyoxylique) au cours de la dégradation du PGEt, à pH = 4, par RMN ¹H.

- D_2O

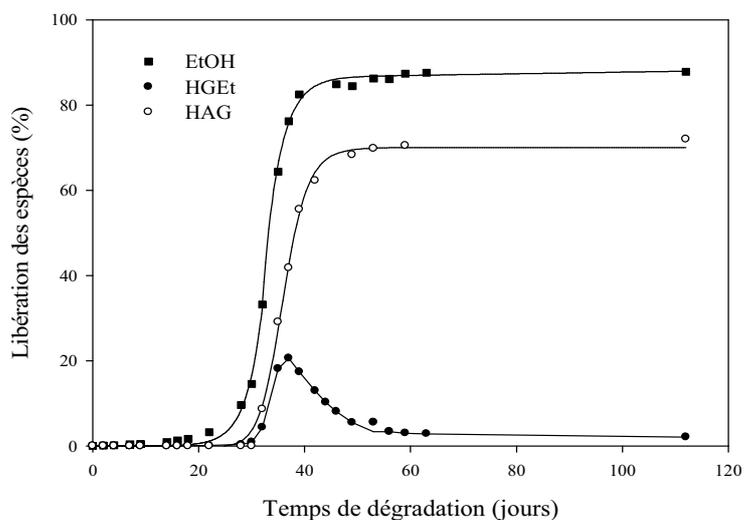


Figure 3 : Libération des espèces (éthanol, hydrate de glyoxylate d'éthyle et hydrate d'acide glyoxylique) au cours de la dégradation du PGEt dans D_2O , par RMN 1H .

- $pH = 9$

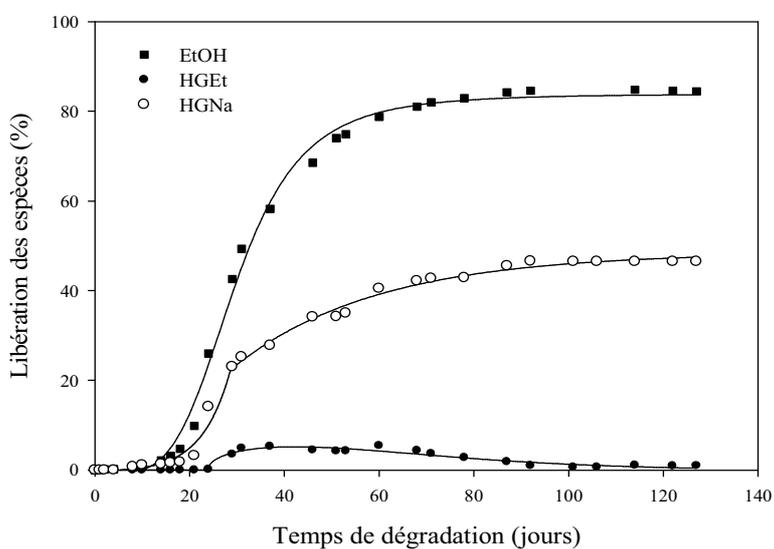


Figure 4 : Libération des espèces (éthanol, hydrate de glyoxylate d'éthyle et hydrate d'acide glyoxylique) au cours de la dégradation du PGEt à $pH = 9$, par RMN 1H .

ANNEXE 5 : Biodégradation

- **Préparation des films de PGEt**

Pour obtenir un film de 0,3 mm d'épaisseur : 2,1 g de PGEt sont dissous dans 29,6 mL de dichlorométhane. Le mélange est versé dans un moule en silicone de dimension 7,2 cm x 7,2 cm x 0,6 cm puis laissé 24 heures sous une hotte et séché 24 heures à 50°C sous vide (0,1 mbar).

Le film est alors découpé au scalpel en morceaux d'environ 0,5 cm x 1 cm et utilisé pour les différentes études.

- **Préparation de la terre**

La terre a été prélevée dans une prairie normande n'ayant pas reçu de traitement chimique récent. Elle est passée sur un tamis de 2 mm, puis séchée jusqu'à obtenir une masse stable. Sa capacité de rétention d'eau (0,22mL d'eau/g de terre) et son pH (7,02) sont déterminés.

