



Valorisation de la biomasse pour l'élaboration de matériaux bioactifs sous irradiation

Tina Modjinou

► To cite this version:

Tina Modjinou. Valorisation de la biomasse pour l'élaboration de matériaux bioactifs sous irradiation. Matériaux. Université Paris-Est, 2017. Français. NNT : 2017PESC1152 . tel-01630520

HAL Id: tel-01630520

<https://theses.hal.science/tel-01630520>

Submitted on 7 Nov 2017

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.



THESE

Présentée pour obtenir le grade de docteur de l'Université Paris-Est en
Chimie et Sciences des Matériaux

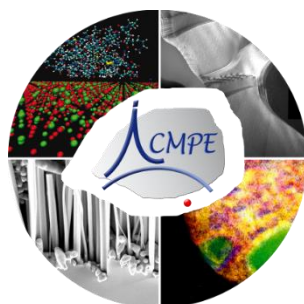
3 juillet 2017

VALORISATION DE LA BIOMASSE POUR L'ELABORATION DE MATERIAUX BIOACTIFS SOUS IRRADIATION

Tina Modjinou

Jury :

Laurence Lecamp, Professeur à l'Université de Rouen	Rapporteur
Mohamed Sarakha, Professeur à l'Université de Clermont-Ferrand	Rapporteur
Karine Réhel, Professeur à l'Université de Lorient	Examineur
Samir Abbad-Andalloussi, Maître de conférences à l'Université de Paris-Est	Examineur
Estelle Renard, Professeur à l'Université de Paris-Est	Directeur de thèse



Thèse réalisée à l'Institut de Chimie et des Matériaux Paris-Est (ICMPE) dans le département de Chimie Moléculaire et matériaux Macromoléculaires (C3M) au sein de l'équipe Système polymères Complexes (SPC).

2-8 rue Henri Dunant

94320 Thiais



Sous la direction du Professeur Estelle Renard

@ : renard@icmpe.cnrs.fr

Co-encadrée par le Maître de Conférence Davy-Louis Versace

@ : versace@icmpe.cnrs.fr

Avant Propos

Nous avons fait le choix de rédiger cette thèse sous la forme d'un recueil de publication parues ou soumises dans des revues à comité de lecture et seul le chapitre I de bibliographie, la partie 8 du chapitre II et la partie 4 du chapitre III ont été rédigées classiquement.

Ainsi, nous prions le lecteur de faire preuve d'indulgence et nous excusons par avance des redondances qu'il pourrait rencontrer lors de sa lecture intrinsèques à ce mode de rédaction.

Remerciements

Ce travail a été effectué au sein de l'équipe Système polymères Complexes (SPC) dans le département de Chimie Moléculaire et Matériaux Macromoléculaires (C3M) de l'Institut de Chimie et des Matériaux de Paris-Est (ICMPE). Je remercie Mr Michel Latroche, directeur de l'ICMPE de m'avoir accueillie au sein de son institut.

Je remercie sincèrement Mme Laurence Lecamp, professeur de l'Université de Rouen et Mr Mohamed Sarakha, professeur de l'université de Clermont-Ferrand d'avoir accepté de juger ce travail. Mes remerciements vont à Mme Karine Réhel, professeur à l'université de Lorient et Mr Samir Abbad-Andaloussi, maître de conférences à l'université Paris-Est, pour l'avoir examiné.

Un très grand merci à ma directrice de laboratoire Mme Valérie Langlois d'avoir participé activement aux publications présentées dans ce manuscrit. Merci également pour soutien moral et professionnel et pour ses rires communicatifs.

Mille mercis à ma directrice de thèse Mme Estelle Renard pour toute l'aide scientifique qu'elle m'a apporté depuis plus de 3ans, ses nombreuses idées et d'avoir partagé avec moi sa passion pour la science. Je tiens également à la remercier pour sa joie de vivre et nos nombreux fous rires. J'espère qu'elle sait combien je l'apprécie et que j'ai été heureuse d'être sa doctorante.

Merci à mon co-encadrant Mr Davy-Louis Versace pour ses conseils scientifiques, ses idées ainsi que son humour bien à lui.

Je remercie le Ministère de l'Education de m'avoir gratifiée d'une bourse et en particulier l'école doctorale Sciences Ingénierie et Environnement (SIE) pour leurs formations diverses et variées ainsi que l'organisation de rencontres telles que les Doctoriales qui malgré ma grossesse furent pour moi une expérience enrichissante scientifiquement et humainement.

Je tiens à remercier A.R. Meier de l'Institut de Technologie de Karlsruhe (Allemagne) d'avoir accepté de m'accueillir au sein de son laboratoire afin de partager ses connaissances sur la polymérisation ADMET pendant 2 mois. Ce fut une riche expérience et un dépaysement.

Je remercie également tous les membres de l'ICMPE qui m'ont apporté leurs aides dans la caractérisation ou la purification de mes produits en particulier Mr Remi Pires pour la microscopie électronique à Balayage, Mr Pierre Dubot pour les analyses XPS, Mme Junxian

Zhang pour les analyses ICP ainsi que Mme Isabelle Lachaise-Pailler et Mr Patrice Renevret de la plateforme Chromatographie Analytique et Préparative. Merci à Christine Gaillet pour ce qu'elle m'a appris sur la RMN, merci à Cédric Lorthioir et Mohamed Guerouache pour leurs disponibilités et leurs aides.

Merci également à Mr Samir Abbad-Andaloussi du laboratoire BIOEMCO de l'université Paris-Est pour m'avoir appris les bases des tests antibactériens ainsi que pour sa disponibilité et son aide scientifique.

Un grand merci à mes collègues Séna Hamadi, Laurent Michely pour leurs aides techniques et les bons moments partagés ensemble en compagnie de Tam Nguyen.

Merci à tous les stagiaires Cédrick Longange, Anthony Da Silva, Rhama Drissi, Gaëlle Perez, Pauline Sautrot et Aline Glaive d'avoir participé à ce travail. Merci aussi à tous les doctorants et/ou collègues de bureau pour nos discussions et vos blagues Cédric Lorenzini, Gaëlle Le Fer, Myriam El Founi, Caroline Poncy, Antoine Benlahoues, Romain Poupart, Myriam Bdridi, Asma Ben Sghaier, Erica Rodi, Etienne Dessauw, Heni Amari, Pierre Pubellier, Azad Erman, Hai Nguyen, Sarra Mehoud, Alina Vashchuk, Thibault Lerouge, Elsa Cansell, Caroline Jain ainsi que nos « visiteurs » Lucia, Heriberto, Shoei et Monica ainsi que tous ceux qui ont travaillé dans notre laboratoire notamment Tsilla Tavarez et Ying Ying.

Merci à mes anciens collègues de M2 devenus des amis Seydina Kebbe, Carine Mangeon et Marjolaine Tourolles d'avoir partagé cette aventure à mes côtés, d'avoir toujours été là pour moi et d'être entrés dans ma vie tout comme mes collègues du SPC et amis Guillaume Pereira et Son Vo Van.

Merci à ma meilleure amie Allison Roche d'avoir toujours cru en moi et à mes amis de fac Jimmy Alercan et Hajer Djeballi pour leur amitié.

Merci à mes parents d'avoir toujours été là pour moi et de m'avoir encouragée à poursuivre ce parcours et à mes sœurs Aurélie et Iola pour leurs soutiens et leurs présences.

Merci à mes grands-pères et ma grand-mère paternelle j'espère que vous nous voyez et que vous êtes fières et à Mémère d'être là. J'espère que tu « seras un chat chez Tina » dans ta prochaine vie.

Enfin merci à Sébastien pour son soutien sans faille depuis 7 ans et de m'avoir donné le plus beau cadeau nôte fils Lucas. Merci également à toute sa famille pour toutes leurs gentilleses et attentions envers Lucas.

Table des matières

Introduction générale.....	8
Chapitre I: Etude bibliographique sur l'utilisation des ressources renouvelables comme précurseurs biosourcés pour le design de réseaux photoinduits.....	11
I.1 Introduction	11
I.2 Rappels sur le principe de la photopolymérisation de type radicalaire ou cationique ..	18
I.2.1 Polymérisation par voie radicalaire.....	18
I.2.2 Polymérisation par voie cationique	22
I.3 Bioressources utilisées pour l'élaboration de matériaux biosourcés par photochimie..	27
I.3.1 Huiles et acides ou alcools gras dérivés	27
I.3.2 Sucres (polysaccharides) et synthons dérivés	29
I.3.3 Caoutchouc naturel et terpénoïdes	34
I.3.4 Composés phénoliques.....	38
I.3.5 Macromolécules biologiques ou molécules dérivées	43
I.3.6 Autres macromolécules biosourcées	43
I.4 Modifications chimiques	47
I.5 Synthèse des matériaux par polymérisation radicalaire photoinduite	54
I.5.1 Matériaux photoréticulés à partir des huiles et d'acides ou d'alcools gras dérivés	55
I.5.2 Matériaux photoréticulés à partir des sucres (polysaccharides) et de synthons dérivés	62
I.5.3 Matériaux photoréticulés à partir du caoutchouc naturel et de terpénoïdes	71
I.5.4 Matériaux photoréticulés à partir des composés phénoliques.....	74
I.5.5 Matériaux photoréticulés à partir d'autres macromolécules biosourcées	75
I.6 Synthèse des matériaux biosourcés par polymérisation cationique photoinduite	77
I.6.1 Résines époxydes photoréticulées à partir des huiles et acides ou alcools gras dérivés	77

I.6.2	Matériaux photoréticulés à partir des sucres (polysaccharides) et synthons dérivés fonctionnalisés par des époxydes	82
I.6.3	Matériaux à partir du caoutchouc naturel et de terpénoïdes époxydés.....	84
I.7	Autres voies de synthèse pour la synthèse de matériaux photoinduits	86
I.7.1	Matériaux photo-induits à partir des sucres (polysaccharides) et synthons dérivés	86
I.7.2	Matériaux photoinduits à partir des composés phénoliques.....	88
I.7.3	Matériaux photoinduits à partir de macromolécules biologiques et synthons dérivés	89
	Conclusion.....	92
	Rappel sur le processus de colonisation bactérienne et les différentes stratégies pour l'obtention de matériaux antibactériens	94
	Figures	102
	Références	106
	Chapitre II : Réseaux obtenus par réaction thiol-ène photoamorcée.....	114
II.1	Introduction	114
II.2	Etude préliminaire	116
II.3	Synthèse de co-réseaux à base d'isosorbide fonctionnalisé et de linalol	121
II.3.1	Introduction du sous chapitre	121
II.3.2	Abstract	124
II.3.3	Introduction	124
II.3.4	Experimental Part.....	127
II.3.4.1	Materials	127
II.3.4.2	Synthesis of α,ω -Isosorbide Diallyl, <i>ISODIAL</i>	128
II.3.4.3	Isosorbide-Linalool Networks Preparation, <i>ISODIAL-LINA</i> Networks ...	128
II.3.4.4	Characterization	128
II.3.5	Results and Discussion.....	131
II.3.5.1	Preparation of <i>ISODIAL-LINA</i> Networks	131

II.3.5.2	Characterization of <i>ISODIAL-LINA</i> Networks	135
II.3.5.3	Bacterial Adherence	137
II.3.6	Conclusion.....	138
II.3.7	Conclusion du sous-chapitre	139
Références		140
II.4 Synthèse de co-réseaux à base d'isosorbide fonctionnalisé et de linalol		143
II.4.1	Introduction du sous-chapitre	143
II.4.2	Abstract	145
II.4.3	Introduction	145
II.4.4	Experimental Section	147
II.4.4.1	Materials	147
II.4.4.2	Instrumentation	148
II.4.4.3	Preparation and characterization of the samples.....	149
II.4.5	Results and Discusion	153
II.4.5.1	Preparation of networks	153
II.4.5.2	Characterization of the networks	155
II.4.5.3	Anti-adhesion activity.....	158
II.4.5.4	Antioxidant activity	159
II.4.6	Conclusion.....	160
II.4.7	Conclusion du sous-chapitre	161
Références		163
II.5 Réseaux hybrides à base d'eugénol fonctionnalisé et de nanoparticules de ZnO		166
II.5.1	Introduction	166
II.6.1	Abstract	170
II.6.2	Introduction	170
II.6.3	Experimental Part.....	171
II.6.3.1	Materials	171

II.6.3.2	Preparation of allyl-eugenol networks	172
II.6.3.3	Physico-chemical characterization of the networks.....	173
II.6.3.4	Antibacterial activity against Escherichia coli and Staphylococcus aureus	176
II.6.4	Results and Discussion.....	176
II.6.5	Conclusion.....	186
II.6.6	Résultats complémentaires	187
II.6.6.1	Activité antibactérienne des réseaux contre la souche Pseudomonas aeruginosa.....	187
II.6.6.2	Optimisation du procédé de dispersion des NPs de ZnO dans la matrice	191
II.6.6.3	Activité antioxydante des réseaux AE-E/ ZnO	193
II.6.7	Conclusion du sous-chapitre	194
Références		195
II.7 Réseaux à base d'eugénol fonctionnalisé : système réservoir de carvacrol ou d'acide tannique		198
II.7.1	Introduction	198
II.7.2	Abstract	201
II.7.3	Introduction	201
II.7.4	Experimental Part.....	204
II.7.4.1	Materials	204
II.7.4.2	Allyl-eugenol Networks Preparation, AE Networks	205
II.7.4.3	Allyl-eugenol - Carvacrol or Tannic Acid Networks Preparation, AE-C or AE-TA Networks	205
II.7.4.4	Characterization	205
II.7.4.5	Soluble extract determination	207
II.7.4.6	Swelling determination	207
II.7.4.7	Turbidity measurements.....	208
II.7.4.8	Bacterial adhesion	208

II.7.4.9	Microbial growth inhibition	209
II.7.4.10	Release of carvacrol and tannic acid in PBS buffer	209
II.7.4.11	Antioxidant activity	209
II.7.5	Results and Discussion	210
II.7.5.1	Preparation of the Networks	210
II.7.5.2	Characterization of the Networks	212
II.7.5.3	Bacterial Adherence and Growth Inhibition	220
II.7.5.4	Antioxidant activity	224
II.7.6	Conclusion.....	226
II.7.7	Conclusion du sous-chapitre	227
Références		228
II.8	Co-réseaux PHBHV-linalol.....	232
II.8.1	Introduction	232
II.8.2	Synthèse des oligomères de PHBHV α,ω ou γ -diallyliques.....	234
II.8.3	Synthèse et caractérisation des co-réseaux à base de PHBHV- linalol.....	239
II.8.4	Conclusion.....	243
Références		244
Partie expérimentale		245
Conclusion		249
Chapitre III : Réseaux obtenus par polymérisation cationique des époxydes		251
III.1	Introduction	251
III.2	Co-réseau à base de résorcinol et d'eugénol fonctionnalisés.....	253
III.3	Introduction	253
III.3.1	Abstract	255
III.3.2	Introduction	255
III.3.3	Experimental Part.....	256
III.3.3.1	Materials	256

III.3.3.2	Synthesis of epoxy eugenol, <i>EE</i>	257
III.3.3.3	Resorcinol diglycidyl ether-Epoxy Eugenol networks preparation, <i>R-EE</i> networks	257
III.3.4	Characterization	257
III.3.5	Results and discussion.....	260
III.3.5.1	Preparation of the eugenol derivatives.....	260
III.3.5.2	Preparation and characterization of Resorcinol diglycidyl ether-Epoxy eugenol derivative networks.....	262
III.3.5.3	Characterization of the networks	264
III.3.5.4	Antioxidant activity	269
III.3.5.5	Bacterial adherence	270
III.3.6	Conclusions	272
III.3.7	Conclusion du sous-chapitre	273
	Références	275
III.4	Post-fonctionnalisation de Co-Réseaux à base de résorcinol et d'eugénol fonctionnalisé	280
III.4.1	Introduction	280
III.4.2	Synthèse de l'éther glycidyle d'eugenol, <i>EGE</i>	282
III.4.3	Optimisation des conditions de photoirradiation	284
III.4.4	Elaboration des co-réseaux Ether glycidyle de résorcinol-Ether glycidyle d'eugénol, réseaux <i>R-EGE</i>	286
III.4.4.1	Synthèse des co-réseaux Ether glycidyle de résorcinol-Ether glycidyle d'eugénol, co-réseaux <i>R-EGE</i>	287
III.4.4.2	Caractérisation des co-réseaux Ether glycidyle de résorcinol-Ether glycidyle d'eugenol, co-réseaux <i>R-EGE</i>	287
III.4.4.3	Détermination de l'activité antibactérienne des co-réseaux <i>R-EGE</i> contre <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i>	289
III.4.4.4	Détermination de la présence des doubles liaisons carbonés à la surface des co-réseaux <i>R-EGE</i>	290

III.4.5 Conclusion.....	293
Références	294
Partie expérimentale	295
III.5 Conclusion.....	300
Conclusion générale	301

Introduction générale

Au cours du 20^{ème} siècle, le développement de la science et de la technologie a principalement été axé sur l'utilisation des ressources fossiles tandis que le 21^{ème} siècle est quant à lui orienté vers la valorisation des bioressources. Bien que le concept de bioéconomie soit apparu dès les années 70, il est longtemps resté réservé au domaine académique mais constitue à présent une préoccupation de la sphère politique et des institutionnels européens.

La bioéconomie est définie par l'OCDE comme « un ensemble d'activités économiques liées à l'innovation, au développement, à la production et à l'utilisation de produits et de procédés biologiques ». Elle tente ainsi d'apporter des solutions attendues à la problématique mondiale que constitue notre dépendance aux énergies fossiles et la réduction des émissions de carbone, tout en assurant les besoins alimentaires et primaires d'une population mondiale en constante croissance et estimée à environ 9 milliards d'habitants en 2050. C'est ainsi que le terme «développement durable» a été introduit par la Commission Brundtland (1987), avec la définition de « Développement qui répond aux besoins du présent sans compromettre la capacité des générations futures pour répondre à leurs propres besoins ». Dans une volonté de répondre à cet objectif, les scientifiques, mais également les industriels, ont développé de nouvelles méthodologies plus efficaces et favorables à l'environnement utilisant des ressources renouvelables.

Recourir aux bioressources, comme alternative aux ressources fossiles pour la synthèse de matériaux polymères tout en valorisant des procédés appropriés (« verts ») constitue un axe majeur de ce travail de thèse. En effet, les matériaux d'origine pétrosourcée font partie de notre vie quotidienne (emballage, transport, bâtiment, cosmétique...) du fait de leurs faibles coûts, leurs disponibilités et leurs mises en œuvre aisées. Néanmoins, face aux contraintes sociétale et environnementale actuelles il est devenu presque une nécessité de trouver une alternative réaliste à ces matériaux.

Les polymères renouvelables, c'est-à-dire dérivés principalement ou entièrement de la biomasse représentent quant à eux moins de 1% (environ 360 000 tonnes) de la production annuelle de plastiques dans le monde. L'association European Bioplastics prévoit une production de 3,45 Mt en 2020. Le terme biopolymères, souvent confondu avec le néologisme industriel des bioplastiques, regroupe différents concepts : l'utilisation directe, ou après modification, de

polymères naturels comme la lignine, la cellulose, l'amidon etc., la polymérisation de blocs extraits de la biomasse par déconstruction ou extraction, ou bien la polymérisation par bioconversion impliquant un processus de fermentation à partir de substrats naturels. La remarquable usine chimique que constitue la photosynthèse est à l'origine chaque année de plus de 120 milliards de tonnes de carbone dans la biomasse, dont environ 5% sont actuellement utilisés par l'homme. Si la chimie ne met à profit que 10% des ressources issues de la biomasse, la volonté affichée est d'accroître cette fraction à 20% d'ici 2025 (Kearney, *Etude PIPAME*, 2010).

Parmi les composants de la biomasse, les terpènes et les dérivés phénoliques sont des composés extrêmement attractifs en raison de leurs coûts modérés et de leurs disponibilités. En effet, en raison de leurs abondances naturelles et de leurs réactivités, ils peuvent tout à fait être utilisés pour la production de polymères qui pourraient parfaitement se substituer ou au moins en partie, aux matériaux fossiles actuellement sur le marché.

De plus, ces composés possèdent des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes naturelles. Cette particularité nous a particulièrement intéressé pour orienter notre sujet vers une application d'intérêt. Nous avons ainsi cherché à développer des matériaux biosourcés bioactifs capables d'apporter une solution au problème de santé publique que constituent les infections nosocomiales associées aux matériels utilisés dans le milieu hospitalier.

Ces infections contractées dans les hôpitaux sont souvent liées à la présence d'un biofilm et sont très difficiles à éradiquer. En conséquence, le développement de stratégies de prévention empêchant la formation de biofilm en inhibant l'adhérence des microorganismes est une approche prometteuse à développer et qui est en pleine expansion dans la littérature. Au cœur de contexte de valorisation des caractéristiques originales du végétal, nous avons sélectionné deux synthons présents dans les huiles essentielles : le linalol, monoterpène relativement abondant dans l'huile essentielle de lavande et qui n'a fait l'objet à ce jour d'aucune de recherche dans le domaine de la synthèse de matériaux ; mais également l'eugénol, composé phénolique présent dans l'huile essentielle de clous de girofle, sélectionnés pour leurs propriétés antibactériennes élevées et reconnues (Iacobellis, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 2005 ; Kubo, *J. Agric. Food Chem.*, 52, 2004 ; Habibi, *Chem. Nat. Compd.*, 46, 2010 ; Lo Cantore, *J. Agric. Food Chem.*, 52, 2004 ; Park, *Anaerobe*, 18, 2012 ; Chen, *Biotechnol. Bioeng.*, 104, 2009 ; Burt, *Int. J. Food. Microbiol.*, 94, 2004). De plus, l'eugénol est à ce jour considéré par la FDA comme non cancérigène et non mutagène.

Le principal objectif de notre travail a été d'élaborer de nouveaux matériaux réticulés sous rayonnement lumineux à partir de dérivés terpéniques et phénoliques par réaction thiol-ène d'une part et par polymérisation cationique des époxydes d'autre part.

Le premier chapitre sera consacré à la présentation des différentes sources de biomasse (saccharidique, lignocellulosique, composés phénoliques etc.), ainsi que les principales voies de modifications permettant une valorisation dans le domaine de la chimie. Cet état de l'art se focalisera ensuite sur l'utilisation des ressources renouvelables comme précurseurs biosourcés pour le design de réseaux photoinduits. Nous terminerons enfin par une présentation rapide des différentes stratégies actuellement développées pour élaborer une surface antibactérienne.

Le manuscrit s'articulera ensuite autour de deux parties, la première, constituée de 5 sous-chapitres, sera consacrée aux différents systèmes développés par réaction thiol-ène photoinduite. Cette partie sera principalement présentée sous forme d'articles publiés. Enfin, le troisième chapitre sera dédié à la synthèse de réseaux par polymérisation cationique de dérivés époxydés sous illumination. Les performances thermo-mécaniques et biologiques de ces différents matériaux seront déterminées et discutées dans la conclusion de ces travaux.

Chapitre I : Etude bibliographique sur l'utilisation des ressources renouvelables comme précurseurs biosourcés pour le design de réseaux photoinduits

I.1 Introduction

L'utilisation des ressources naturelles n'est pas un concept novateur puisque, depuis l'Antiquité, l'homme a toujours su exploiter les ressources de carbone dont il disposait afin de répondre à ses besoins vitaux (se nourrir, se chauffer etc.). Cette utilisation qualifiée par Colonna¹ comme l'ère du « pré-carbone fossile » se caractérise par l'utilisation de cette biomasse sans réelle modification (**Figure 1**). Par la suite, l'exploitation des ressources fossiles s'accompagne d'une amélioration des procédés de transformation adossée au développement de l'industrie chimique. Cependant, à partir des années 90, une première prise de conscience conduit à l'apparition du concept de la chimie verte largement vulgarisée par Warner et Anastas².

Parmi les 12 principes de la chimie verte (**Figure 2**), on retrouve l'utilisation des bioressources (principe n°7) correspondant au carbone végétal offrant un bilan carbone beaucoup plus favorable que le carbone fossile.

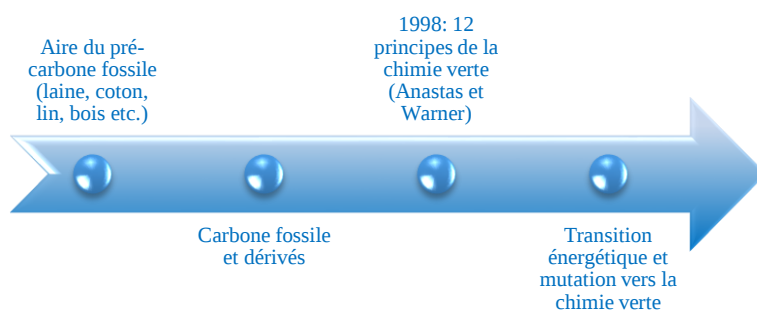


Figure 1: Evolution de l'exploitation du carbone végétal³.

En effet, il existe deux grandes sources de carbone : le carbone d'origine fossile qui provient de gisements (gaz naturel, pétrole, charbon) et qui, par conséquent, est épuisable, et celui d'origine végétal issu des cultures (céréales, oléagineux, sucres, produits tropicaux, tabac,

plantes aromatiques, bois, caoutchouc naturel) ou de l'élevage (animaux, laine, cuir) et présentant l'avantage d'être renouvelable.



Figure 2: Les 12 principes de la chimie verte selon Paul Anastas et John Warner ².

L'exploitation du carbone fossile a permis une explosion de la pétrochimie et de ses dérivés. Ainsi, au quotidien, nous sommes amenés à utiliser des matériaux d'origine pétrosourcée du fait de leur omniprésence. En effet, ils présentent de nombreux avantages à la fois en termes de

coût mais aussi de disponibilité ou de facilité de mise en œuvre. De plus, ces matériaux peuvent être utilisés dans des domaines d'applications très variés et sont souvent recyclables.

Or, suite à l'apparition de diverses contraintes à la fois environnementale (réchauffement climatique, impact sur la biosphère, préservation de l'environnement), économique (raréfaction du carbone fossile, réglementation, coûts) et sociétale (prise de conscience, demande du grand public), il est apparu comme une nécessité de trouver une alternative durable au carbone d'origine fossile en élaborant de nouveaux matériaux à partir de synthons biosourcés ou en valorisant les polymères naturels. Les matériaux entièrement ou partiellement dérivés du carbone végétal sont compostables et sont également plus respectueux de l'environnement.

Avec une production atteignant plus de 220×10^9 tonnes par année, et une exploitation ne dépassant pas 5%, la biomasse (matière organique produite par des microorganismes vivants ou leurs décompositions) constitue donc une source prometteuse et abondante de carbone végétal. Ces ressources nettement sous exploitées offrent une alternative réaliste à l'exploitation du carbone fossile et permettent de limiter la production de déchets et l'émission de composés organiques volatiles grâce à la mise en place de procédés plus respectueux de l'environnement⁴.

Depuis le développement du concept de la chimie verte et l'exploitation des bioressources, trois générations de bioraffineries se sont succédées. La première génération tire profit de la biomasse d'origine alimentaire. Ainsi, l'exploitation des huiles végétales a permis de produire du biodiesel et celle de l'amidon et du glucose la fabrication de bioéthanol. La seconde génération de bioraffineries valorise la biomasse non alimentaire comme la biomasse lignocellulosique et les déchets urbains (70% de la biomasse terrestre) pour la synthèse de biocarburants, synthons pour la chimie fine et l'industrie des polymères.

Actuellement, l'accent est porté sur l'exploitation des bioraffineries algales utilisant les microalgues, levures et bactéries cultivables hors sol comme biomasse. Cette troisième génération ne mobilise pas de surface agricole ou forestière et offre une productivité élevée.

Ainsi, de par son extrême diversité à la fois en termes de ressources (**Figure 3**), de structures chimiques mais aussi de domaines d'applications (chimie, matériaux, énergie, alimentaire), la biomasse constitue une alternative réaliste au carbone fossile.

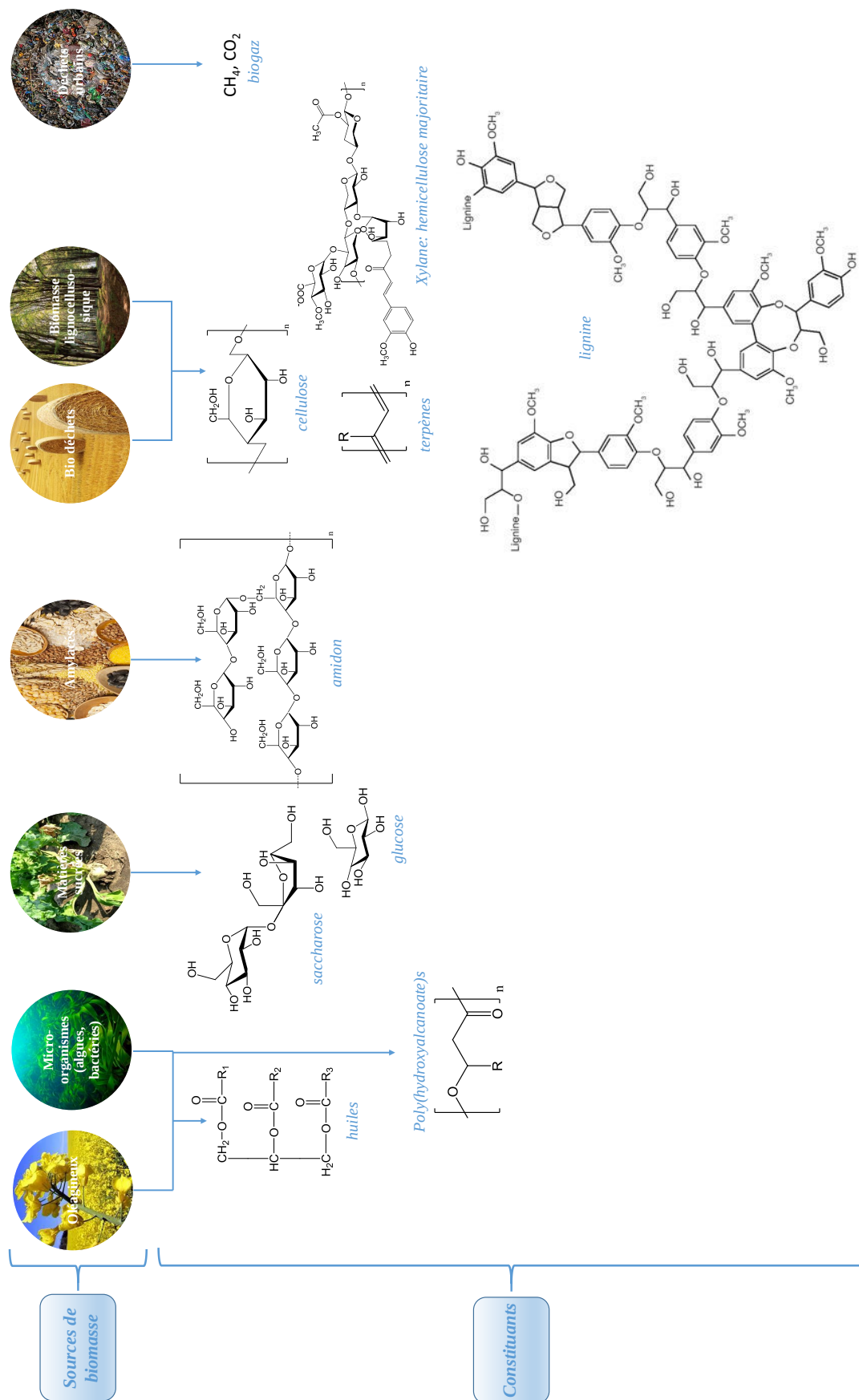


Figure 3: Catégories et constituants de la biomasse.

Malgré sa grande diversité, seules certaines grandes familles de composés issus de la biomasse sont aujourd'hui exploitées pour la synthèse de matériaux biosourcés du fait de leur disponibilité : les huiles, les dérivés d'acides gras ou d'alcools gras, les sucres et les synthons dérivés, le caoutchouc naturel, les dérivés terpéniques et plus rarement les polymères et autres synthons biosourcés (tels que les dérivés phénoliques, acides aminés, bases nucléiques etc.). Il est important de préciser que l'exploitation non alimentaire des ressources fossiles et végétales est principalement consacrée à la valorisation énergétique (chaleur, carburants) alors que la fraction de biomasse consacrée à la chimie du végétal est marginale (< 2% des surfaces cultivées).

Contrairement aux dérivés d'origine pétrosourcée riches en carbone et hydrogène, la particularité des dérivés issus du carbone végétal réside dans la présence d'oxygène. Cette richesse en fonctions oxygénées rend difficile la transposition des procédés de transformation des raffineries pétrolières. Malgré cette difficulté, la valorisation de la biomasse dans le domaine des matériaux est en plein essor comme l'illustre le nombre de publications croissant de 1990 à 2016 (**Figure 4**).

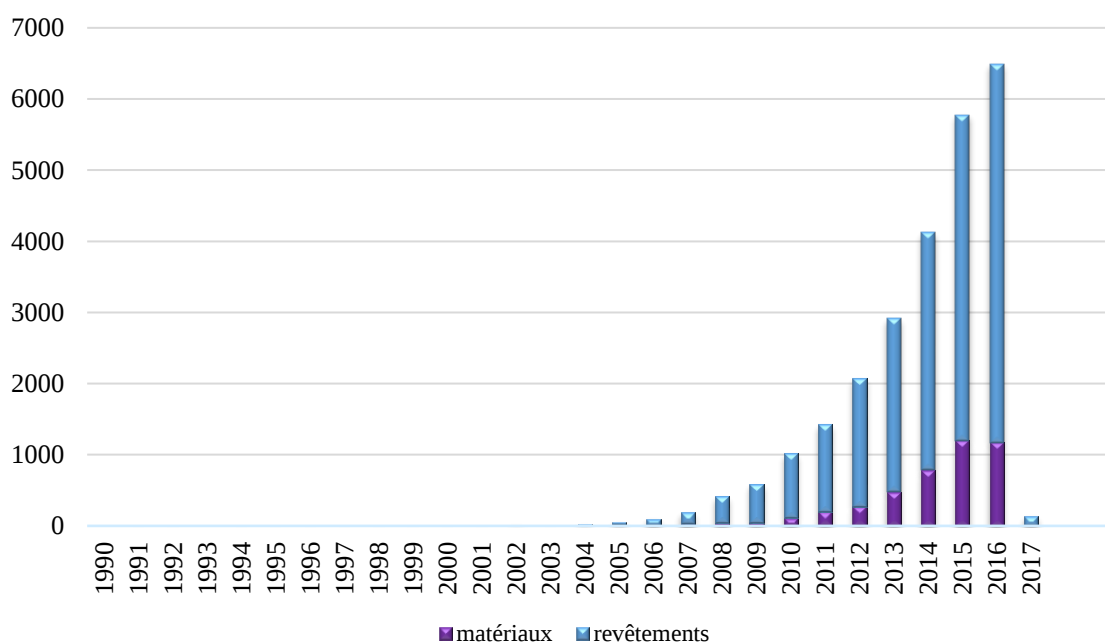


Figure 4: Evolution du nombre de publications mondiales relatives aux revêtements et matériaux d'origine biosourcée depuis 1990 (source : Web of science).

Ces matériaux biosourcés peuvent alors être utilisés dans différents domaines d'applications tels que la construction (matériaux composites), le biomédical (reconstruction tissulaire, vectorisation de médicaments, matériaux bioactifs), l'emballage ou encore les encres ou le stockage d'énergie etc.

Parmi les quelques 6000 publications ayant pour sujet la synthèse de matériaux biosourcés pour diverses applications, très peu sont obtenus par photochimie. En effet, c'est à partir du début des années 2000 que l'on constate l'apparition de travaux mettant en jeu un mécanisme photoinduit et ceux-ci représentent seulement 1% des publications entre 2000 et aujourd'hui. Pourtant, cette voie de synthèse est à ce jour considérée comme un procédé de chimie verte puisqu'elle peut être menée dans des conditions douces (à température ambiante, avec ou sans solvant et sans avoir recours à des catalyseurs métalliques) et possède par ailleurs une cinétique particulièrement rapide (de l'ordre de la minute). Ainsi, cette méthode simple et efficace permettant la synthèse de matériaux aux propriétés modulables, s'inscrit parfaitement dans cette volonté de s'orienter vers une chimie plus respectueuse de l'environnement.

Différentes méthodes de photopolymérisation ou de fonctionnalisation ont donc été transposées aux bioressources à partir des années 2000 afin d'obtenir des matériaux biosourcés. Les voies de synthèse principalement exploitées par photochimie sont la voie radicalaire et la voie cationique en particulier la polymérisation par ouverture des époxydes (**Figure 5**).

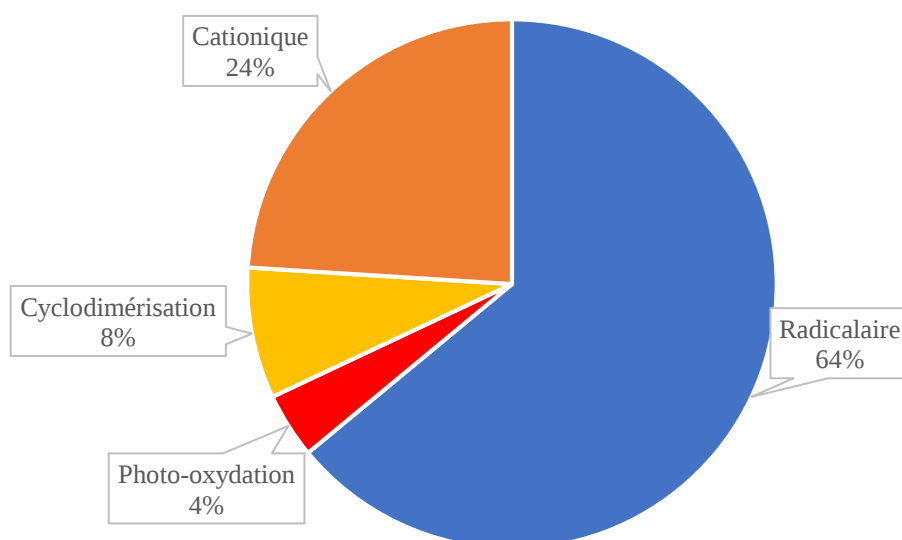


Figure 5: Répartition des différentes méthodes de photopolymérisation permettant le design de biomatériaux.

L'utilisation de la photochimie concerne principalement la synthèse de revêtements et peu de travaux portent sur l'élaboration de matériaux. Néanmoins, cette thèse étant consacrée à la synthèse de matériaux biosourcés par photochimie, l'étude bibliographique sera restreinte aux matériaux biosourcés de type réseaux photoréticulés. Celle-ci ne sera donc pas exhaustive mais axée sur les différentes bioressources fonctionnalisables (le plus souvent polyfonctionnelles) permettant la synthèse par photochimie de matériaux ou revêtement réticulés. Après un rappel bibliographique des principales réactions, mécanismes et photoamorceurs utilisés en photochimie, nous présenterons dans un second temps les différentes catégories de constituants issus de la biomasse utilisés pour la synthèse de matériaux biosourcés photoréticulés ainsi que leurs modifications chimiques et pour terminer, les différentes voies de synthèse de matériaux biosourcés photoinduits. Finalement, un bref rappel sur la structure des bactéries et le processus de colonisation bactérien suivi des différentes stratégies permettant l'élaboration de matériaux antibactériens sera décrit.

I.2 Rappels sur le principe de la photopolymérisation de type radicalaire ou cationique

Les réactions de photopolymérisations sont régies par le principe de Lazareff expliquant qu'un photon doit être absorbé pour que celles-ci soient efficaces. Cette efficacité est par conséquent directement liée au spectre d'émission de la lampe et au spectre d'absorption de la substance active qui doivent se recouvrir. Actuellement, le maximum du spectre d'émission des sources lumineuses est compris entre 300 et 400 nm, longueur d'ondes auxquelles peu de monomères absorbent. Ainsi, il est nécessaire d'avoir recours à des molécules capables d'absorber dans cette gamme de longueur d'onde : les photoamorceurs. Ces espèces, sous l'action d'un rayonnement lumineux permettent d'initier la polymérisation par la création de radicaux ou d'espèces ioniques.

Généralement, les espèces à polymériser sont des monomères ou des oligomères monofonctionnels. Dans le cas où ceux-ci sont de nature polyfonctionnelle, la photopolymérisation conduit alors à la formation d'un matériau réticulé.

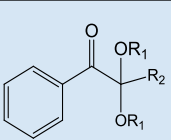
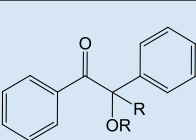
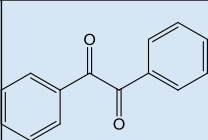
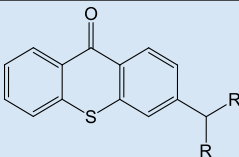
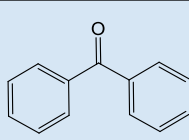
La réaction de photopolymérisation se décompose en trois étapes successives : l'amorçage permettant la production des espèces actives (seule réaction de type photochimique), la propagation durant laquelle les chaînes de polymères croissent et enfin la terminaison (par recombinaison, dismutation ou occlusion) qui permet d'arrêter les réactions de propagation par la réaction entre deux radicaux de polymères.

I.2.1 Polymérisation par voie radicalaire

Dans ce type de photopolymérisation, les espèces actives de type radicalaire induites par la photolyse des photoamorceurs radicalaires entraînent la formation de la chaîne de polymère. Divers photoamorceurs peuvent être utilisés pour ce type de photopolymérisation. Ils diffèrent par le mécanisme de décomposition qui est généralement la coupure directe (type I) ou bien le transfert d'hydrogène entre le photoamorceur et le co-amorceur (type II). Celui-ci entraîne la production de centres actifs (radicaux) susceptibles d'amorcer la polymérisation du ou des monomère(s). La nature des espèces réactives dépend de la fonctionnalité du (ou des) monomère(s) mis en jeu.

Les photoamorceurs les plus couramment utilisés pour la photopolymérisation radicalaire sont présentés dans le **Tableau 1**.

Tableau 1: Exemple de photoamorceurs conventionnels de types I et II utilisés pour la photopolymérisation radicalaire

	Photoamorceurs de type I		Photoamorceurs de type II		
	Dérivés de l'acétophénone (DMPA, HDMA, DEAP)	Ethers de benzoïne	Benzyle	Thioxanthone et ses dérivés	Benzophénone et ses dérivés
radicalaire					

La coupure de type Norrish I est la réaction photochimique la plus répandue pour la création de radicaux libres. Généralement, dans le cas des cétones aromatiques, une coupure homolytique de la liaison en α du carbonyl donne lieu à la création de deux radicaux libres (**Figure 6**).

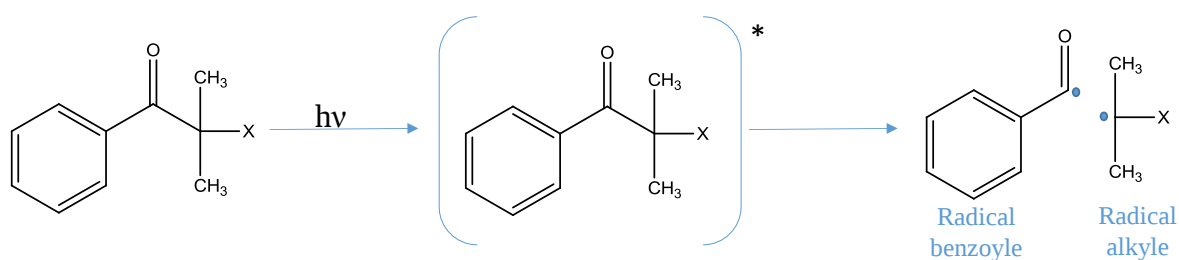


Figure 6: Mécanisme de photolyse des photoamorceurs de type I (coupure en α du carbonyl).

Le radical benzoyle ainsi formé est particulièrement réactif vis-à-vis des monomères de type acrylique. Les éthers de benzoyles font parties des photoamorceurs de type I les plus efficaces.

Dans le cas de certaines cétones, c'est la coupure en β qui prédomine lors de la photolyse (**Figure 7**).