- **Détermination de la teneur en carbone organique de la terre**

Une partie de cette terre est ensuite retamisée (diam. de 250 μ m) pour doser sa quantité de carbone par oxydation sulfochromique. Pour cela, dans un ballon de 250mL, on introduit 0,6g de terre auxquels on ajoute 10mL d'une solution à 8% de dichromate de potassium (16g dans 200mL) et 15mL d'acide sulfurique concentré. Le tout est porté à ébullition pendant 5 minutes puis rapidement refroidi (bain d'eau froide). La solution est transvasée dans une fiole de 200mL en complétant jusqu'au trait. Après 1 heure de décantation, 25mL de cette solution sont placés dans une fiole de 500mL avec 200mL d'eau distillée, 5mL d'acide orthophosphorique et 5 gouttes d'une solution sulfurique de diphénylamine (0,1g de diphénylamine dans 4mL d'eau distillée et 20mL d'acide sulfurique). Le tout est titré par une solution de sulfate double d'ammonium et de fer (15,685g de sulfate double d'ammonium et de fer hexahydraté dans 140mL d'eau distillée et 4mL d'acide sulfurique concentré).

Un essai à blanc (sans terre) est également effectué. La teneur en carbone peut alors être exprimée selon :

$$\text{Teneur en carbone (g/kg)} = \frac{C \cdot 0,6 \cdot (V_0 - V_1) \cdot (200 \cdot 1000)}{0,2 \cdot (25 \cdot m \cdot 1000)}$$

où : C : concentration de la solution titrée de sulfate double d'ammonium et de fer (en théorie= 0,2)

0,6 : teneur en carbone d'1mL de la solution de sulfate double d'ammonium et de fer

m : masse de la prise d'essai de terre

V₀ le volume atteint au point d'équivalence pour l'essai à blanc et V₁ celui pour l'essai de la terre

• Test de biodégradation du PGEt

Dans un récipient étanche de 1L, placé à 28°C dans l'obscurité, on introduit trois flacons contenant respectivement :

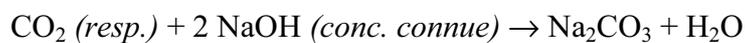
- de l'eau distillée
- 10mL d'une solution de soude à 0,2M
- 25g de terre séchée placée à sa capacité de rétention (5,5mL d'eau distillée) additionnée ou non d'un film de PGEt contenant 50mg de carbone (soit environ 100mg).

La quantité de carbone maximale libérable par le PGEt seul s'exprime alors selon :

$$Q_{\text{TCO}_2} = \frac{E_T \cdot C_E}{100} \cdot 3,664$$

Où Q_{TCO₂} est la quantité totale de CO₂ libérable (en mg), E_T la masse de l'échantillon (en mg), C_E la teneur en carbone de l'échantillon, déterminée par analyse élémentaire, soit 48,38% pour le PGEt et 44,44% pour la cellulose et 3,664 correspond au rapport $\frac{M_{\text{CO}_2}}{M_C} = \frac{44}{12}$.

Pour chaque étude, trois essais témoins (sans PGEt) et trois essais échantillons sont effectués. A différents temps, la solution de soude est analysée et remplacée. Le CO₂ libéré par la terre ou la terre + le PGEt est évalué par dosage en retour de la soude selon :



Par soustraction du témoin (terre seule) sur le CO₂ échantillon (PGEt + terre) on obtient le CO₂ libéré par le PGEt. Le taux de biodégradation du PGEt est alors évalué par addition des valeurs de CO₂ libéré à chaque temps.

Ce protocole est identique pour l'étude de la biodégradation de la cellulose (112mg de cellulose micronisée de 90µm/25g de terre).