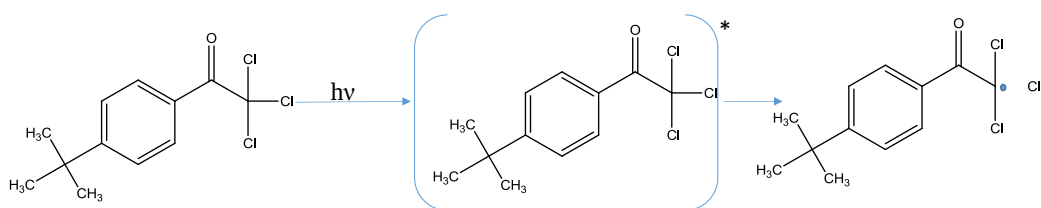


Figure 7: Mécanisme de photolyse des photoamorceurs de type I (coupure en β du carbonyle).

La photolyse de certaines cétones aromatiques telles que le benzyle, les benzophénones ou bien les thioxantones (type II) conduit à l'arrachement d'un hydrogène d'une molécule donneuse qui induit à la formation de deux radicaux. Cet arrachement peut se faire soit par voie directe dans le cas d'un donneur d'hydrogène (DH) (éther ou alcool) soit par transfert d'électron suivi d'un transfert de proton généralement dans le cas amines avec la formation d'un exciplexe et plus rarement des thiols (AH) (**Figure 8**).

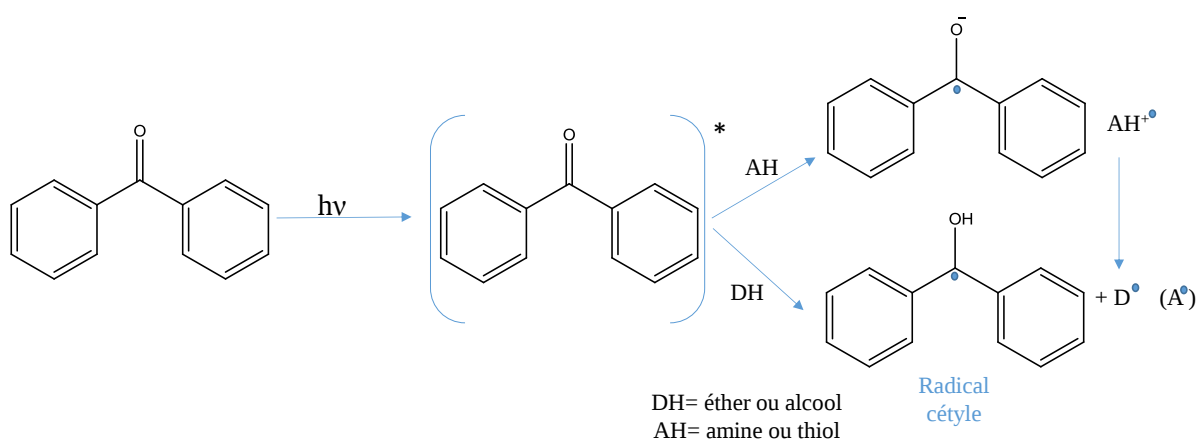


Figure 8: Mécanisme de photolyse de la benzophénone (photoamorceur de type II).

Le mécanisme de la polymérisation en chaîne par voie radicalaire photoamorcée est donné en **Figure 9**. Lors de la propagation, les radicaux produits lors de l'amorçage réagissent avec les monomères et forment un nouveau radical enrichi d'un motif monomère. La répétition de cette réaction permet la croissance de la chaîne. La diminution de la concentration en monomère ainsi que l'augmentation de la viscosité du milieu entraînent un ralentissement de la croissance des chaînes. En fonction du type de monomère, on peut distinguer deux types de terminaison : la terminaison bimoléculaire des radicaux⁵ ou bien la terminaison par occlusion mettant en jeu un seul radical^{6,7}. Dans le cas des terminaisons bimoléculaires, la chaîne en croissance réagit

avec un radical soit par recombinaison soit par réaction de transfert (dismutation). Lorsque le site réactionnel se retrouve piégé dans la matrice de polymère, la polymérisation se termine à cause de la vitrification du milieu on parle alors de terminaison par occlusion. Ces radicaux étant stables et d'une durée de vie pouvant dépasser les mois, la polymérisation peut se poursuivre lentement en l'absence d'oxygène.

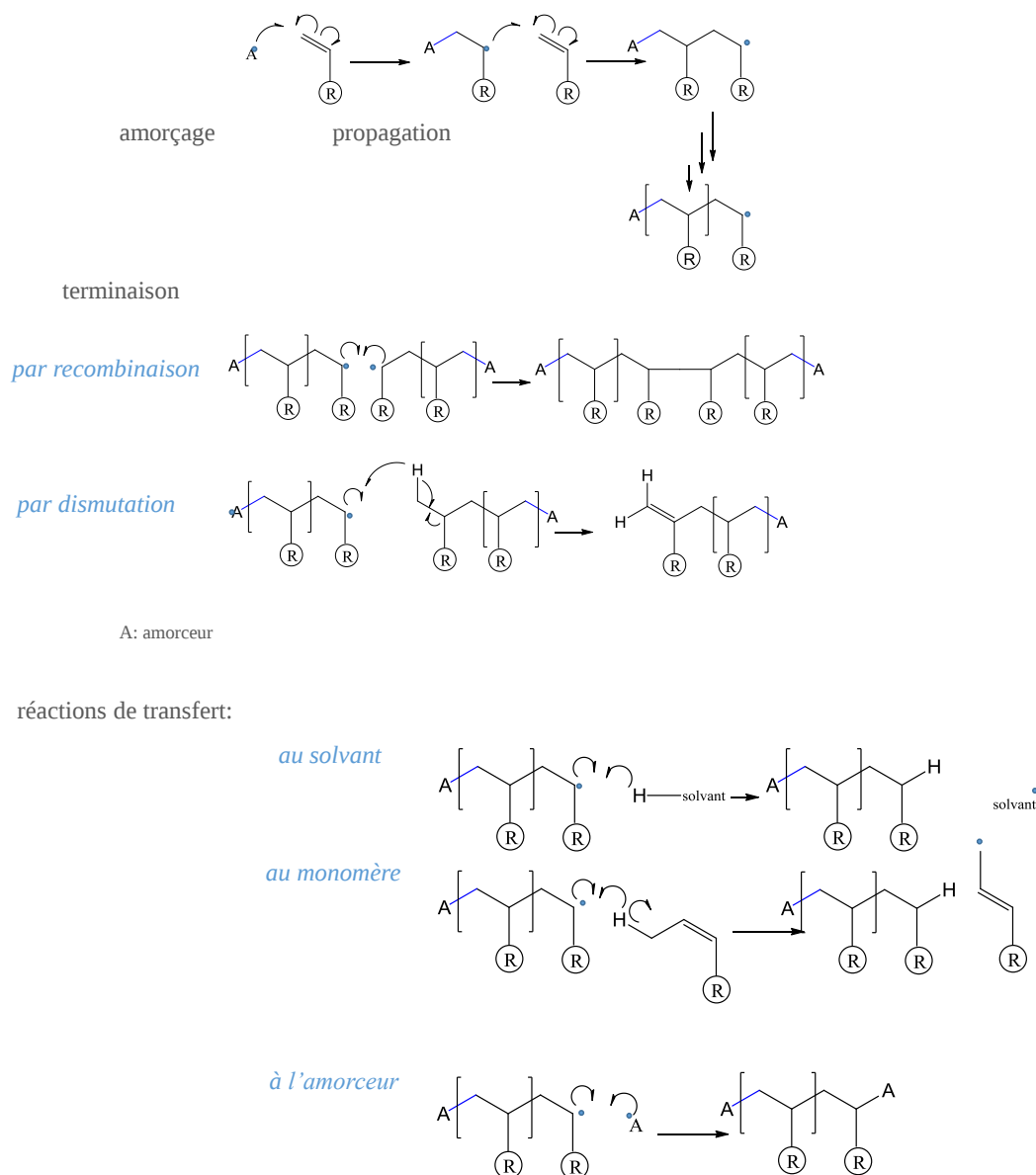


Figure 9: Etapes de la polymérisation radicalaire.

Parmi les polymérisations de type radicalaire, on peut citer la réaction de thiol-ène. La première étape consiste en la création d'un radical thiyl (amorçage). Par la suite, ce radical réagit avec la double liaison carbonée du monomère insaturé pour créer un nouveau radical libre susceptible d'arracher l'atome d'hydrogène d'une seconde molécule du thiol (propagation). Après plusieurs

cycles, la polymérisation finit par une étape de terminaison lors de laquelle deux radicaux réagissent entre eux et se recombinent (**Figure 10**).

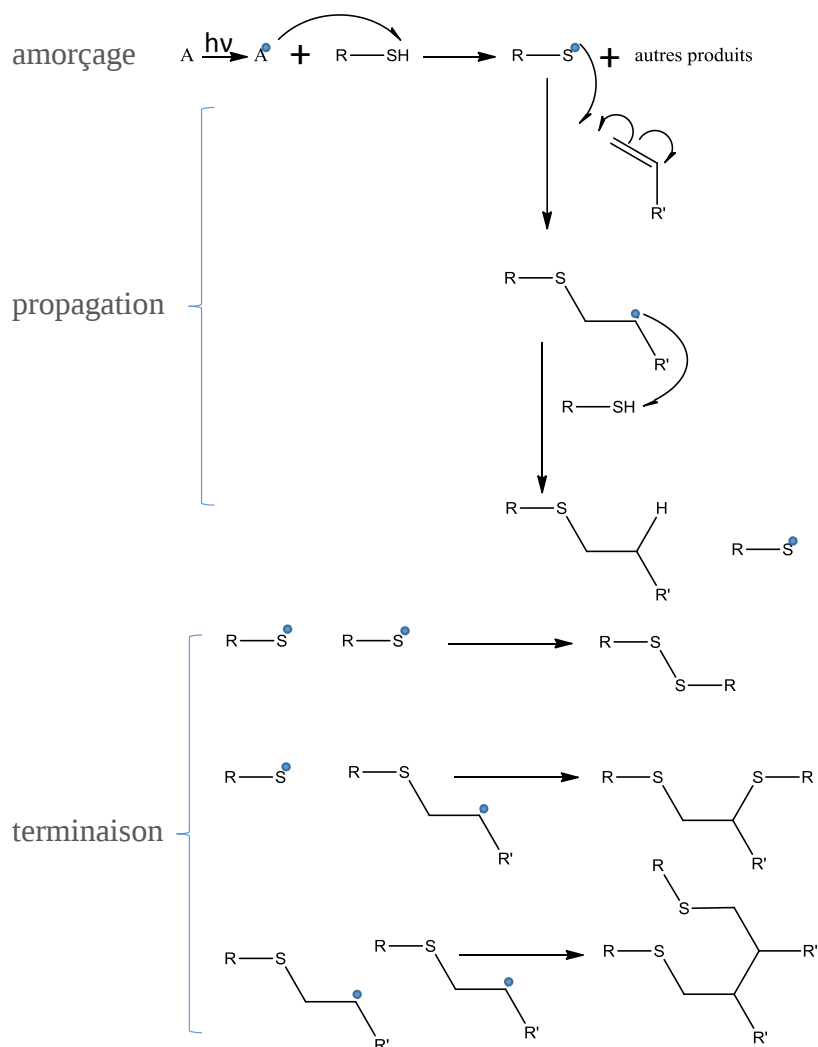
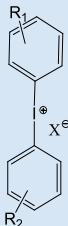
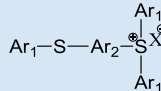


Figure 10: Mécanisme de la réaction de thiol-ène photoamorcée.

I.2.2 Polymérisation par voie cationique

Diverses familles de photoamorceurs cationiques existent, les photoamorceurs les plus couramment utilisés sont présentés dans le **Tableau 2**.

Tableau 2: Exemple de photoamorceurs conventionnels utilisés pour la photopolymérisation cationique

cationique	Fluorure de bore	Sel d'aryl-onium ($\text{Ar}_n\text{X}^+\text{Y}^-$)		
	BF_3	$\text{Ar}_n\text{X}^+\text{Y}^-$ $\left\{ \begin{array}{l} \text{Ar : aryl} \\ \text{X : S,P,I} \\ \text{Y : } \text{BF}_4^-, \text{PF}_6^-, \text{AsF}_6^- \end{array} \right.$	 Sel diaryliodonium	 Sel triarylsulfonium

L'utilisation des sels de diaryliodonium comme photoamorceurs cationique est la plus courante mais reste limitée car ceux-ci possèdent une faible absorption dans le domaine des longueurs d'ondes des lampes couramment utilisées⁸. Pour y remédier, on peut avoir recours aux photoamorceurs radicalaires classiques qui induisent la formation de radicaux oxydés par la suite par les sels d'iodonium. Ceux-ci vont alors générer des cations pouvant amorcer la polymérisation. On parle alors de polymérisation cationique sensibilisée par des radicaux (**Figure 11**). Parmi les photoamorceurs les plus couramment utilisés on peut citer les éthers de benzoïne.

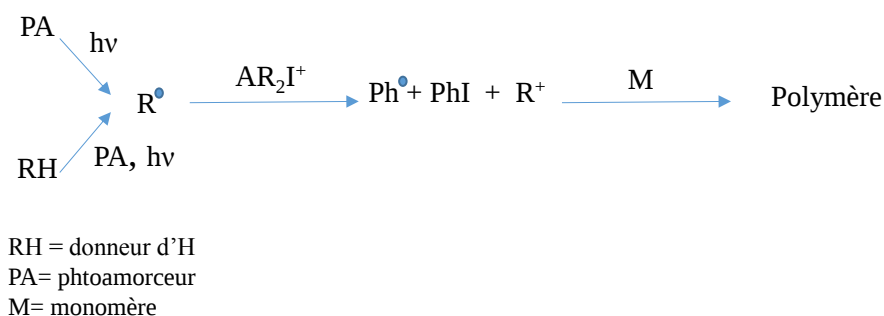


Figure 11: Mécanisme de photopolymérisation cationique sensibilisée par les radicaux.

Le mécanisme complexe de la photolyse d'un sel d'onium^{9,10} ($\text{Ar}_2\text{Y}^+\text{MtX}_n^-$) est donné dans la **Figure 12**.

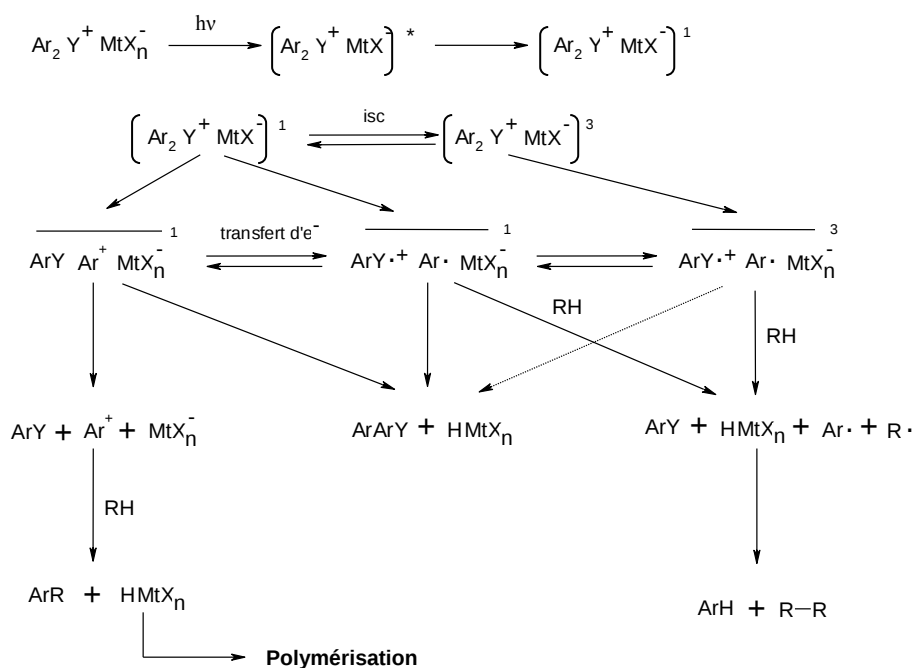


Figure 12: Mécanisme de photolyse d'un sel d'onium. RH = solvant ou donneur d'hydrogène.

Il se forme un acide de Brönsted qui initie l'amorçage et qui induit la propagation de la polymérisation des époxydes. Il est à noter qu'un autre radical cationique $\text{ArY}^{\cdot+}$ peut également jouer le rôle de l'amorceur en réagissant avec un monomère M formant un deuxième radical cationique permettant la propagation (**Figure 13**).

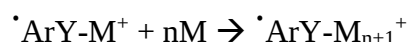
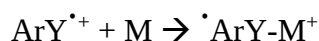


Figure 13: Amorçage et propagation de la polymérisation cationique par le radical cation $\text{ArY}^{\cdot+}$.

La polymérisation par voie cationique, tout comme la polymérisation par voie radicalaire, se compose d'une étape d'amorçage suivie d'étapes de propagation, de transfert et de terminaison. L'amorçage est souvent induit par la présence d'un acide de Brønsted ou de Lewis parfois associé à un co-amorceur de type AlCl_3 ou TiCl_4 . Différents monomères possédant des groupements électro donneurs peuvent ainsi être polymérisés par voie cationique (**Figure 14**).

Cette polymérisation présente l'avantage d'être insensible à l'oxygène et d'avoir un caractère vivant puisqu'elle ne se termine que lorsque tout le monomère a été consommé néanmoins, des terminaisons précoces peuvent avoir lieu en présence d'impuretés ou de composés nucléophiles.

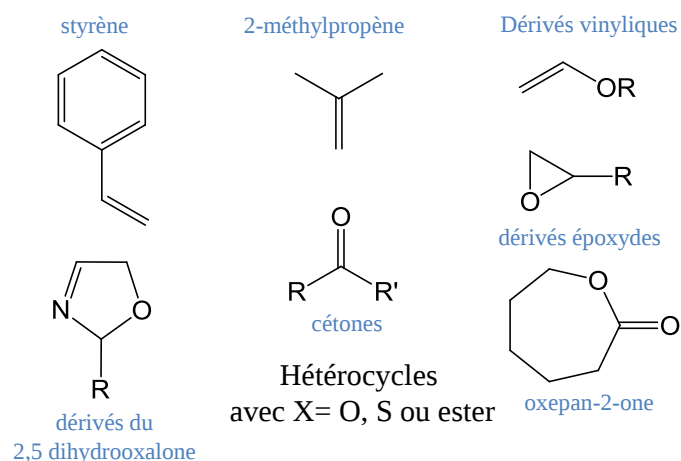


Figure 14: Différents groupements polymérisables par voie cationique.

L'étape de propagation est amorcée par les acides de Brönsted obtenus après la photolyse du sel d'onium qui provoquent l'ouverture de cycle des époxydes et la formation de chaînes de polyéther. La polymérisation par ouverture de cycle des époxydes selon le mécanisme d'Active Chain End où HMTX_n est l'acide de Brönsted de type HBF_4 , HPF_6 , HAsF_6 ou bien HSbF_6 présentée en **Figure 15**.

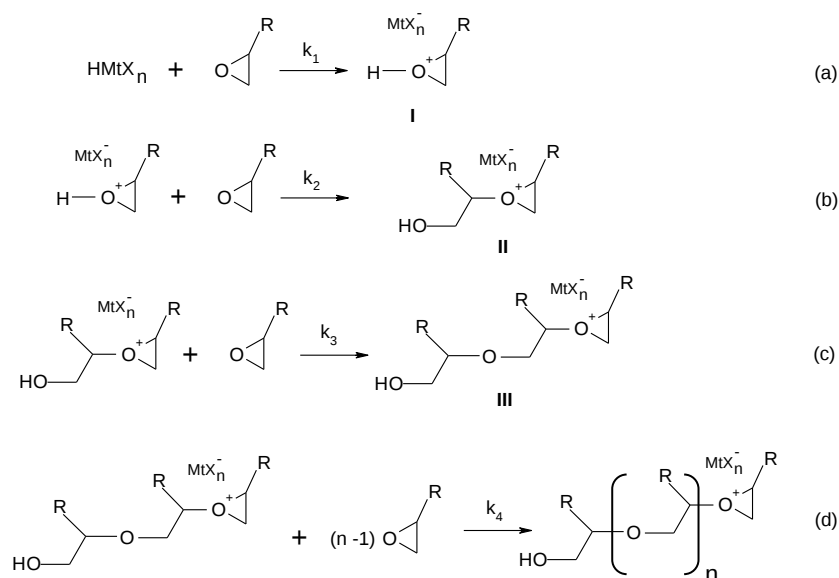


Figure 15: Polymérisation photoamorcée des dérivés époxydes suivant le mécanisme d'Active Chain End.

La première étape (a) permet la protonation du cycle époxyde qui conduit à la formation d'un oxonium secondaire noté I. Par la suite (b), l'espèce I subit une S_N2 et forme un oxonium tertiaire noté II obtenu par l'ouverture du cycle époxyde. L'étape suivante (c) consiste en une nouvelle attaque du monomère époxyde sur l'espèce II pour former l'espèce III. Enfin, après plusieurs attaques nucléophiles des monomères époxydes sur les oxoniums tertiaires, la propagation a lieu (d).

Les réactions de terminaison ont lieu généralement suite à la présence d'impuretés nucléophiles par transfert (réaction avec un alcool, un contre-ion ou par cyclisation intramoléculaire) ou par occlusion (**Figure 16** et **Figure 17**).

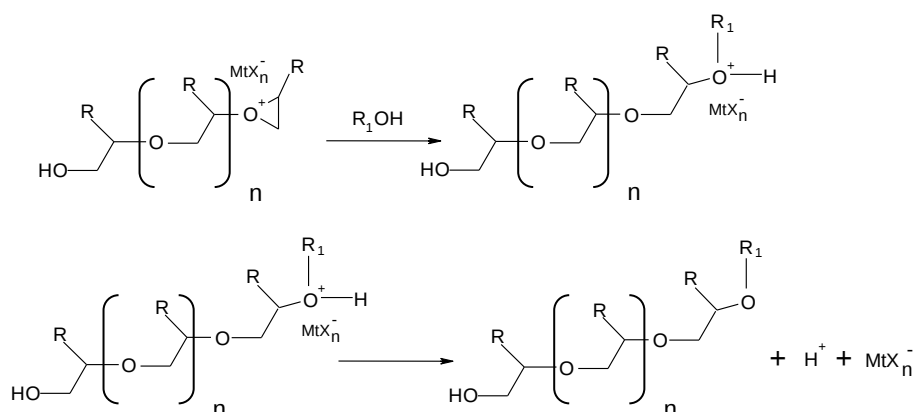


Figure 16: Réaction de terminaison par transfert (réaction avec un alcool).

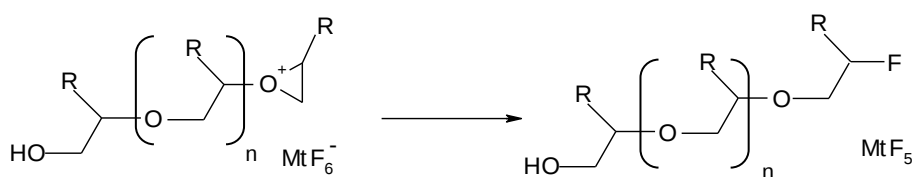


Figure 17: Réaction de terminaison (réaction avec un contre-ion).

I.3 Bioressources utilisées pour l'élaboration de matériaux biosourcés par photochimie

Dans cette partie seront présentés les différents polymères et synthons issus de la biomasse végétale et animale actuellement utilisés à l'état naturel ou après fonctionnalisation pour la conception de matériaux photoréticulés. Ceux-ci seront regroupés par principales catégories de bioressources : la biomasse oléagineuse, la biomasse saccharidique et lignocellulosique, le caoutchouc et les terpénoïdes, les composés phénoliques et enfin les autres macromolécules biosourcées.

I.3.1 Huiles et acides ou alcools gras dérivés

Les huiles et produits dérivés constituent une fraction majoritaire de la biomasse valorisée par l'industrie chimique. En effet, l'oléochimie représente près de 11 MT/an (7% du marché) et la production de biodiesel environ 19 MT/an correspond à 12% du marché¹¹. La forte augmentation observée pour l'huile de soja est majoritairement imputable au développement du biodiesel (**Figure 18**).

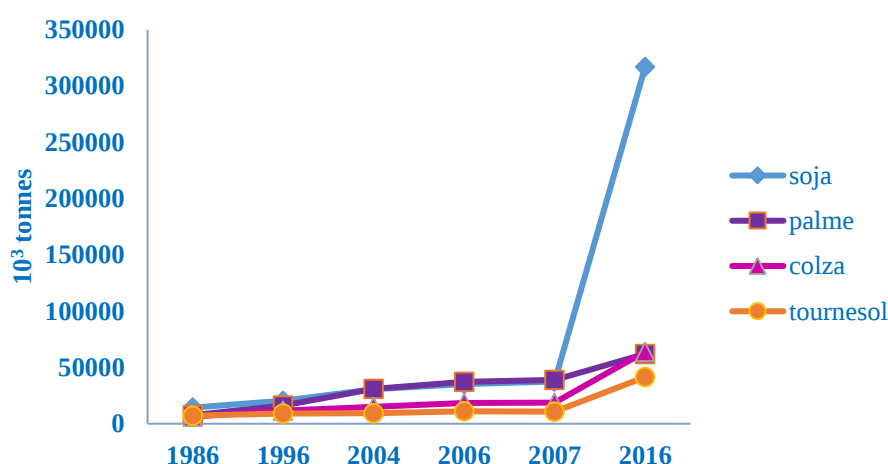


Figure 18: Production mondiale d'huiles végétales entre 1986 et 2016^{12,13}.

Les corps gras extraits des plantes oléagineuses sont principalement constitués de triglycérides d'acides gras (**Figure 19**) mais aussi de diverses molécules telles que les acides gras ainsi que des phospholipides. Ces huiles sont utilisées pour la production de tensio-actifs, lubrifiants ou de revêtements. La longueur de leurs chaînes carbonées mais aussi le nombre de doubles liaisons sont variables (C_{10} à C_{22} et 0 à 3 doubles liaisons). Les huiles végétales saturées sont les plus abondantes mais il existe quelques rares variétés d'huiles végétales fonctionnalisées. Ainsi, l'huile de *Vernonia galamensis* possède un groupement époxyde et une double liaison et l'huile de ricin une fonction hydroxyle et une double liaison carbone-carbone.

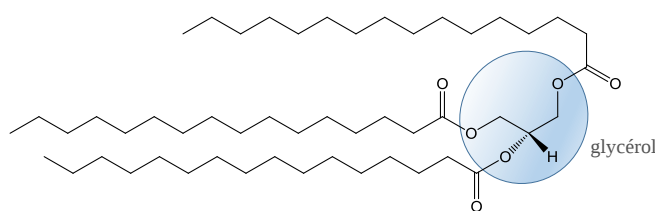


Figure 19: Formule chimique du triglycéride de palmitoyle.

Différents acides gras de compositions diverses (acides carboxyliques à chaîne aliphatique C_4 à C_{36} et leurs dérivés méthylés, hydroxylés, hydropéroxydés etc.) sont produits à l'échelle industrielle à partir des ressources renouvelables (C_{18} - C_{22} ou C_8 - C_{18} selon la nature du climat respectivement tempéré ou tropical). De même il est possible d'obtenir différents alcools gras (alcools à longues chaînes carbonées) à partir des triglycérides contenus dans la biomasse. Comme on peut le constater sur la **Figure 20** qui représente les différents acides gras exploités à ce jour pour la synthèse de biomatériaux photoréticulés, ces dérivés sont principalement obtenus à partir de la saponification des huiles végétales.

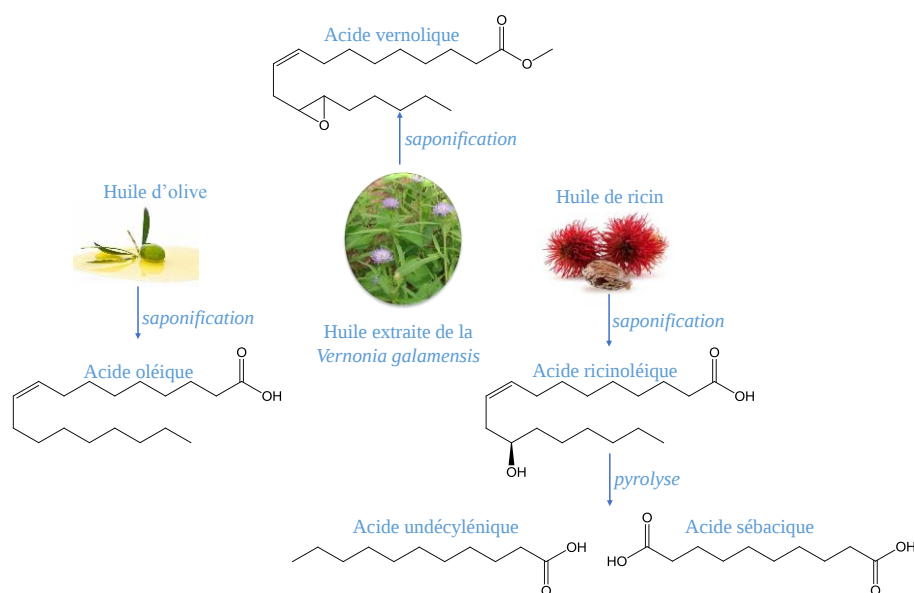


Figure 20: Acides gras obtenus à partir des huiles végétales d'olive, de ricin et de *Vernonia galamensis*.

I.3.2 Sucres (polysaccharides) et synthons dérivés

Les polysaccharides ou polyosides sont des polymères de formule générale : $[C_x(H_2O)_y]_n$ (avec d'ordinaire $y = x-1$) constitués de plusieurs unités séparées par des liaisons osidiques. Ces polymères se retrouvent en abondance dans la biomasse. Les plus répandus : la cellulose et l'amidon, sont constitués d'unités glucose différant par la nature des liaisons osidiques impliquées. Le classement des polysaccharides peut se faire soit selon la structure soit selon leur fonction.

En fonction de leur composition chimique, on distingue les homopolysaccharides (ou homoglycanes) constitués de la même unité monomère (cas de la cellulose, l'amidon, des fructanes, glucanes ou galactanes) et les hétéropolysaccharides (ou hétéroglycanes) qui sont des copolymères composés de différents monosaccharides (par exemple les hémicelluloses). Ils sont également classés en fonction de leur rôle dans la cellule. Dans ce cas, on parlera soit de polysaccharides de réserve qui constituent une source d'énergie (c'est le cas du glucose issu de l'amidon) ou de polysaccharides de structure constituant la paroi des cellules végétales (tels que la cellulose) ou la chitine constituant la carapace des crustacés.

L'amidon (**Figure 21**), extrait des céréales (blé, maïs, riz) ou des tubercules (pomme de terre, manioc etc.), se compose d'un polymère linéaire : l'amylose (homopolymère de glucose lié par

des liaisons α -(1-4) et d'amylopectine (homopolymère de glucose ramifié en β -(1-6)) dont le rapport dépend de l'origine botanique. A l'état natif, il possède une forme granulaire et est facilement hydrolysable en glucose qui permet la synthèse de différentes molécules plateformes.

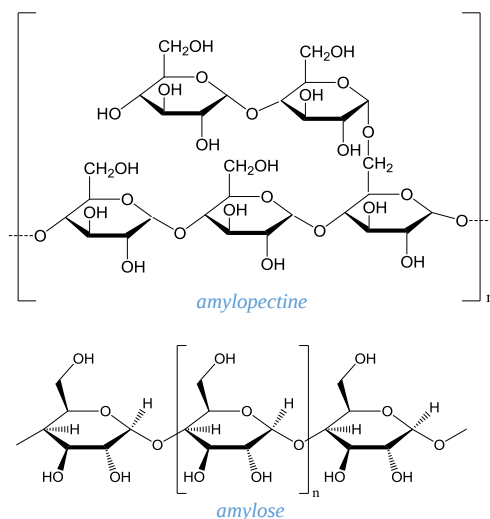


Figure 21: Formules chimiques de l'amylopectine et de l'amylose.

La paroi végétale est constituée de divers biopolymères qui sont la cellulose (40 à 45%), les hémicelluloses (15 à 20%), la lignine (15 à 25%) et les extractibles (5 à 10%). La cellulose est le polymère le plus abondant sur la terre et peut exister sous deux formes : pure (coton) ou combinée (cellulose, hémicelluloses, lignine, cendres, extraits). La cellulose diffère de l'amylose de par la nature de ses liaisons osidiques (β -(1-4)). L'hémicellulose, deuxième sucre le plus abondant sur terre est un mélange hétérogène de différents biopolymères branchés tels que le xylose, le galactomannane ou le xylane (majoritaire) (**Figure 22**).

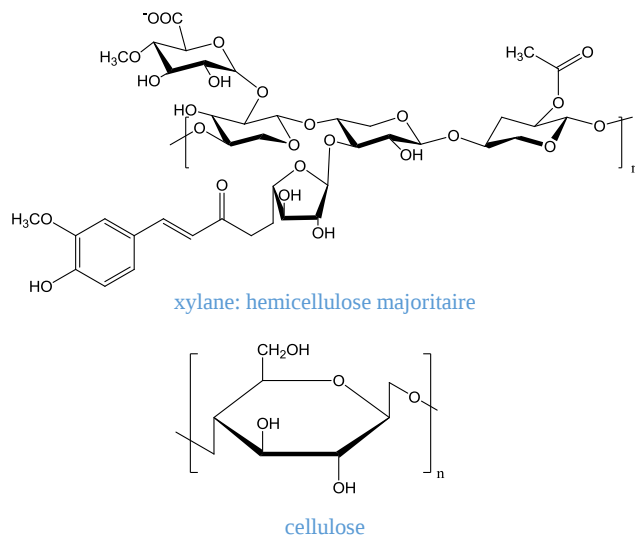


Figure 22: Formules chimiques de la cellulose et du xylane.

Le chitosane (**Figure 23**) est quant à lui un polysaccharide d'origine animale constitué d'unités D-glucosamine liées par des liaisons β -(1-4) et d'unités N-acétyl-D-glucosamine. Issus de la désacétylation chimique ou enzymatique de la chitine (composant de l'exosquelette des crustacés ou l'endosquelette des céphalopodes ou bien de la paroi de certains champignons), ce polysaccharide biodégradable et biocompatible présente des propriétés bactériostatique (qui inhibe la croissance bactérienne) et fongistatique en raison de la présence de fonctions amine.

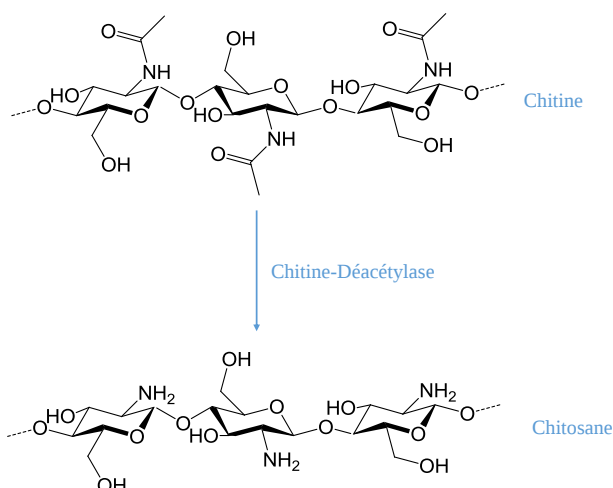


Figure 23: Synthèse du chitosane par désacétylation de la chitine.

Les glycoaminoglycanes sont des macromolécules glucidiques qui composent les matrices extracellulaires des tissus conjonctifs. Il s'agit de chaînes linéaires sulfatées constituées de la répétition de deux disaccharides: un diholoside contenant une hexoamine et un ose. L'héparine ou l'acide hyaluronique appartiennent à cette famille de polysaccharides. L'héparine dont la structure est complexe et mal connue est composée d'unités disaccharides trisulfatées : l'acide L-iduronique-2-O-sulfate et la D-glucosamine-N-sulfate-6-O-sulfate. L'acide hyaluronique est quant à lui constitué d'acide D-glucuronique et D-N-acétylglucosamine liés par des liaisons glycosidiques β -(1-4) et en β -(1-3) (**Figure 24**).

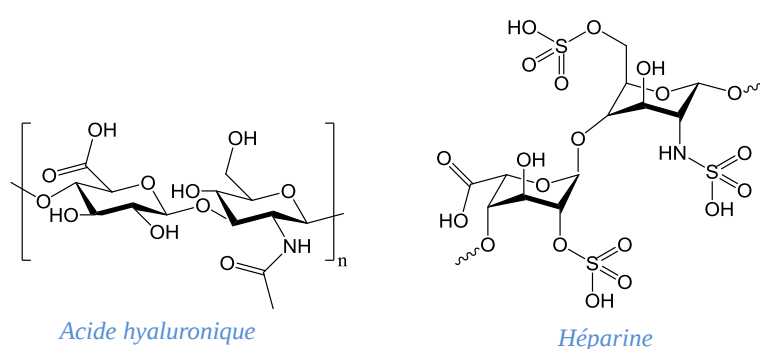
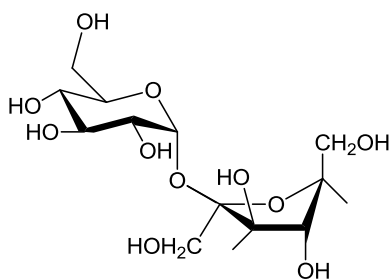


Figure 24: Formules chimiques de l'héparine et de l'acide hyaluronique.

La grande particularité de ces sucres est qu'ils peuvent être dépolymérisés afin d'en extraire le glucose à partir duquel différents synthons sont obtenus. Ceux-ci peuvent être valorisés en tant que petite molécule ou être polymérisés. Le saccharose (**Figure 25**) extrait principalement de la betterave sucrière ou de la canne à sucre est très largement utilisé dans l'alimentation (« sucre de table »). Ce diholoside est composé d'unités glucose et fructose liées par une liaison osidique de type α (1 $\leftrightarrow$ 2) β .



Saccharose

Figure 25: Formule chimique du saccharose.

D'autres synthons peuvent être obtenus à partir du glucose extrait de la cellulose ou d'autres bioressources telles que les grains de café, la betterave sucrière ou la canne à sucre. En effet, à partir de l'hydrolyse enzymatique ou de la fermentation des sucres en C₅ et C₆, il est possible d'obtenir un grand nombre de molécules d'intérêt telles que le sorbitol, le glycérol, le xylitol etc. (**Figure 26**).

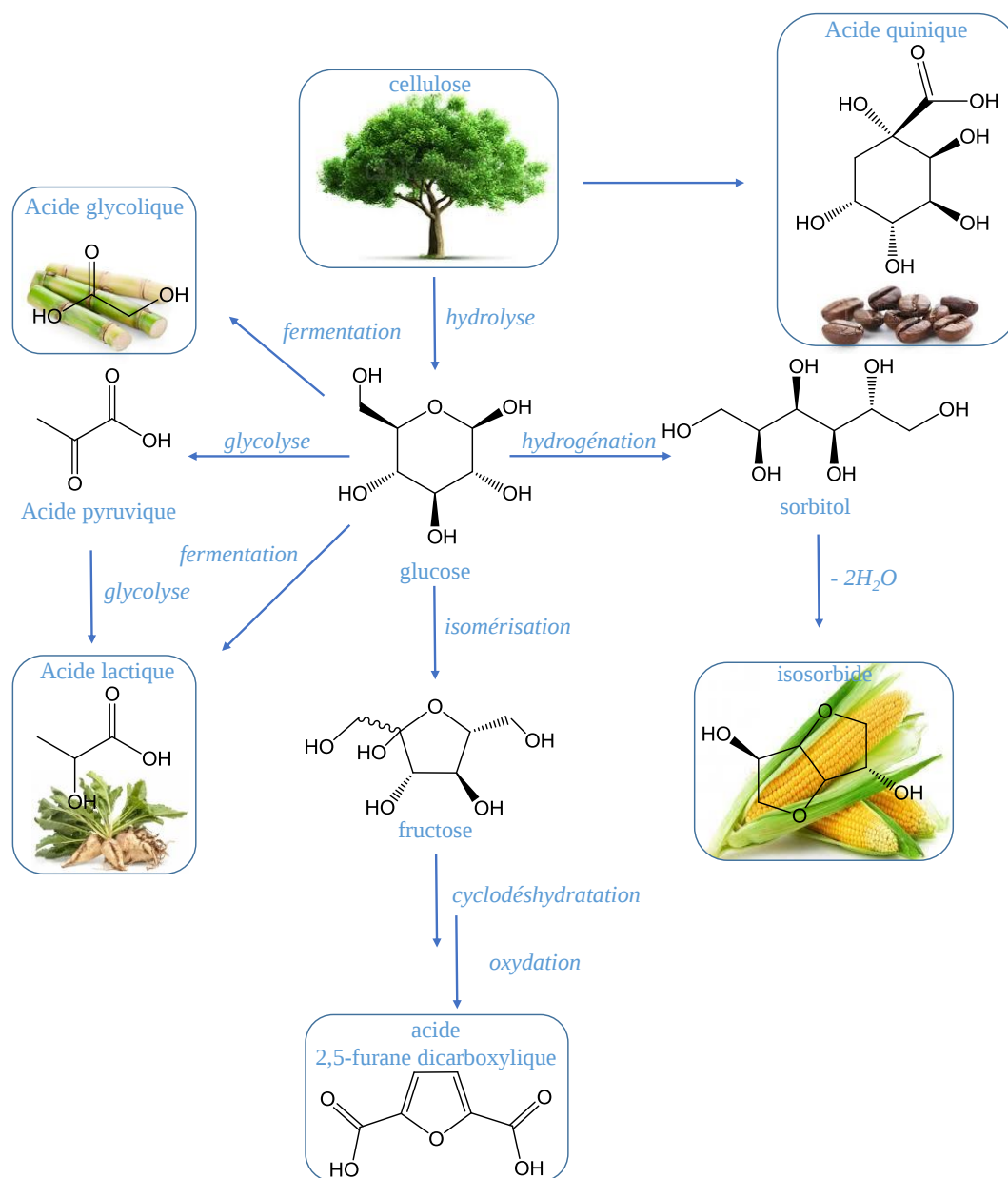


Figure 26: Synthons issus de la biomasse saccharidique.

I.3.3 Caoutchouc naturel et terpénoïdes

Obtenu après transformation du latex issu de certains végétaux tel que l'hévéa, ce polymère naturel est un polyisoprénoïde (**Figure 27**).

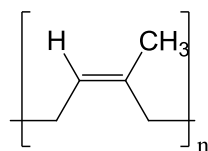


Figure 27: Formule chimique du caoutchouc naturel (poly (cis 1-4 isoprène)).

Les terpènes sont une classe d'hydrocarbures très présente dans les huiles essentielles et largement répandue dans la nature puisqu'ils constituent une classe de métabolites secondaires synthétisés par les plantes, les champignons et certains insectes et microorganismes marins¹⁴. Ils sont aussi présents dans les phéromones de certains insectes et rentrent dans la composition des parfums, arômes et nutriments. Certains d'entre eux possèdent des propriétés thérapeutiques et sont exploités dans l'industrie pharmaceutique pour le traitement de nombreuses maladies¹⁵ telles que le cancer¹⁶ ou les maladies respiratoires¹⁷.

La résine de térébenthine extraite des conifères et du térébinthe ainsi que les huiles essentielles d'agrumes constituent la plus grande ressource de terpènes¹⁸. La production mondiale d'essence de térébenthine est environ égale à 330 000 tonnes¹⁴ alors que celle des agrumes avoisine les 115 500 000 tonnes¹⁹. Ainsi, les terpènes représentent une ressource renouvelable particulièrement intéressante puisqu'elle est peu coûteuse et très abondante.

Ces hydrocarbures possèdent un enchaînement régulier tête à queue du motif de répétition 2-méthyl-1,3-butadiène appelé isoprène (**Figure 28**).

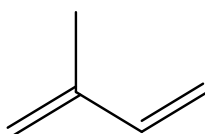


Figure 28: Formule chimique de l'isoprène.

Selon le nombre de motif isoprène n , il existe différents types de terpènes (**Tableau 3**). Les terpénoïdes présents dans de nombreuses huiles essentielles correspondent à des terpènes ayant subi une modification chimique. Certains terpènes présentent une structure cyclique et des fonctions oxygénées (alcool, carbonyle etc.).

Tableau 3: Classification des terpènes en fonction du nombre d'unité isoprène

Nombre de motif isoprène	Classification
1	hémiterpène
2	monoterpène
3	sesquiterpène
4	diterpène
5	sesterpènes
6	triterpène
8	tétraterpène
n	polyterpène

De plus, la réactivité intrinsèque de ces hydrocarbures insaturés naturels rend possible leurs modifications chimiques ce qui permet d'élargir la gamme de synthons organiques dérivés des terpènes naturels. Ainsi, de nombreux terpènes ou terpénoïdes peuvent être facilement obtenus par isomérisation, hydrogénation, oxydation, hydratation, condensation, cyclisation etc. Corma *et al.* ont très largement décrit les différents produits pouvant être obtenus à partir du pinène, du limonène, du carène, du camphène et du citral¹⁸ (**Figure 29** et **Figure 30**).