ANNEXE 6 : Etude de la phytotoxicité du PGEt

Effectuée au laboratoire Glycobiologie et Transport chez les Végétaux , UMR 6037Rouen
(merci à Carole Plasson et Laurence Menu-Bouaouiche)

- **Préparation du terreau**

Le terreau utilisé est un support de culture correspondant à la norme NF-U44-511. Avant utilisation, il est étuvé à 100°C pendant 48 heures.

- **Etude de la phytotoxicité du PGEt**

100g de terreau et 0,1g ou 0,5g de PGEt (sous forme de morceaux de film de taille contrôlée) sont mélangés manuellement. On ajoute 90mL d'eau milliQ pour atteindre la capacité de rétention du terreau.

A t = 0 jour (essai 1 et témoin) ou à t = 21 jours (essai 2), 10 graines de cresson ou 5 graines d'orge sont mises à germer. Chaque essai est triplé et chaque étude a été doublée.

Les pots sont placés dans un phytotron où la température, l'hygrométrie, les alternances jour/nuit et l'arrosage des plantes sont contrôlés.

A t = 5, 10 et 15 jours les graines germées sont dénombrées.

A t = 28 jours les plants sont, un à un, coupés à hauteur de la terre (partie aérienne) et mesurés. Ils sont ensuite séchés à 40°C jusqu'à obtenir une masse stable (masse sèche).

ANNEXE 7 : Etudes de la toxicité du PGEt

Effectuées au Laboratoire de Microbiologie Du Froid UPRES 2123, IUT
(merci à Olivier Lesouhaitier)

- **Etude de l'hématotoxicité du PGEt**

- *Préparation des hématies*

Le dosage est réalisé avec des hématies de moutons à 50 % fournis par Biomérieux. Les hématies sont lavées trois fois dans du tampon PBS pH 7.4 (NaCl 8 g.L⁻¹, KCl 0.2 g.L⁻¹, Na₂HPO₄.2H₂O 21 g.L⁻¹, KH₂PO₄ 8 g.L⁻¹) et resuspendues dans du milieu de culture RPMI-1640 (Sigma) pour obtenir une densité finale de 5.10⁸ hématies par mL. Cette densité est calculée par un comptage préalable sur cellule de Malassez après dilution au 1/200^{ème} dans du tampon PBS. Les hématies peuvent être conservées à 4°C.

- *Dosage de l'activité hémolytique*

Les échantillons de PGEt et PLA placés dans des tubes eppendorf sont recouverts de 1 mL d'hématies à concentration fixée à 5.10⁸.mL⁻¹. Les tubes sont incubés au bain-marie à 37°C pendant 2 heures. La libération de l'hémoglobine dans le milieu d'incubation est déterminée par mesure de l'absorbance à 540 nm, après centrifugation des tubes pendant 8 minutes à 13000 rpm et à 4°C.

Plusieurs témoins sont nécessaires pour déterminer le pourcentage d'hématies intactes:

. Le contrôle négatif (% d'hématies intactes hors traitement) (A⁻):

- 1 mL d'hématies à 5.10⁸.mL⁻¹

. Le contrôle positif de lyse 100 % (A⁺):

- 0,950 mL d'hématies à 5.10⁸.mL⁻¹

- 0,05 mL de SDS 0.1 % (lyse toutes les hématies) préparé dans du RPMI.

. Le blanc :

- 1 mL de milieu RPMI

Les résultats d'absorbance $A_{\text{éch}}$ sont exprimés sur la moyenne de 6 échantillons par matériau. La formule donnant le pourcentage d'hématies intactes :

$$\text{Hématies intactes (\%)} = 100 - \frac{A_{\text{éch}} - A^-}{A^+ - A^-} \times 100$$

Le terreau utilisé est un support de culture correspondant à la norme NF-U44-511. Avant utilisation, il est étuvé à 100°C pendant 48 heures.

- **Etude de la toxicité du PGEt sur *C. Elegans***

Protocole du test mis au point par la société ADIPpharm.

- ***Préparation des échantillons***

Des solutions de HAG et de dégradation du PGEt sont tout d'abord préparées dans les conditions de concentration utilisées pour l'étude par RMN ^1H (soit 0,59 mol.L⁻¹).