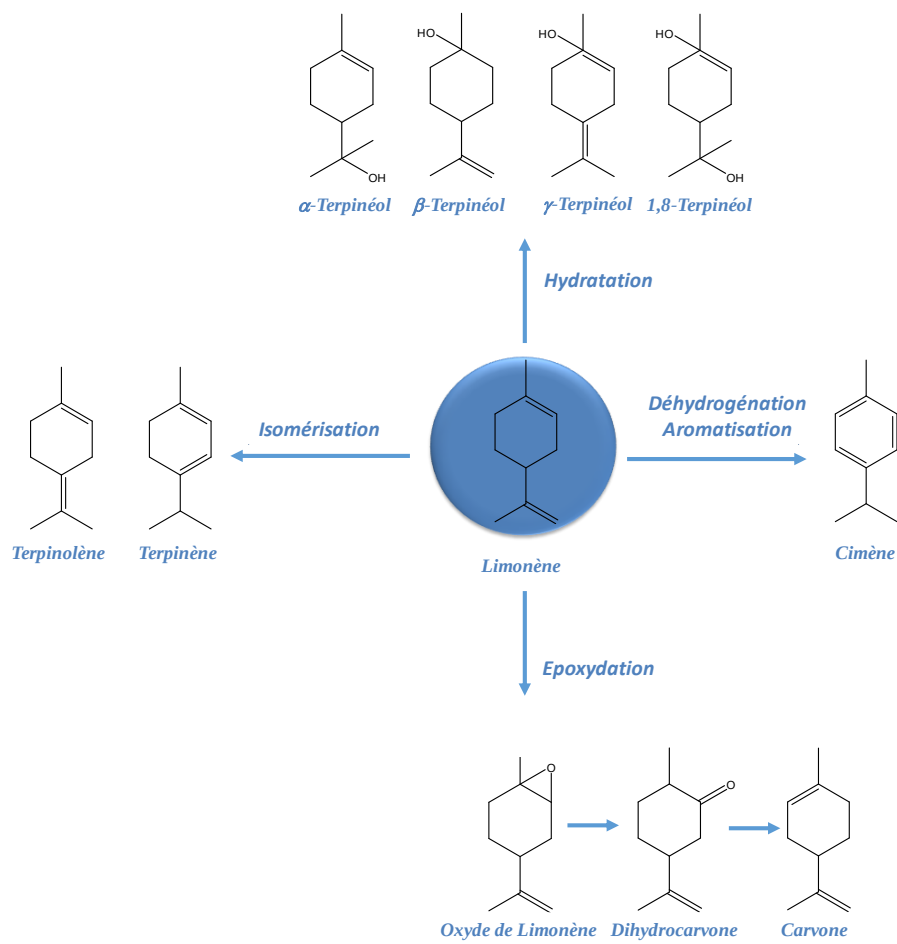


Figure 29: Dérivés du limonène.

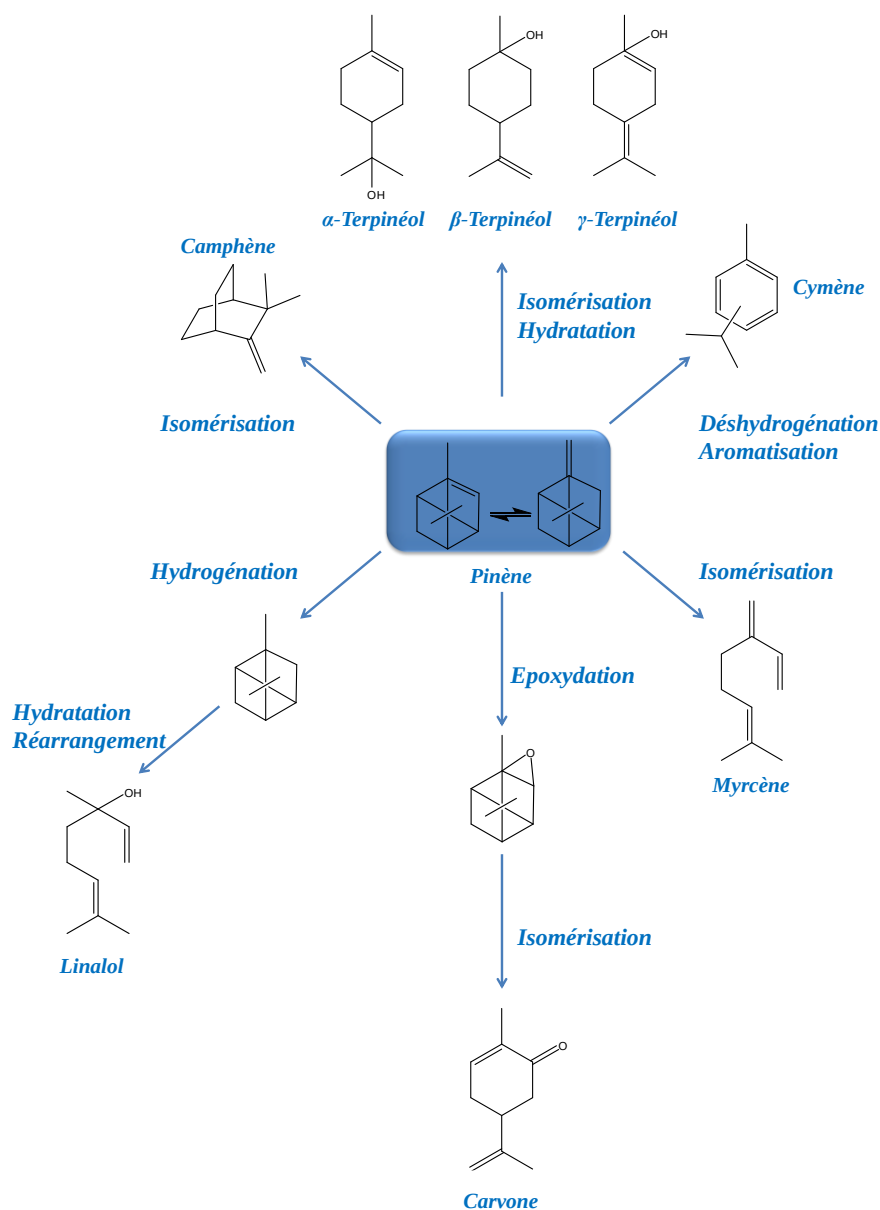


Figure 30: Dérivés du pinène.

I.3.4 Composés phénoliques

La biomasse est également une source de divers composés phénoliques. Les constituants aromatiques représentent une source de synthons stratégiques directement substituables aux synthons pétrosourcés pour la production de polymères de commodité. Les molécules phénoliques présentées par la suite ne sont pas produites en grande quantité mais sont des molécules spécifiques pour des applications à haute valeur ajoutée comme il le sera décrit dans la suite du manuscrit.

On peut citer l'urushiol, composé phénolique extrait des plantes de la famille des *Anacardiaceae* (**Figure 31**).

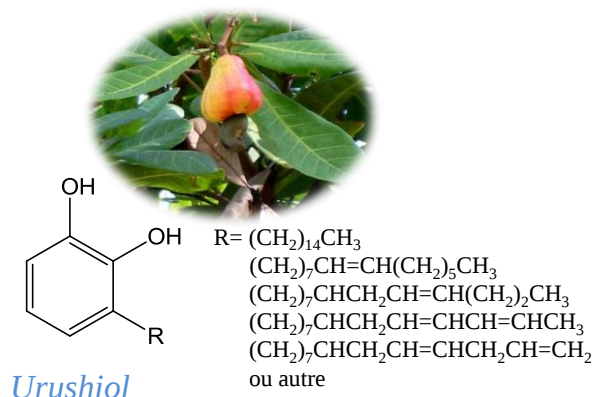


Figure 31: Formule chimique de l'urushiol.

La curcumine (**Figure 34**), pigment principal du curcuma est un polyphénol connu pour ses propriétés biologiques. En effet, il a été démontré que cette molécule inhibait la prolifération des cellules cancéreuses ainsi que l'angiogenèse à différentes étapes du développement du cancer ²⁰. De plus elle possède des propriétés antioxydante, antibactérienne, antiseptique et anti-inflammatoire ²¹.

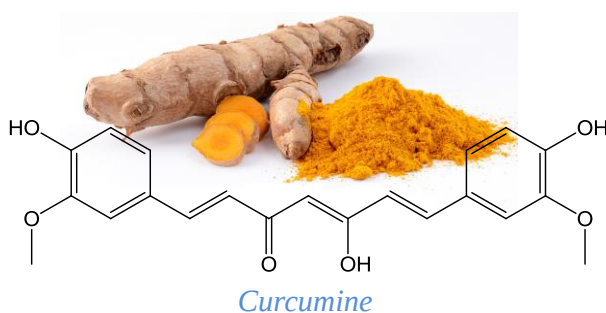


Figure 32: Formule chimique de la curcumine.

La quercétine est un flavonoïde jouant le rôle de métabolite secondaire chez les plantes. Un grand nombre de plantes médicinales doit son efficacité à la présence de quercétine en grande quantité. Dans les plantes, on la retrouve sous la forme d'hétéroside. Le groupement hydroxyle

présent en α du carbonyle peut être substitué par un rhamnose, un glucose, un galactose ou un rutinose pour donner respectivement le quercitroside, l'isoquercitroside, l'hypéroside et la rutoside. Elle a été reconnue pour ses propriétés antiinflammatoire et antioxydante²², antimutagénique²³ et a une action contre la sarcoïdose²⁴.

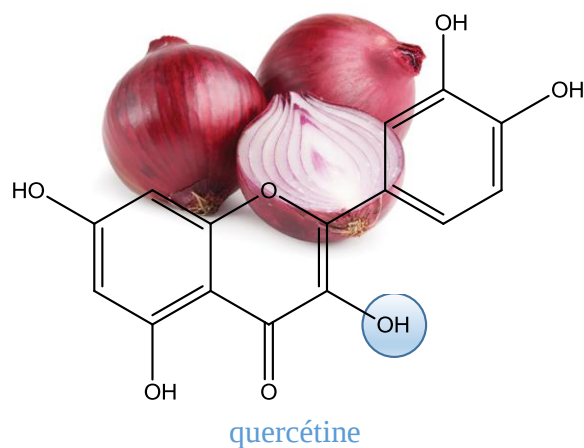


Figure 33: Formule chimique de la quercétine.

Il est en outre possible de synthétiser différents acides aromatiques à partir de l'acide benzoïque obtenu après oxydation par l'acide nitrique de l'amygdaline extraite de l'amande amère (**Figure 34**).

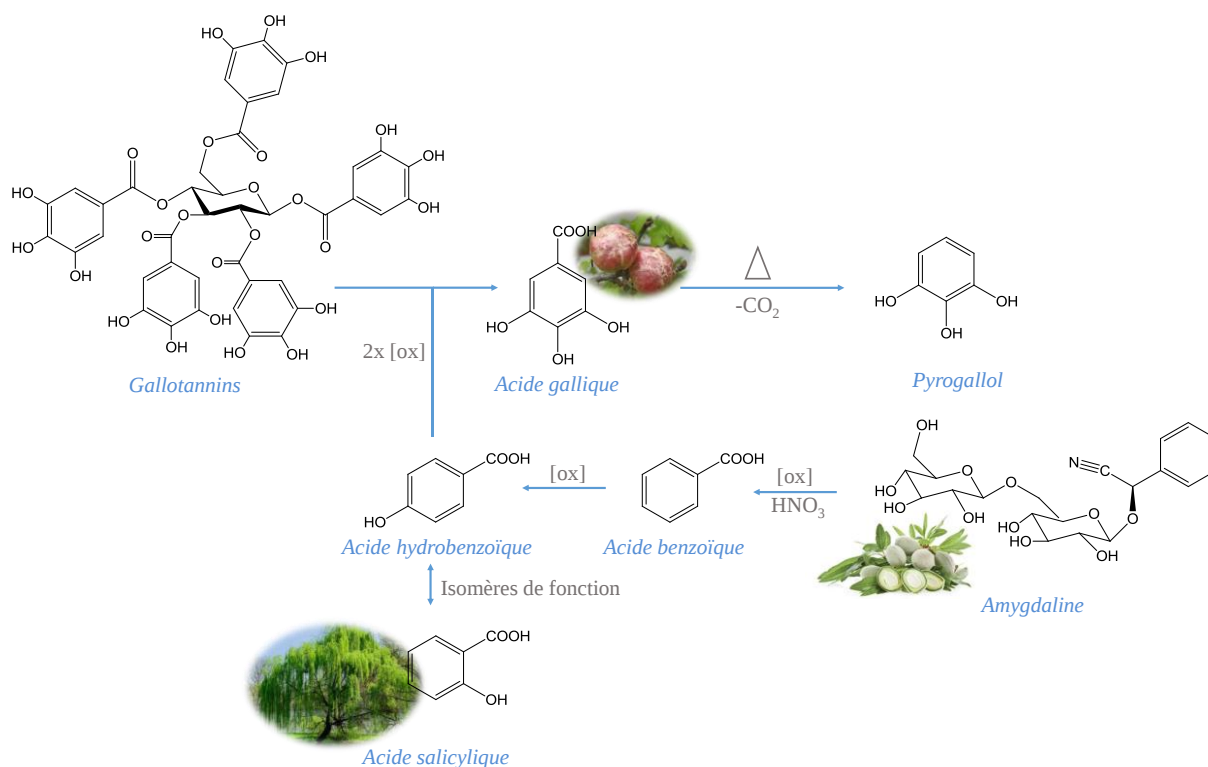


Figure 34: Composés phénoliques dérivés de l'acide benzoïque.

L'acide salicylique, isomère de l'acide hydroxybenzoïque est synthétisé par certains végétaux tels que le saule ou la reine des prés. Ce composé a longtemps été utilisé comme antipyrétique et possède des propriétés analgésique et antiseptique. De plus, c'est le précurseur de l'acide acétylsalicylique communément appelé aspirine.

L'acide gallique, dérivé de l'acide trihydrobenzoïque est largement répandu dans les plantes (noix de galle, sumac, hamamélis, feuille de thé, écorces de chêne etc.) sous sa forme libre ou comme composant des gallotanins dont il en est facilement extrait par hydrolyse en présence d'acide sulfurique. Il possède des propriétés anti et pro-oxydantes, antibactérienne, antivirale²⁵ et cytotoxique contre les cellules cancéreuses (leucémie, cancer de la prostate, poumon etc.)²⁶.

La lignine représentant 15 à 25% de la lignocellulose est composée de trois monomères d'alcool cinnamyle différents (l'alcool p-coumaryle, l'alcool coniferyle et l'alcool sinapyle) (**Figure 35**). Selon son origine botanique, sa structure est très variable. Elle est très abondante dans les parois secondaires des cellules végétales et constitue une source potentielle de synthons aromatiques pour la chimie (**Figure 36**) mais sa structure complexe freine considérablement sa valorisation. C'est pourquoi, seul un exemple²⁷ de matériau photopolymérisé à partir de cette bioressource a

été décrit à notre connaissance à ce jour même si de nombreux travaux portent sur sa valorisation^{27,28,28-33}.

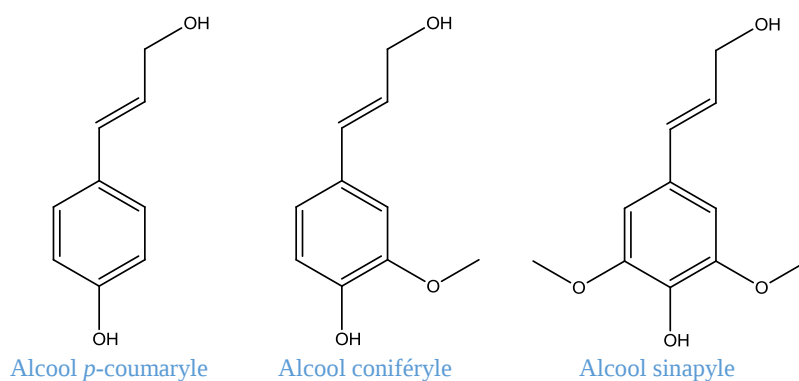


Figure 35: Formules chimiques des alcools cinnamyles constituant la lignine.

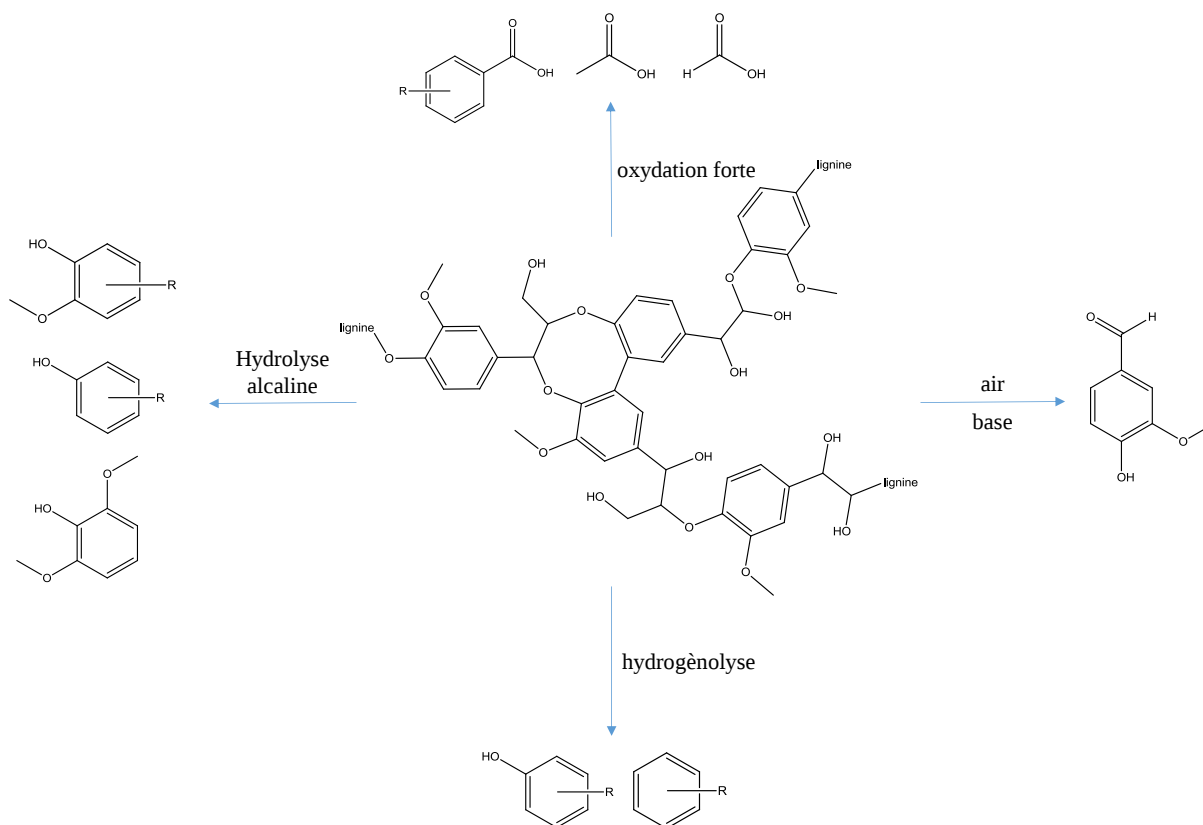


Figure 36: Transformation commerciale de la lignine³².

I.3.5 Macromolécules biologiques ou molécules dérivées

Les protéines sont également des macromolécules biologiques présentes dans toutes les cellules des êtres vivants. Elles sont constituées d'une ou plusieurs chaînes polypeptidiques formées de résidus d'acides aminés liés par des liaisons peptidiques. Elles possèdent diverses fonctions structurelles ou autres ainsi, les protéines enzymatiques induisent la catalyse de réactions chimiques, de synthèse et de dégradation nécessaires au métabolisme de la cellule. On peut distinguer deux types de protéines : les protéines d'origine animale telles que la caséine, la gélatine (composée d'un mélange de protéines obtenu par hydrolyse partielle du collagène extrait de la peau, des os ou bien encore des cartilages), le collagène ou encore les protéines du lait et celles d'origine végétale comme la zéine du maïs, le gluten du blé ou bien les protéines de soja ou de tournesol.

Parmi les protéines végétales, la peptidase à cystéine catalyse l'hydrolyse de certaines liaisons peptidiques des protéines. Elle est généralement présente dans divers fruits (papaye, ananas, kiwi etc.) et dans un grand nombre de végétaux.

L'albumine, l'une des rares protéines non glycosylée, est constituée d'environ 580 acides aminés. Chez les mammifères, cette protéine plasmatique est produite par le foie mais elle est également présente dans les végétaux (haricots, asperges ou graines des plantes oléagineuses).

I.3.6 Autres macromolécules biosourcées

Contrairement aux différents polymères et synthons extraits de la biomasse présentés précédemment, les poly(hydroxyalcanoate)s (PHAs) bien que synthétisés naturellement par les bactéries, sont obtenus en plus faible quantité et ce dans des conditions de culture bien particulières.

En effet, lorsque certaines bactéries sont soumises à des conditions de stress telles que la privation d'oxygène, d'azote ou de nutriments essentiels, celles-ci vont bio synthétiser un matériau intracellulaire jouant le rôle de réserve énergétique³⁴⁻³⁶ : le PHA (**Figure 37**). Cette production est d'autant plus importante que l'appauvrissement en facteurs nutritifs (azote, fer,

manganèse ou potassium) est important. De même, un excès de carbone ou l'absence de certains ions (ammonium ou phosphate) peut entraîner la synthèse de PHAs^{37,38}.

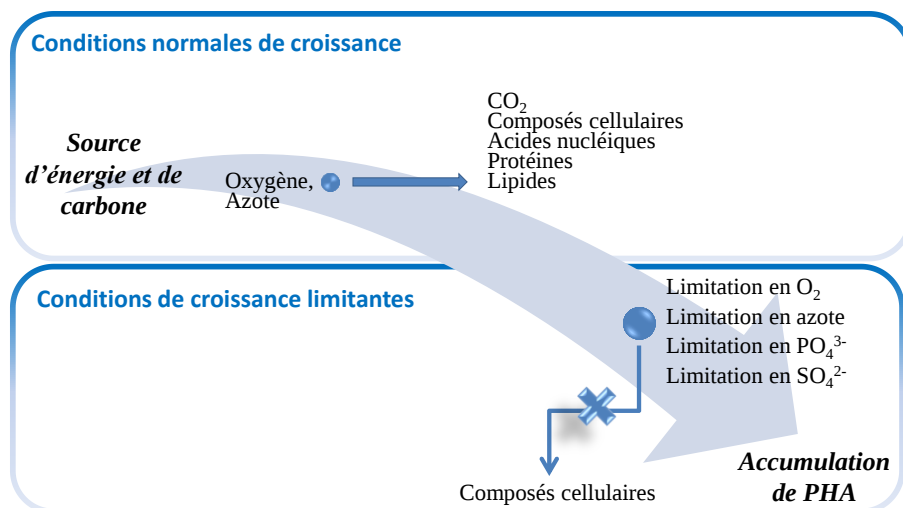
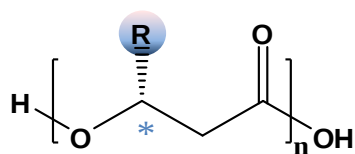


Figure 37: Conditions de culture normales et limitantes conduisant à l'accumulation intracellulaire du PHA.

Selon la nature du substrat et de la souche bactérienne utilisée, la longueur des chaînes latérales R diffère. Trois types de PHAs peuvent alors être distingués : les PHAs à courtes chaînes latérales (scl-PHAs), ceux à moyennes chaînes latérales (mcl-PHAs) et ceux à longues chaînes latérales (lcl-PHAs) (**Figure 38**).

Du fait de leur synthèse enzymatique par les PHAs polymérases, enzymes stéréospécifiques, le polymère de configuration R est parfaitement isotactique et semi-cristallin. Les propriétés du polymère sont étroitement liées à la longueur de la chaîne latérale ainsi les scl-PHAs sont des semi-cristallins rigides et cassants alors que les mcl-PHAs sont plutôt des élastomères.



scl-PHAs : R= CH₃ à C₃H₇

mcl-PHAs : R= C₄H₉ à C₉H₁₉

lcl-PHAs : R= C₁₀H₂₁ à C₁₄H₂₈

Figure 38: Formule générale des poly(3-hydroxyalcanoates).

In vivo, les PHAs se retrouvent à l'intérieur du cytoplasme de la bactérie sous la forme de granules dont le diamètre peut varier de 0,2 à 0,5 µm (**Figure 39**).

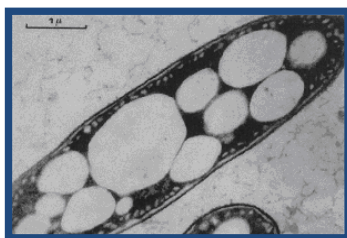


Figure 39: Image de microscopie électronique à transmission de granulés de PHB chez la souche *Azobacter Chroococcum* (Bunicourt, *Express polymer Letters*, 2014).

Ces granulés sont constitués d'un cœur amorphe et hydrophobe de PHA entouré d'une membrane contenant des phospholipides associés à des protéines polymérase et dépolymérase, structurantes (PHA-oléosines ou « phasines ») et de régulation (**Figure 40**). Ces différentes protéines ont des rôles distincts : la phasine est une protéine amphiphile non catalytique qui sert à la formation et la stabilisation des inclusions alors que la protéine de régulation a pour rôle le contrôle de la synthèse des granulés de polymère³⁹.

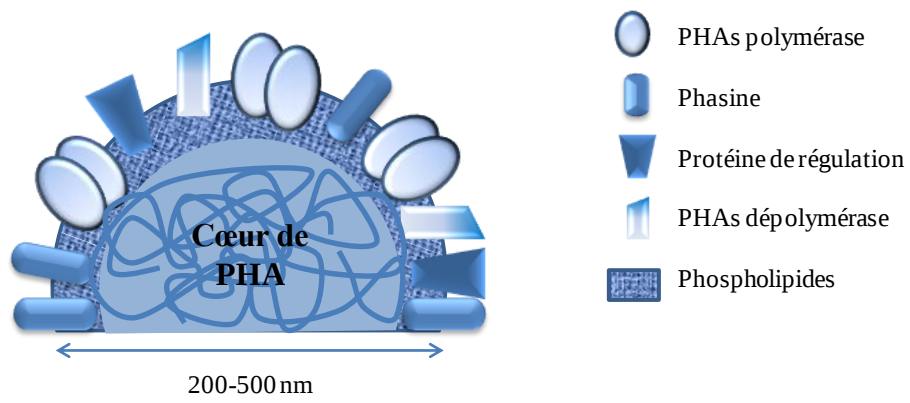


Figure 40: Schéma d'un granulé de PHA.

I.4 Modifications chimiques

Les matériaux synthétisés à partir de bioressources sont obtenus préférentiellement par polymérisation radicalaire ou par polymérisation par ouverture de cycle des époxydes⁴ ce qui peut être expliqué par la facilité de la mise en œuvre. Cependant, il est nécessaire de modifier préalablement les synthons d'intérêt. Ainsi, de nombreuses stratégies ont été envisagées pour introduire des motifs (méth)acrylates, allyliques ou époxydes à partir des fonctionnalités présentes dans la biomasse afin de pouvoir les polymériser (**Figure 41** et **Figure 42**).

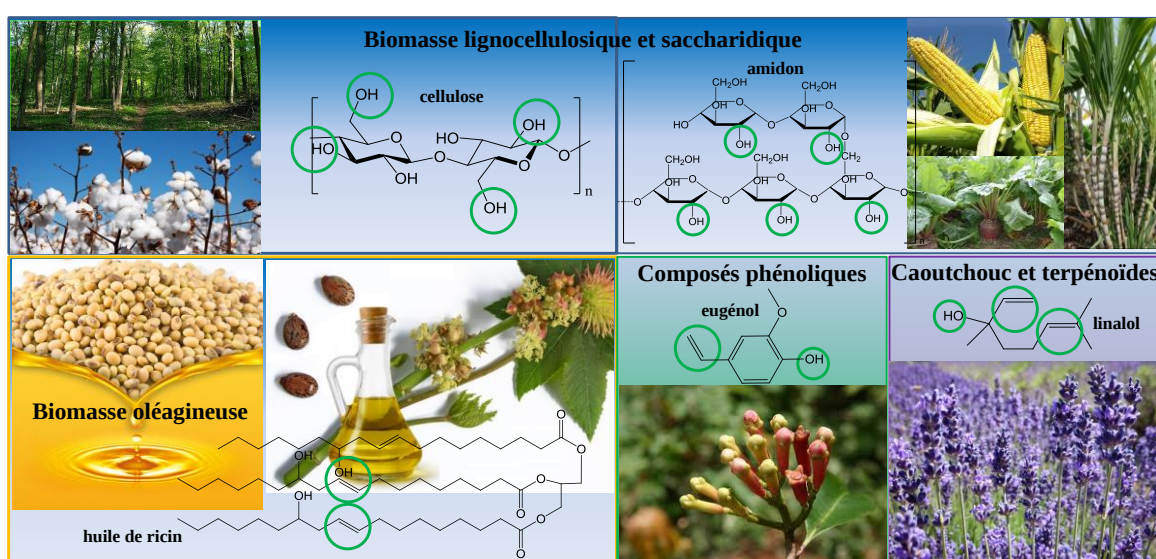


Figure 41: Fonctionnalités intrinsèques des principaux constituants de la biomasse.

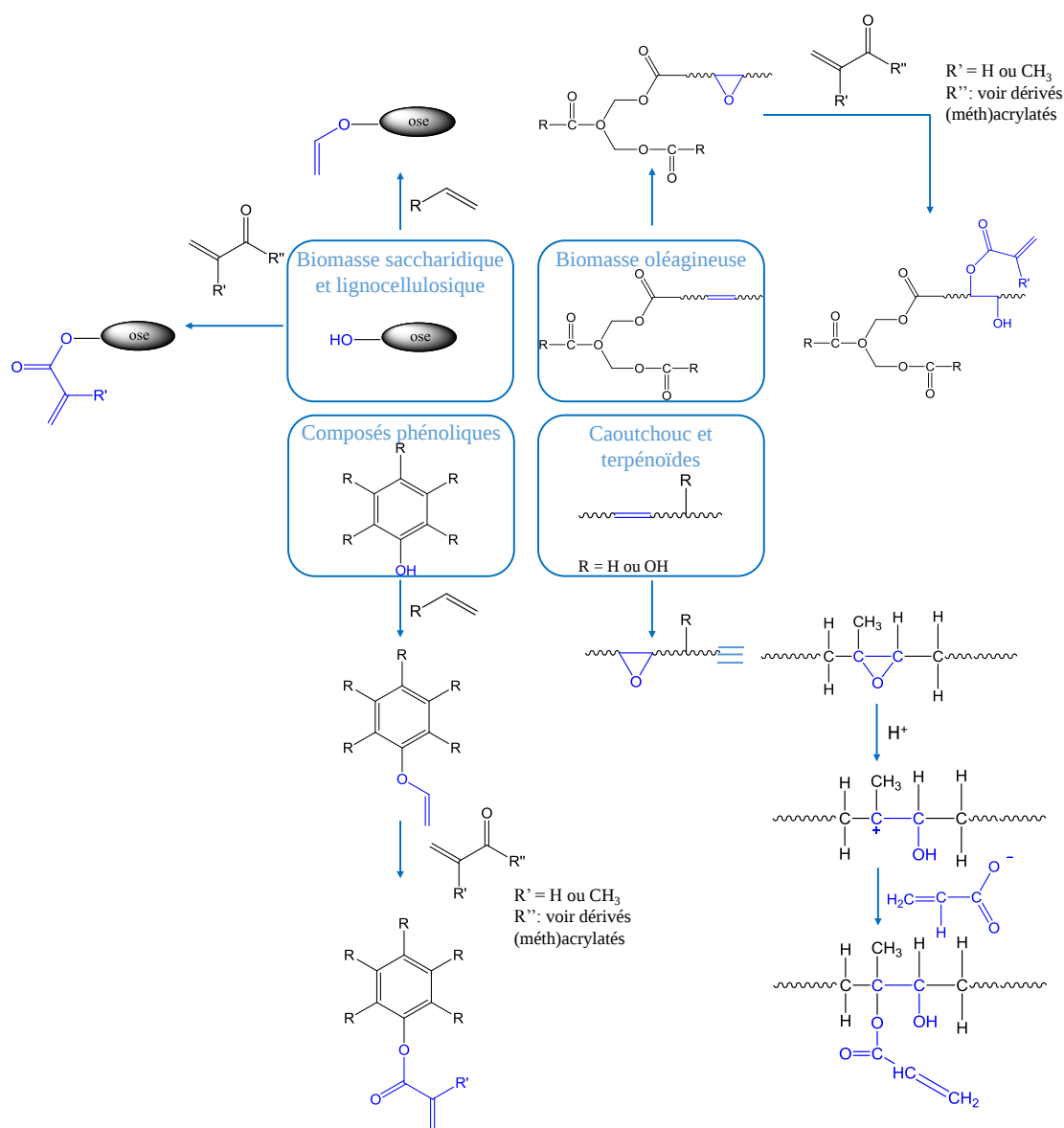


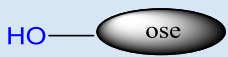
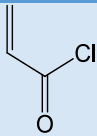
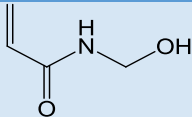
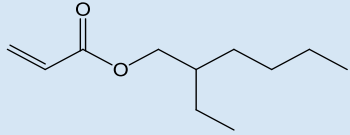
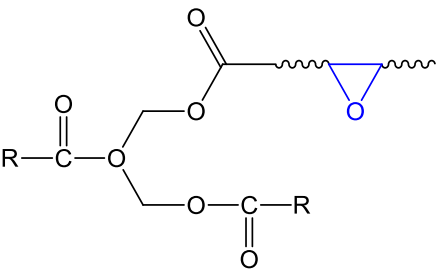
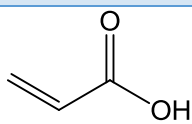
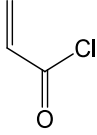
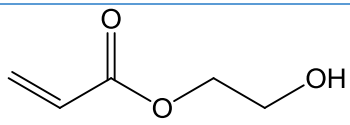
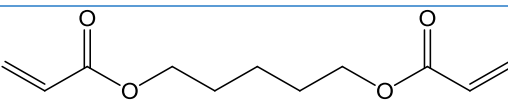
Figure 42: Exemple de fonctionnalisation des principaux constituants biosourcés.

L'introduction d'unités acrylique ou méthacrylique se fait le plus souvent par estérification ou transestérification grâce à la fonctionnalité intrinsèque de la biomasse saccharidique ou lignocellulosique^{40–55} (présence de nombreuses fonctions OH) ou bien par post-fonctionnalisation par ouverture de cycle des époxydes de la biomasse oléagineuse^{40,56–64} et plus rarement du caoutchouc et ses dérivés^{65,66}.

Ces réactions d'estérification ou de transestérification, le plus souvent effectuées en présence de solvant organique aprotique et apolaire, sous atmosphère inerte s'effectuent en conditions stoechiométriques ou avec un excès de (méth)acrylate par rapport aux fonctions hydroxyles. Des catalyseurs tels que l'acide tétrafluoroborique (HBF₄) ou l'hydroquinone et/ou des

composés aminés (capteurs de protons) tels que la triéthylamine, la diméthylaminopyridine ou la pyridine sont également utilisés lors de ces réactions. Les formules chimiques des dérivés (méth)acrylates couramment utilisés sont données dans les **Tableau 4** et **Tableau 5**.

Tableau 4: Fonctionnalisation des principaux constituants de la biomasse par des dérivés acrylates.

Type de bioressource	Dérivés utilisés pour la fonctionnalisation	Références
Biomasse saccharidique et lignocellulosique 	 Chlorure d'acryloyle	40,43–45,50,54,55
	 N-méthylolacrylamide	46
	 2-éthylhexylacrylate	51
Biomasse oléagineuse 	 Acide acrylique	57,60,64
	 Chlorure d'acryloyle	40,61
	 2-hydroxyéthylacrylate	62,63
	 1,6-héxanediol diacrylate	67

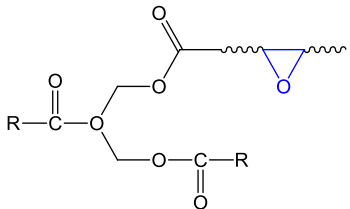
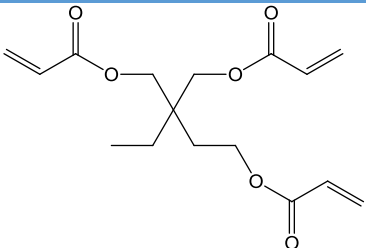
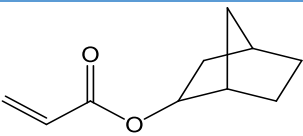
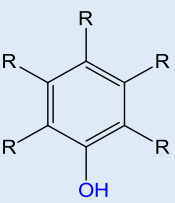
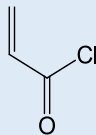
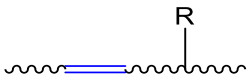
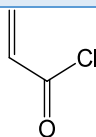
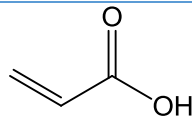
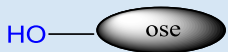
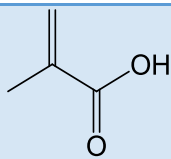
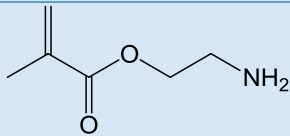
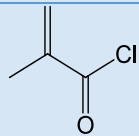
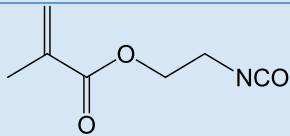
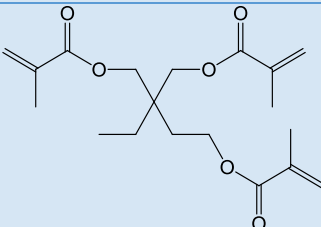
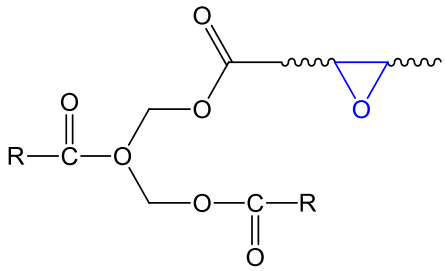
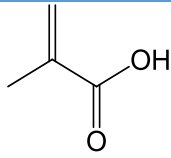
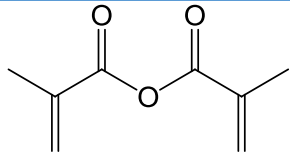
Type de bioressource	Dérivés utilisés pour la fonctionnalisation	Références
Biomasse oléagineuse 	 Triméthylolpropane triacrylate	67
	 Norbornylacrylate	59
Composés phénoliques 	 Chlorure d'acryloyle	65
Coutchouc et terpénoïdes  R= H ou OH	 Chlorure d'acryloyle	65
	 Acide acrylique	66

Tableau 5: Fonctionnalisation des principaux constituants de la biomasse par des dérivés méthacrylates.

Type de bioressource	Dérivés utilisés pour la fonctionnalisation	Références
Biomasse saccharidique et lignocellulosique 	 Acide méthacrylique	41
	 2-aminoéthylméthacrylate	42
	 Chlorure de méthacryloyle	44,50
	 2-isocyanateéthyle de méthacrylate	48
	 2-éthyl-2-hydroxyméthyl-1,3-propandioltriméthacrylate	51
Biomasse oléagineuse 	 Acide méthacrylique	56
	 Anhydride méthacrylique	

L'époxydation de la biomasse oléagineuse⁶⁸⁻⁷⁵ et plus rarement des caoutchouc et dérivés⁷⁶ ainsi que des PHAs⁷⁷ s'effectue par oxydation des doubles liaisons à l'aide d'un peracide (acide métaperchlorobenzoïque (mCPBA)) (**Figure 43**) ou du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

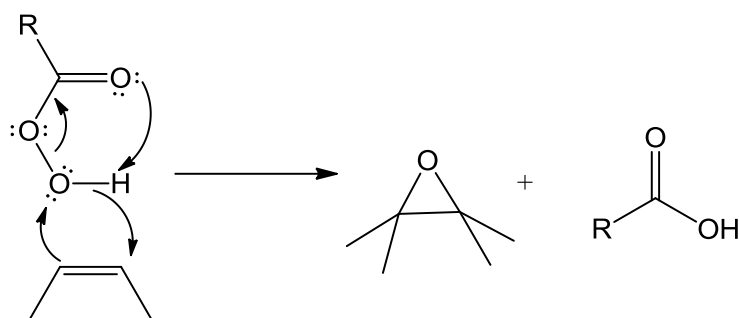
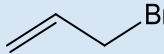
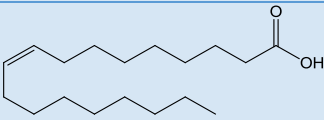
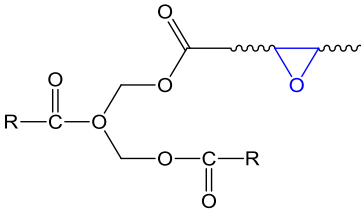
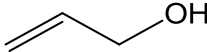
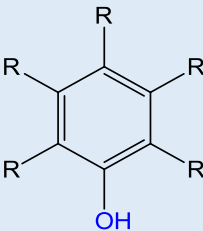
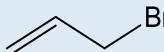
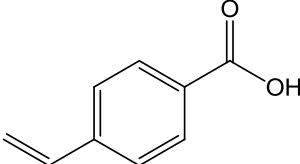
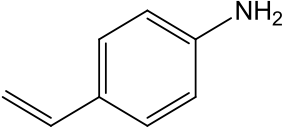


Figure 43: Réaction d'oxydation d'une double liaison carbonée par un peracide.

L'introduction d'unités allyliques se fait quant à elle, à partir des fonctions OH particulièrement abondantes dans les composés de la biomasse saccharidique ou lignocellulosique ainsi que dans les composés phénoliques, à l'aide de molécules vinyliques ou de molécules allyliques (bromure d'allyle ou alcool allylique) qui peuvent également être d'origine biosourcée comme l'acide ricinoléique. Dans le cas des huiles, la fonctionnalisation s'effectue sur le composé époxydé par ouverture de cycle (**Tableau 6**).

Tableau 6: Fonctionnalisation des principaux constituants de la biomasse par des dérivés allyliques.

Type de bioressource	Dérivés utilisés pour la fonctionnalisation	Références
Biomasse saccharidique et lignocellulosique 	 Bromure d'allyle	78-80
	 Acide ricinoléique	81
Biomasse oléagineuse 	 Alcool allylique	82
Composés phénoliques 	 Bromure d'allyle	83-86
Macromolécules biologiques (protéines) 	 Acide 4-vinylbenzoïque  4-vinylaniline	42

I.5 Synthèse des matériaux par polymérisation radicalaire photoinduite

Parmi les monomères vinyliques, les acrylates et méthacrylates sont les espèces les plus réactives⁴. Ainsi, de nombreux travaux portent sur la fonctionnalisation des huiles^{40,57,60,63,64,86,87} ou fibres végétales^{45,46,88}, alcools gras⁵⁷, protéines⁴², polyesters^{54,89} ou encore des sucres^{40,42,43,47,48,61,75,90-92} par des fonctions vinyliques réactives telles que les acrylates ou méthacrylates.

Parallèlement aux réactions de polymérisation radicalaire classique, les réactions de thiol-ène photoamorcées connaissent un intérêt grandissant du fait des nombreux avantages. En effet, dans des conditions douces, ce type de réaction conduit à des taux de conversion élevés et présente une grande régiosélectivité et ce, même en présence d'oxygène^{93,94}. Ainsi, ce mode de polymérisation peut être particulièrement attractif.

Les molécules d'intérêt extraites de la biomasse étant généralement polyfonctionnelles, les matériaux obtenus sont le plus souvent réticulés comme nous le verrons dans les sous-chapitres suivants.

I.5.1 Matériaux photoréticulés à partir des huiles et d'acides ou d'alcools gras dérivés

Les matériaux obtenus à partir des huiles végétales (méth)acrylatées présentent des applications nombreuses et variées (**Figure 44**).