On étale 50 μL de la solution (PGEt, HAG ou H₂O (témoin)) sur les boîtes de Pétri de 35mm (minimum 3 par conditions à tester) recouvertes de milieu de vie des *C. elegans*. Puis laisser sécher 30 minutes.

Une fois que toutes les boîtes sont prêtes (gélose sèche), les *C. elegans* vont pouvoir être déposés sur la gélose:

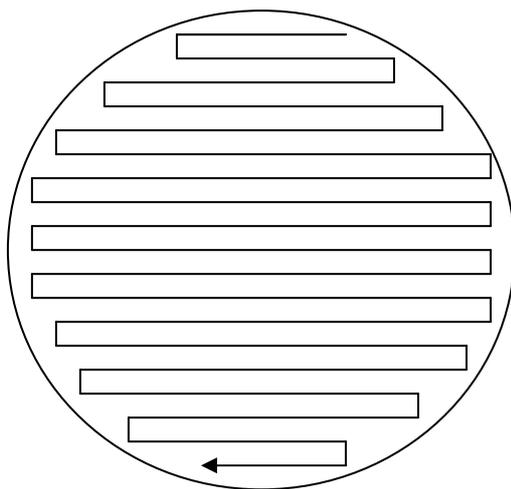
- . Homogénéiser la suspension de *C. elegans* préalablement synchronisés au stade L4 (48 heures).
- . Prélever 20 μL de la suspension de *C. elegans* ainsi homogénéisée et les déposer sur chaque boîte (ou le volume nécessaire pour une vingtaine de nématodes).

Les *C. elegans* vivants sont dénombrés après 3 heures.

Les boîtes sont incubées à 21°C et les dénombrements suivants sont réalisés à 24 et 48 heures.

- *Technique de dénombrement*

Les boites sur lesquelles sont réalisés les tests sont des boites de pétri de 35 mm car le champ de vision du microscope est aussi de 35 mm. Toute la surface de la boîte peut donc être couverte. Pour cela, il faut faire un « balayage » de toute la boîte (voir ci-dessous):



RESUMES

Résumé :

Ce travail porte sur l'étude du polyglyoxylate d'éthyle (PGEt), depuis sa synthèse et sa caractérisation jusqu'à sa dégradation et à quelques applications biologiques.

Les conditions de synthèse du PGEt choisies résident sur un amorçage anionique (NEt_3) en présence de CH_2Cl_2 . La température plafond du monomère (GEt) étant basse (7°C) il est nécessaire de bloquer les extrémités hydroxyles générées *in situ*. L'utilisation du PhNCO permet de conduire à des PGEt stables.

Le PGEt peut être utilisé comme macroamorceur de polymérisation radicalaire par transfert d'atomes (ATRP) s'il est judicieusement terminé. La copolymérisation du styrène est alors contrôlée.

La dégradation par hydrolyse *in vitro* du PGEt, conduit essentiellement à la libération d'éthanol et d'hydrate d'acide glyoxylique.

Le caractère biodégradable du PGEt a été confirmé et une étude préliminaire de toxicité (sur des hématies, des vers et des plantes) n'a pas révélé d'effet significatif aux concentrations généralement utilisées.

Abstract :

This work focuses on the study of poly(ethyl glyoxylate) (PEtG), from its synthesis and its characterization to its degradation to some biological applications.

The chosen conditions for PEtG's synthesis were initiated by an anionic way (NEt_3) in presence of CH_2Cl_2 . Because the ceiling temperature of the monomer (EtG) is low (7°C) it is necessary to block the hydroxyl ended groups generated *in situ*. The use of PhNCO leads to stables PEtG.

The PEtG can be used as a macroinitiator of atom transfer radical polymerization (ATRP) if it is wisely done. The copolymerization of styrene is then controlled.

The degradation by *in vitro* hydrolysis of PEtG mainly led to ethanol and glyoxylic acid hydrate release.

The biodegradable character of PGEt was assessed by a respirometric test and a preliminary study of toxicity (on red blood cells, worms and plants) revealed no significant effect at the concentrations generally used.