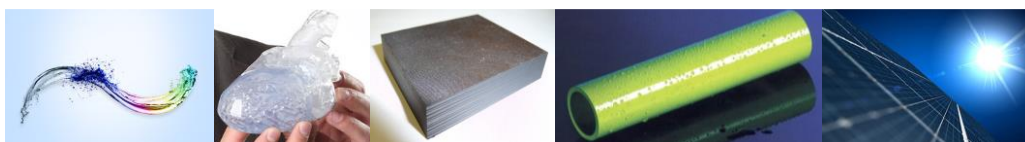


Figure 44: Domaines d'applications (encres⁶⁰, biomédical⁴⁰, composites^{56,64}, revêtements^{61,63,67,95}, stockage d'énergie⁵⁷) des huiles végétales acrylates

Selon la chimie mise en jeu et la fonctionnalité du ou des précurseurs biosourcés, différents types de réseaux peuvent être obtenus. Lorsque les deux oligomères présentent la même fonctionnalité ils réticulent ensemble en formant un co-réseau en revanche ; s'ils ont des fonctionnalités différentes, ils forment chacun un réseau dont les chaînes peuvent être entremêlées : on parle alors de réseau interpénétré. Enfin si seul un des deux oligomères possède des fonctions réactives, celui-ci va former un réseau dans lequel les chaînes du deuxième vont être piégées, on parle alors de réseau semi-interpénétré (**Figure 45**).

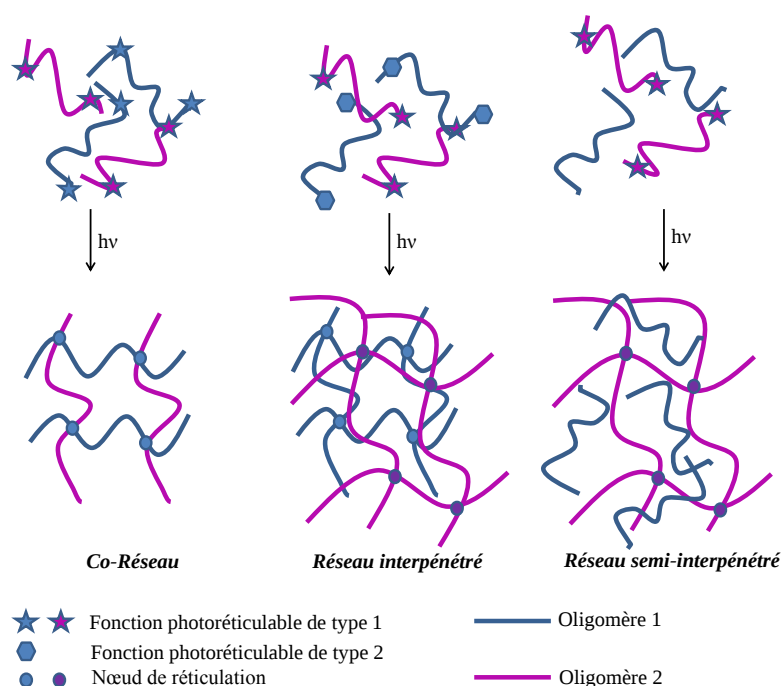


Figure 45: Différents types de réseaux obtenus par photoréticulation.

Ainsi, de nombreux co-réseaux de polymères ont été synthétisés à partir d'huiles végétales acrylatées en particulier l'huile de soja. En 2013, Jang et *al.* ont associés des huiles de soja ou de ricin acrylatées au 2,5- diacrylate de furane (obtenu par déshydratation oxydative des sucres C₆) pour synthétiser un co-réseau biosourcé novateur⁴⁰. Ce co-réseau a été obtenu en faisant varier le ratio massique d'huile trifonctionnalisée avec celui du 2,5- diacrylate de furane (bifonctionnel) en utilisant le DMPA comme photo amorceur à température ambiante. Les propriétés mécaniques obtenues ont pu être modulées grâce à la nature de l'huile utilisée mais aussi par la quantité du composé cyclique apportant de la rigidité au réseau obtenu. Ainsi la résistance à la traction a été multipliée par 1,4 voire 4,2 selon la nature de l'huile et le pourcentage massique du diacrylate de furane introduit⁴⁰.

L'huile de soja a également été modifiée par des groupements acrylates (AESO) ou par des anhydrides méthacryliques (MMSO) par Akesson et *al.* afin de synthétiser des nanocomposites biosourcés. L'addition d'argile a entraîné une augmentation du module de conservation (11 à 61 MPa) mais une diminution de la T_v des matériaux⁵⁶. D'autres travaux ont porté sur la synthèse de réseaux élastomériques dérivés de l'huile de ricin et du glycérol obtenus par photoirradiation de poly(glycérol-co-sébacate) acrylate. Là encore, les propriétés mécaniques obtenues (module de Young entre 0,05 et 1,38 MPa et élongation à la rupture entre 42 et 189%)

sont liées au degré d'acrylation du polymère. Celui-ci étant relativement faible (0,17 à 0,54), les propriétés mécaniques se sont avérées peu élevées⁴³.

De plus, de nombreux auteurs ont consacré leurs recherches à l'élaboration de divers revêtements ou encres à partir d'huiles végétales modifiées. Ainsi, des co-réseaux à base d'huiles de soja acrylatées ont été synthétisés par photoamorçage^{60,63}. La diversification de ces modifications chimiques a permis d'élaborer des revêtements novateurs biosourcés pouvant être utilisés dans divers domaines d'applications^{61,62}. En particulier, Ma et *al.* ont modifié l'acide gallique avec le bromure d'allyle afin d'obtenir une molécule tétrafonctionnelle biosourcée (**Figure 46**). Celle-ci a par la suite été associée à de l'huile de soja acrylatée (AESO) afin d'obtenir par photoréticulation un revêtement à haute performance⁸⁶. Des revêtements associant ces huiles végétales à des polymères ont également été synthétisés^{67,95}. De plus, des matériaux hydrophobes ont été synthétisés à partir d'huile de lin modifiée avec l'anhydride maléique puis l'hydroxyéthylmétacrylate sous irradiation UV sans photoamorceur ni solvant⁹⁶.

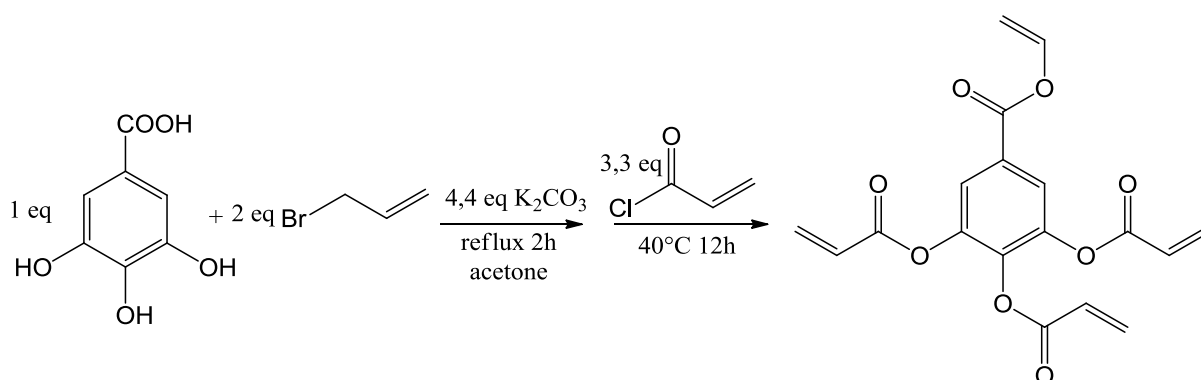


Figure 46: Synthèse de l'acide gallique tétra fonctionnalis.

Quelques revêtements réticulés ont aussi été obtenus par réaction de type thiol-ène photoamorcées^{82,85}. Ainsi, un co-réseau de polymère à base d'huile de ricin acrylate et d'oligomères polyédriques de silsesquioxane (POSS-OA/SH) a été synthétisé par Luo et *al.* (**Figure 47**). Celui-ci n'a démontré aucune séparation de phase. De plus, la stabilité thermique des matériaux obtenus (> 335°C) a pu être améliorée en augmentant la proportion de POSS dans le réseau⁸⁵. Des revêtements obtenus à partir d'ester gras insaturés dérivés des huiles végétales ont également été synthétisés par irradiation UV sans photoamorceur en présence de

peroxydes et d'espèces zwitterioniques qui participent favorablement à la réaction de photoréticulation⁹⁷.

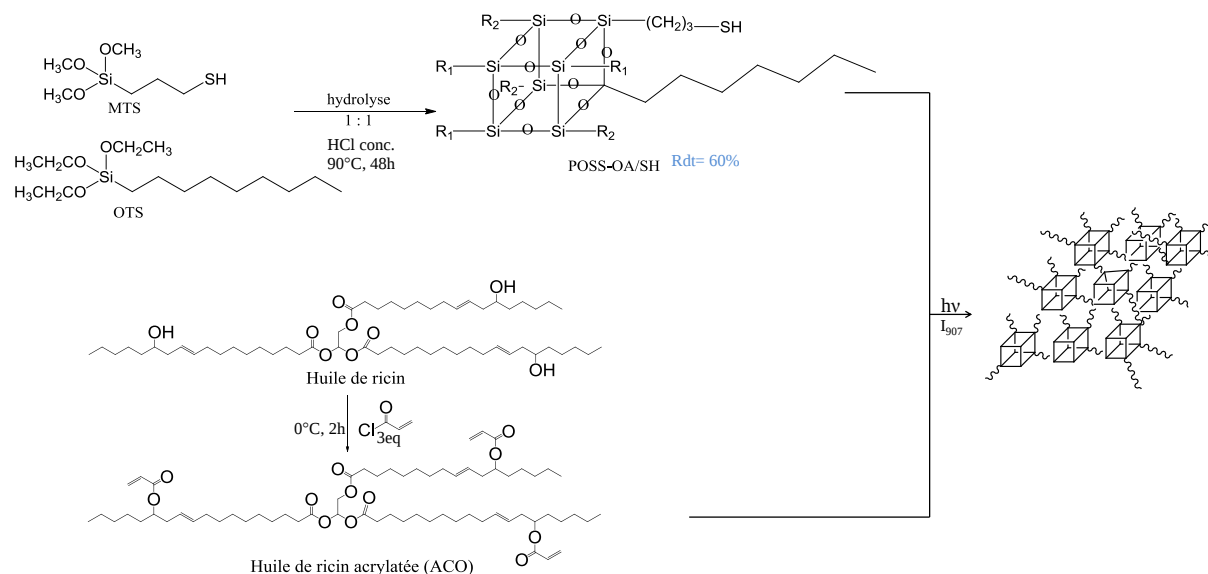


Figure 47: Formation des réseaux hybrides POSS-OA/SH et ACO par réaction de type thiol-ène.

Des recherches se sont aussi portées sur l'élaboration de réseaux de type semi-interpénétrés. Ainsi, des composites supramoléculaires ont été synthétisés à partir d'huile de soja acrylatée (AESO) combinée au N-carbobenzyloxy-L-isoleucylaminooctadecane (CIA) ou à l'acide (R)-12-hydroxystéarique (HSA). Après irradiation, un composite formé d'une matrice réticulée à base d'huile de soja et de fibres de CIA auto-assemblées a été obtenu dans le cas du mélange AESO/CIA alors que le mélange AESO/HSA entraîne une cristallisation du HSA dans la matrice. Ces matériaux ont été caractérisés par microscopie optique et leurs propriétés mécaniques et thermiques ont été déterminées. Les analyses confirment la formation d'une phase mésogénique de CIA et une phase cristalline de HSA induisant un impact de nature différente sur les propriétés thermiques et mécaniques des composites. En effet, l'introduction de CIA conduit à un renforcement des propriétés mécaniques (augmentation du module de conservation E' et de la contrainte σ par rapport au réseau réticulé à base d'huile seule) dû à la présence du réseau fibreux tridimensionnel de CIA fortement réticulé et parfaitement miscible à la matrice. En revanche, la cristallisation hétérogène du HSA dans la matrice conduit à une diminution des propriétés mécaniques du composite⁶⁴.

D'autres réseaux biosourcés photoréticulés de type semi-interpénétrés aux propriétés de changement de phase ont été élaborés par Bastürk et *al.* à partir d'huile de soja acrylatée et

divers alcools gras (**Figure 48**). L'introduction de ces alcools dans la matrice a permis une amélioration des performances thermiques. De plus, les températures de changement de phase et d'enthalpie de fusion ou de cristallisation ont pu être modulées par la taille des chaînes alkyles de l'alcool. Ces matériaux sont prometteurs pour des applications de stockage d'énergie thermique⁵⁷.

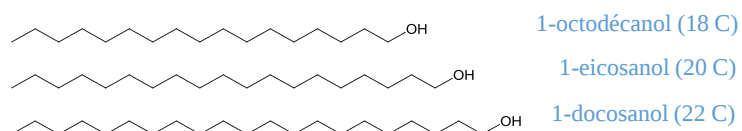


Figure 48: Alcools gras associés à l'huile de soja acrylatée.

Tout comme les huiles végétales, d'autres synthons dérivés comme les acides gras ont subi des (méth)acrylation afin de synthétiser des matériaux biosourcés photoréticulables. Ainsi, des co-réseaux biosourcés diacrylatés issus du glycidol et de l'acide gras undécylénique ont été synthétisés par photopolymérisation concomitantes des fonctions époxyde et acrylate en présence d'un sel d'iodonium comme photoamorceur de polymérisation cationique et radicalaire (**Figure 49**). Une étude portant sur la cinétique de photopolymérisation a démontré la rapidité de la conversion des acrylates (95% au bout de 100 s). De plus les mesures du taux de gonflement relativement faibles (4,3%) et celle de la dureté de König très élevée (177 ± 3 s) ont confirmé la forte densité de réticulation des matériaux obtenus⁸⁷.

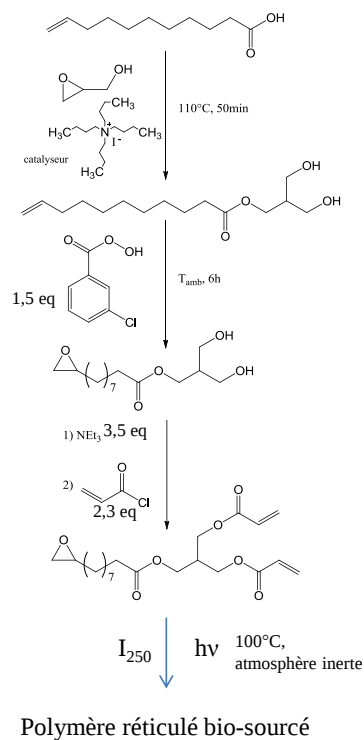


Figure 49: Synthèse des réseaux biosourcés à partir de l'acide undécylénique.

D'autres co-réseaux de polymères biosourcés de poly(thioéther-co-carbonate) ont été synthétisés à partir de l'acide quinique trifonctionnalisé par le chloroformiate d'allyle puis associé à des thiols polyfonctionnels (**Figure 50**). Ces co-réseaux ont démontré de bonnes propriétés mécaniques (T_g comprise entre -18 et 65°C et module de conservation dans le plateau caoutchoutique de 3,8 à 20 MPa)⁸¹.

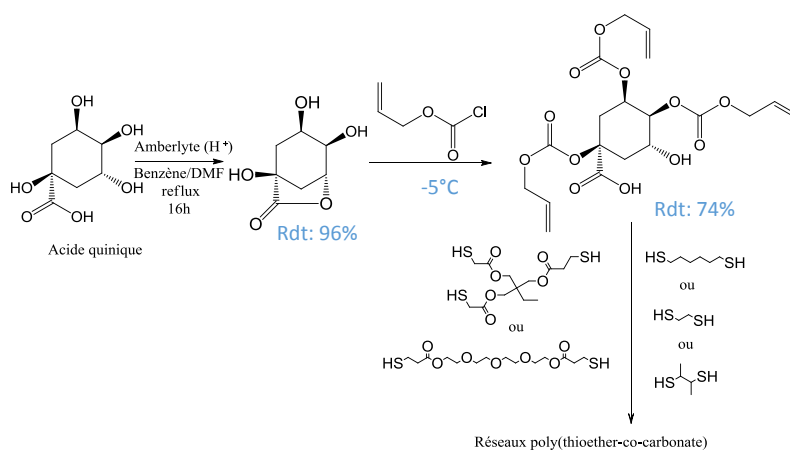


Figure 50: Formation des réseaux hybrides à partir de l'acide quinique.

Finalement, Prandato et *al.* ont synthétisé par polymérisation radicalaire à partir de dérivés acrylates biosourcés et multifonctionnels, des revêtements de protection pour les substrats en polycarbonate (**Figure 51**) et ont étudié leurs propriétés mécaniques⁹⁸.

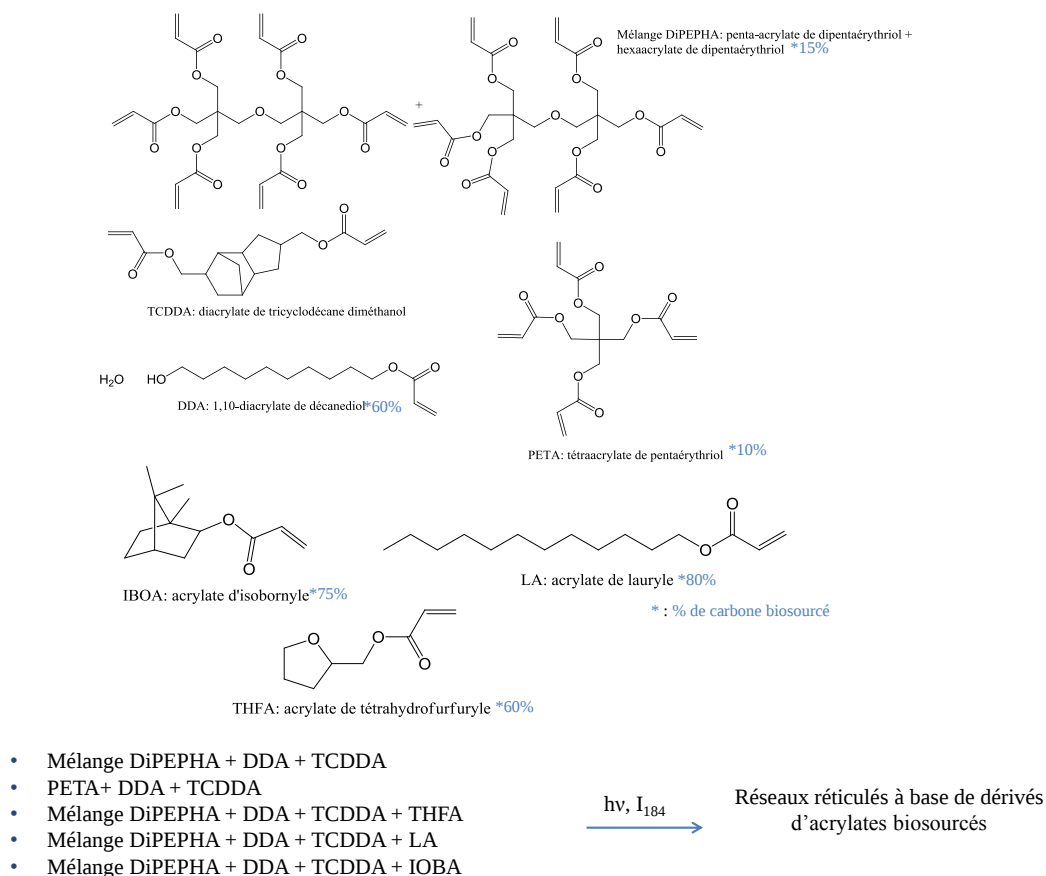


Figure 51: Co-réseaux à partir de dérivés acrylates en partie biosourcés.

I.5.2 Matériaux photoréticulés à partir des sucres (polysaccharides) et de synthons dérivés

Une large gamme de matériaux a été élaborée par photopolymérisation radicalaire des sucres et de leurs synthons dérivés (méth)acrylates ou allyliques (**Figure 52**).

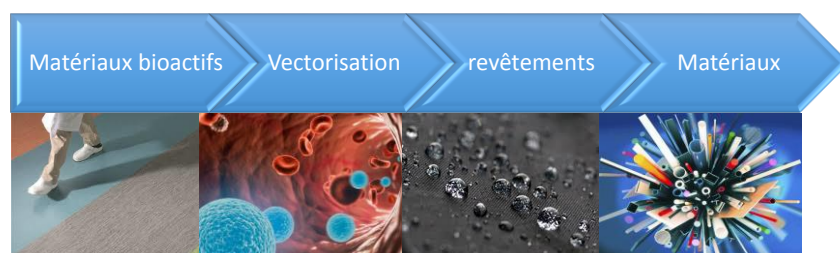


Figure 52: Applications des matériaux à base de sucres.

En effet, la modification des sucres et en particulier de la cellulose a fait l'objet de nombreuses recherches. Ainsi, plusieurs auteurs ont axé leurs travaux sur la modification de cette bioressource. Krumar et *al.* ont développé des dérivés de cellulose photoréticulables à partir d'acétate de cellulose et du N-méthylolacrylamide (**Figure 53**) et ont étudié leurs propriétés de surface. Ces dérivés associés à des monomères acryliques multifonctionnels (le triacrylate de triméthylolpropane, le N,N-diméthylacrylamide et des oligomères commerciaux époxyacrylatés EBECRYL 600) ont conduit, en présence d'irgacure I₁₈₄ (Erreur ! Source du renvoi introuvable.) à l'obtention de co-réseaux présentant un haut taux de gel ainsi qu'une bonne adhésion au bois⁴⁶.

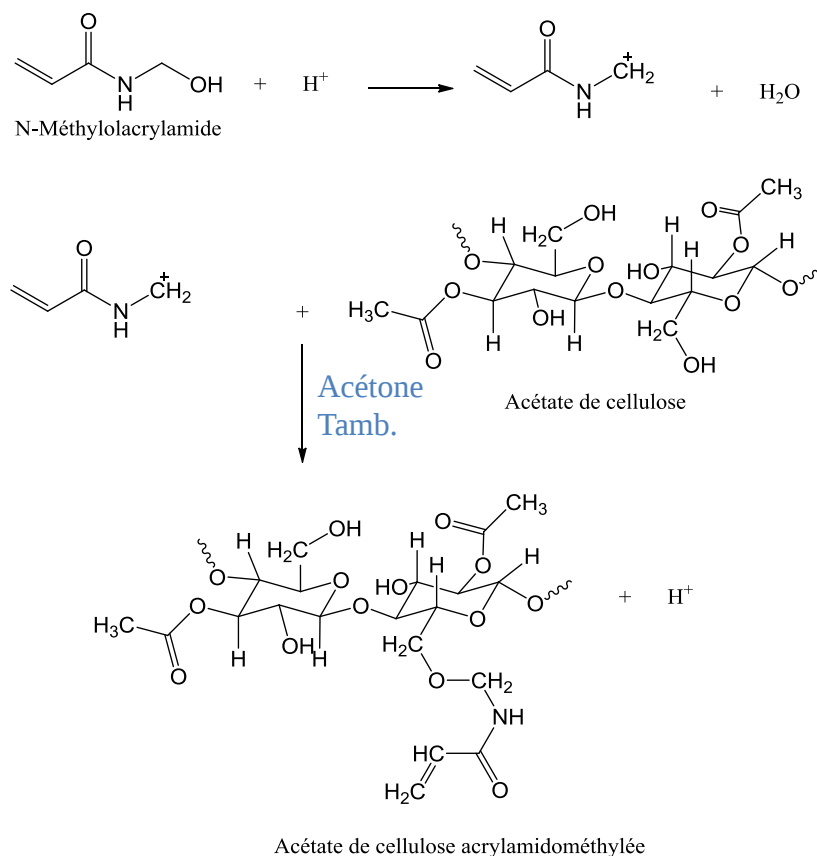


Figure 53: Fonctionnalisation de l'acétate de cellulose par le de N-méthylolacrylamide.

La même stratégie a été adoptée pour la synthèse d'encre en associant un dérivé acrylaté d'éthylcellulose au chlorure d'acryloyle. Le polymère ainsi obtenu a ensuite été associé au terpinéol (**Figure 29**) et photoréticulé en présence de Darocure 1173⁴⁵.

Des copolymères thermoplastiques photoréticulables par UV ont été synthétisés par Wang et *al.* à partir de la lignine fonctionnalisée. En effet, un macroamorceur obtenu à partir de la lignine graft a été synthétisé par estérification bromoisobutyrique des groupements hydroxyles de type aliphatique et phénolique de la lignine. Des copolymères lignine-g-PS et lignine-g-poly(styrène-co-ABP) ont ensuite été obtenus par ARGET et ATRP et ceux-ci ont été photopolymérisés par UV pour donner lieu dans le cas des copolymères de lignine-g-poly(styrène-co-ABP) à un réseau de polymère pouvant être utilisé pour l'élaboration de matériaux possédant une forte dureté de surface, une résistance aux solvants ainsi qu'une stabilité thermique²⁷.

De plus, des composites formés d'une matrice de cellulose réticulée et d'acrylate de poly(uréthane) (PUA) ont été élaborés par irradiation UV afin d'augmenter l'hydrophobicité



Erdous et *al.* ont quant à eux comparé les propriétés mécaniques de réseaux semi-internpéntrés

d'alcool poly(vinyle) (PVA) à celles de films PVA/ poly(oxyde d'éthylène) (PEO). Cette étude a démontré que les films issus du chitosane présentaient des propriétés mécaniques supérieures à celles contenant le PEO (**Tableau 7**)⁵¹.

Tableau 7: Propriétés mécaniques des films à base de chitosane et de PEO.

Composition des films	PVA/chitosan	PVA/PEO
R (MPa)	5 à 20	4 à 14
ϵ_r (%)	5 à 75	5 à 47
Taux de charge du polymère (%)	10 à 25	3 à 18

L'amidon comme la cellulose a également fait l'objet de nombreuses recherches pour des domaines d'applications variés. Delville et *al.* ont élaboré une nouvelle famille d'amidon réticulés par irradiation par UV. Selon le temps d'exposition aux rayons UV la densité de réticulation a pu être modulée. De plus la réticulation a permis une augmentation des propriétés mécaniques (augmentation de 70% du module d'Young et une diminution de 107% de l'élongation à la rupture). Leurs propriétés mécaniques ont légèrement été améliorées par rapport aux films non réticulés mais sont restées relativement faibles comparées aux thermodurcissables synthétiques obtenus par UV en raison du faible taux de réticulation (celui-ci pouvant être modulé par la durée d'irradiation). Du fait de la présence de nombreuses fonctions OH intrinsèques aux polysaccharides, la réticulation bien que relativement aisée donne lieu à des réseaux de type hydrogel. Ces matériaux novateurs pourraient donc trouver des applications dans le domaine de la vectorisation de médicaments⁴⁷.

Viera et *al.* ont quant à eux modifié l'amidon avec des fonctions uréthane en l'associant au 2-isocyanatoéthyl méthacrylate pour produire par irradiation UV des films réticulés permettant la vectorisation des médicaments ophtalmologiques. En effet, un bêta-bloquant (Timolol) et un anti-inflammatoire (Flurbiprofen de sodium) ont été adsorbés à la surface des films et leurs profils de diffusion ont été évalués. Les réseaux biocompatibles et biodégradables (en environ 6 semaines) ainsi obtenus ont démontré un profil de libération prolongée sur plusieurs semaines et un taux de charge de 4,7 mg par mg de polymère sec en faisant ainsi des candidats de choix pour les systèmes thérapeutiques de libération prolongée de médicaments ophtalmologiques⁴⁸.

Enfin, la surface de feuilles d'amidon de maïs a pu être modifiée par réticulation sous irradiation UV en utilisant le benzoate de sodium. Cette modification a permis l'augmentation significative de la résistance à l'humidité des feuilles ainsi qu'une diminution de leur hydrophilie élargissant leurs domaines d'applications⁴⁹.

Nous avons jusqu'ici détaillé tous les matériaux photoréticulés obtenus à partir de synthons dérivés du glucose mais il existe également des matériaux obtenus à partir de polymères dérivés des sucres. C'est le cas de l'acide polylactique (PLA) synthétisé par polycondensation de l'acide lactique obtenu par fermentation de l'amidon ou polymérisation par ouverture de cycle du lactide (**Figure 55**).

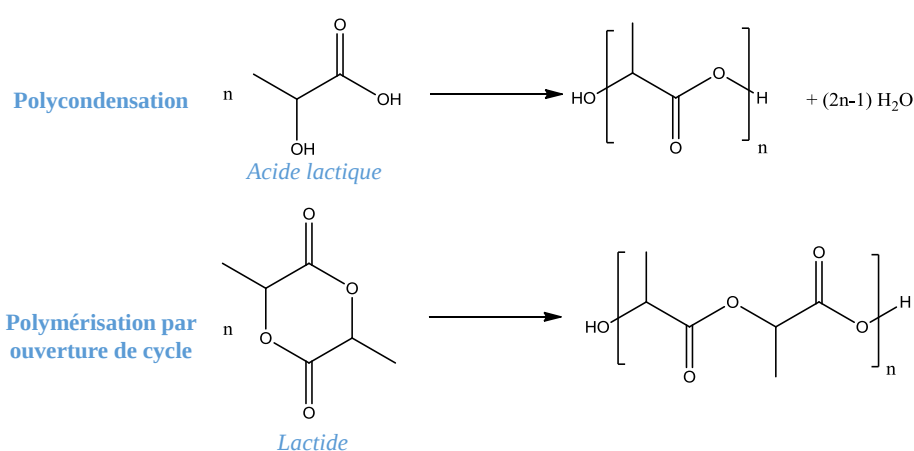


Figure 55: Synthèse de l'acide poly(lactique) (PLA).

Divers travaux ont été axés sur l'élaboration de matériaux élastomères à partir du copolymère caprolactone- acide lactique pour la vectorisation de médicaments ou la reconstruction tissulaire. Un film élastomère thermosensible et biodégradable utilisable dans le domaine de la vectorisation de médicaments a été synthétisé à partir d'un copolymère en étoile acrylaté à base de caprolactone et d'acide lactique sous irradiation UV en présence de DMPA⁸⁹.

De même, Amsden et *al.* ont synthétisé un élastomère photoréticulable biodégradable (après 12 semaines) et thermosensible à partir d'un pré-polymère en étoile de poly(ϵ -caprolactone-co-lactide) pour la vectorisation de médicaments dont les propriétés mécaniques peuvent être modulées par la masse molaire du pré-polymère ainsi que par sa concentration en solution⁸⁹. Ils ont ensuite étudié sa dégradation *in vivo* ainsi que l'évolution de ses propriétés mécaniques et ont démontré que deux types de dégradation avaient lieu en fonction de la masse molaire du pré-polymère : un mécanisme d'érosion de surface dans le cas des masses molaires faibles

(matériaux fortement réticulés) et un mécanisme d'érosion en masse dans le cas des matériaux faiblement réticulés⁹⁰.

Shen et *al.* se sont inspirés des travaux publiés en 2004 par Amsden et *al.* et ont quant à eux synthétisé une série de poly(ϵ -caprolactone-co-lactide-co-glycolide) diacrylates photopolymérisables de composition et de masse molaire différentes. Après une irradiation sous UV, des réseaux fortement réticulés transparents et caoutchouteux ont été obtenus. Les propriétés mécaniques ont pu être modulées en ajustant la composition et la masse molaire des polyesters diacrylatés. Ainsi, des réseaux rigides ou étirables ont été synthétisés et, pour une masse moléculaire élevée (9300 Da) et un faible pourcentage massique de ϵ -caprolactone (20%) une elongation de 176% et un module de Young de 1,66 MPa ont été mesurés alors que la diminution de la masse molaire (1800 Da) et l'augmentation du pourcentage massique de ϵ -caprolactone (60%) entraîne une diminution de la valeur de l'elongation (divisée par 8) tandis que le module est multiplié par 7. Ces matériaux possédant une excellente biocompatibilité avec les cellules musculaires et une vitesse de biodégradabilité contrôlable peuvent être conçus sur mesure pour s'adapter au mieux aux besoins spécifiques en particulier dans le cas de l'ingénierie des tissus mous⁵⁴.

La polymérisation radicalaire par réaction thiol-ène a également été utilisée afin d'obtenir des matériaux réticulés à partir d'acides naturels dérivés des sucres. En effet, l'acide glycolique a été polymérisé par ouverture de cycle avec le D,L-lactide et le POSS diol afin d'obtenir un copolymère POSS-PLGA diol. Un macromonomère a été obtenu après réaction avec le chlorure d'acryloyle en présence de triéthylamine et de benzène. Le réseau co-réseau POSS-PLGA a été synthétisé par réaction thiol-ène avec un tréthrathiol sous irradiation (**Figure 56**). Celui-ci pourrait être utilisable en tant que matériau biodégradable (après 14 semaines) et à mémoire de forme en modulant la cristallisation du groupement hydrophobe dans la chaîne de polymère⁵².

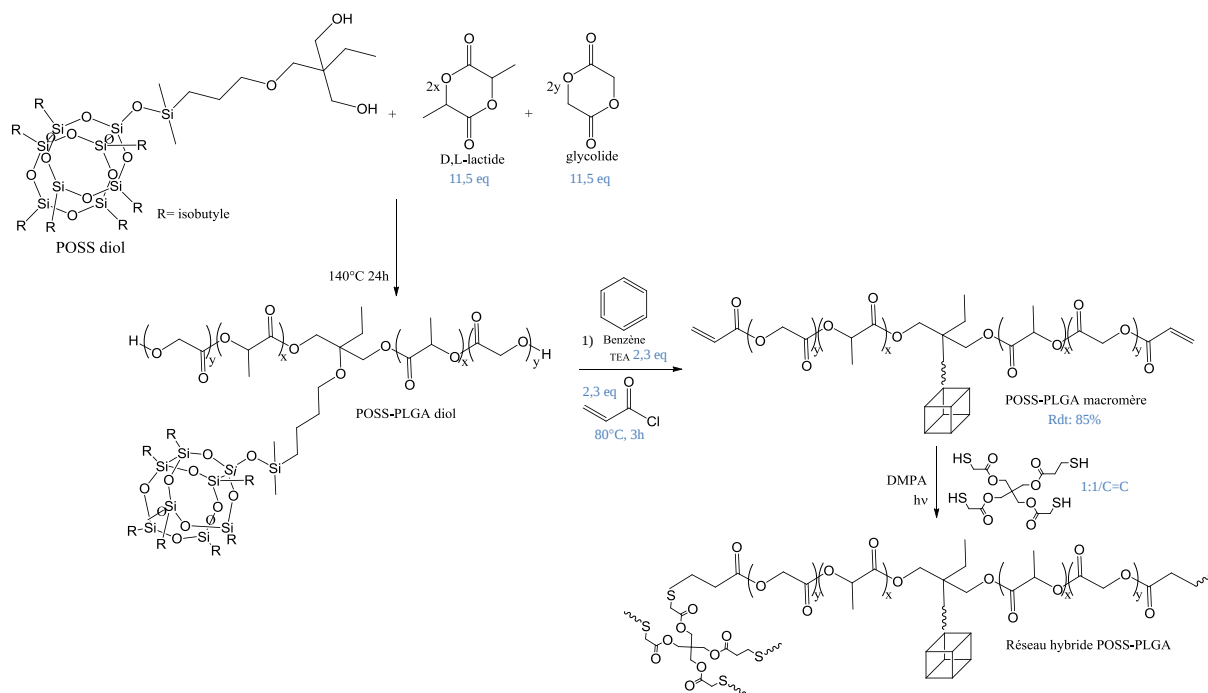


Figure 56: Formation des réseaux hybrides à base d'acide glycolique.

Seuls quelques travaux ont été dédiés à l'élaboration de matériaux à partir de monosaccharides fonctionnalisés par des dérivés allyliques. Ortiz et *al.* ont notamment décrit la synthèse de réseaux photoréticulés obtenus par l'association d'un polymère novateur issu du sucrose fonctionnalisé par des groupements allyliques avec des thiols multifonctionnels (tri ou tétra). Les matériaux ainsi obtenus ont démontré une bonne résistance thermique (supérieure à 230°C et légèrement supérieure dans le cas du tétrathiol). De plus, la forme étroite du pic de $\tan \delta$ a permis de démontrer l'homogénéité de ceux-ci et de déterminer la valeur de la T_v (environ 58°C). Ce mode de modification pourrait être appliqué dans la synthèse de divers biopolymères porteurs de fonctions thiol tels que les peptides ou acides aminés ou bien en modifiant d'autres molécules d'intérêt pour des applications dans le domaine du biomédical⁸⁰.

Différents synthons dérivés des polysaccharides ont aussi été (méth)acrylatés ou allylés afin de synthétiser des matériaux biosourcés par polymérisation radicalaire photoamorcée. Ainsi, une résine diméthacrylique a été synthétisée par Lukaszczyk et *al.* à partir de l'isosorbide (**Figure 57**). L'introduction de cycles tétrahydrofurane dans le réseau induit une bonne résistance thermique ainsi que d'excellentes propriétés mécaniques (module de flexion compris entre 2,6

et 5,557 GPa) égalant celles obtenues pour les matériaux commerciaux équivalents. Cette résine pourrait donc être utilisée dans les systèmes de reconstitution dentaire⁹².

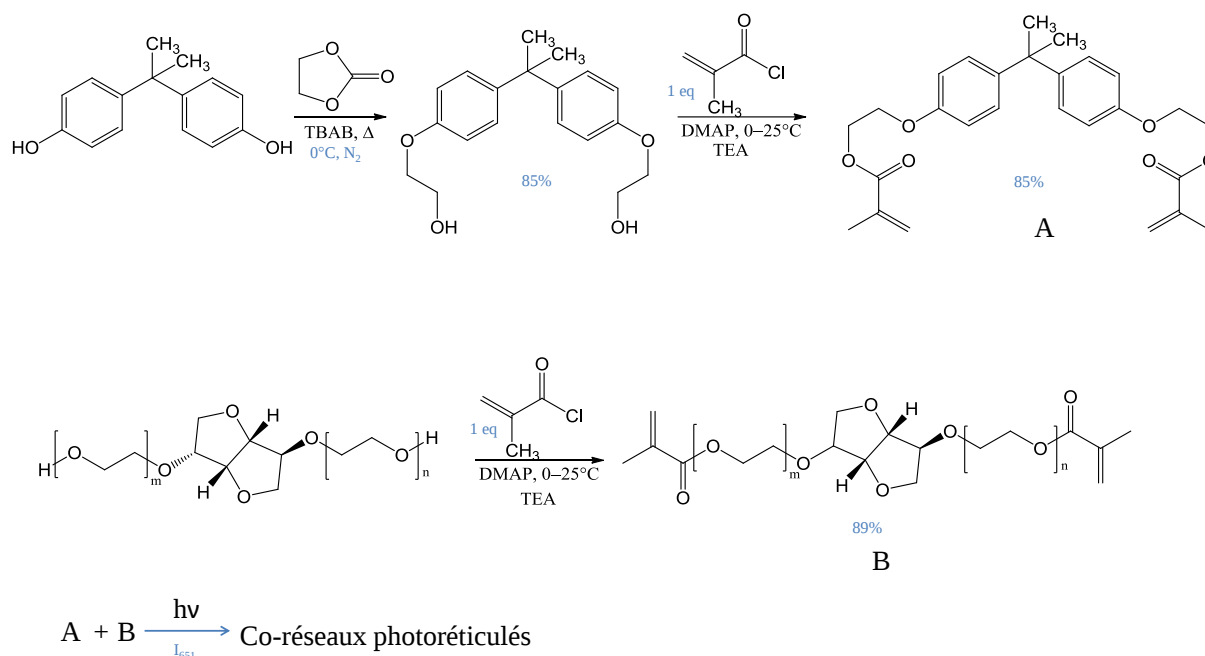


Figure 57: Formation des réseaux hybrides à base d'isosorbide diméthacrylique.

De même, des revêtements ont été élaborés à partir de cet hétérocycle associé à différents monomères de dérivés (méth)acrylatés (ISDA) possédants des segments de poly(caprolactone) (CAPDA) ou poly(tétraméthylène glycol) (PEGDA). L'homopolymérisation de l'isosorbide modifié a permis la formation de réseaux cassants et rigides ne pouvant pas être utilisés comme revêtement. En revanche, associé à la CAPDA ou au PEGDA, des revêtements dotés de propriétés thermiques et mécaniques élevées ont été obtenus. De plus, dans le cas des revêtements ISDA-PEGDA une meilleure affinité à l'eau est également à noter⁹⁹.

L'isosorbide a également été fonctionnalisé avec des composés allyliques (bromure d'allyle) (**Figure 58**) afin d'obtenir des réseaux photoréticulés. En effet des matériaux réticulés et souples possédant des propriétés antibactériennes ont été synthétisés par Lorenzini et *al.* grâce à une réaction de thiol-ène photoamorcée en présence d'un trithiol et d'héxafluoroantimonate d'argent (AgSbF_6) permettant d'obtenir des films contenant des nanoparticules (NPs) d'argent générés *in situ* lors de l'irradiation par réduction du sel d'argent. La répartition homogène des NPs à la surface et à l'intérieur du matériau permet d'induire une réduction de 98% de

l'adhésion des bactéries de type *S. aureus* et *E. coli*. De plus, les capacités d'adhésion et de prolifération des cellules fibroblastiques de type NIH 3T3 ne sont pas modifiées par la présence des NPs ce qui rend ces matériaux potentiellement utilisables dans le domaine biomédical¹⁰⁰.

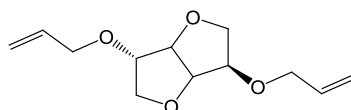


Figure 58: Formule de l'isosorbide fonctionnalisé avec le bromure d'allyle.

L'influence d'un post-traitement thermique a été étudiée par Kristufek et *al.*⁵³ sur des formulations à base d'isosorbide carbonaté et de trithiol. Après une étape d'irradiation de 1 min, la post-réticulation a été suivie durant une période de 0 à 24h. L'étude des propriétés mécaniques de ces matériaux a démontré que la post-réticulation par voie thermique n'était pas nécessaire puisqu'elle induisait très peu d'influence sur les propriétés (mis à part une augmentation du module de conservation à 25°C de 79 à 550 MPa pour 0 et 18h de post-réticulation respectivement). Ces matériaux à haute stabilité thermique (supérieure à 320°C) ont démontré une T_v comprise entre 14 et 18°C et un module d'Young de 6 à 7.1 MPa.

Un autre hétérocycle issu du glucose fonctionnalisé par l'anhydride méthacrylique a été réticulé par des rayons issus de diodes électroluminescentes (LED) pour synthétiser un matériau biosourcé alternatif au bisphenol A. Ses propriétés de dureté sont voisines de celles du Bis-GMA et les matériaux ont démontré de meilleures propriétés d'adhésion et de résistance à la traction de cisaillement (8 MPa)⁴¹.

Zhang et *al.* ont utilisé la réaction thiol-ène photoamorcée pour synthétiser une cuticule de plante biomimétique à partir de l'acide poly(ricinoléique) hyperbranché (HBPRA) et de films de cellulose en présence de trithiol et de DMPA. Des analyses par micrographie électronique à balayage ont démontré que ce film transparent était composé de 2 couches parfaitement liées entre elles : une couche hydrophile côté cellulose (angle de contact égale à 44°) et une couche hydrophobe côté HBPRA avec un angle de contact égale à 91°. De plus, les bonnes propriétés mécaniques (élongation à la rupture égale à 44% et une contrainte à la rupture avoisinant les 29 MPa) obtenues laissent envisager que ce matériau pourrait être utilisé pour l'emballage ou comme matériau d'affichage⁷⁸.

I.5.3 Matériaux photoréticulés à partir du caoutchouc naturel et de terpénoïdes

Des surfaces de polymères aux propriétés d'antifouling ont également été obtenues par polymérisation radicalaire de précurseurs du cis-1,4-oligoisoprène dicarbonaté (obtenu par dégradation du cis-1,4-oligoisoprène) (CTPI). Le premier précurseur est diacrylaté (diacrylate PI), le deuxième est également diacrylaté et porteur de trois fonctions ammoniums (cations diacrylate PI) et enfin le troisième est un monoacrylate possédant une fonction ammonium (cations acrylate PI) (**Figure 59**). Selon la proportion de chaque précurseur divers revêtements ont été élaborés et leurs propriétés antifouling ont été évaluées contre différentes souches bactériennes, fongiques et de micro ou macroalgues. D'excellents résultats ont été obtenus quel que soit le revêtement. Comme attendu, la présence d'ammonium quaternaire renforce de manière significative leurs activités antisalissure⁶⁵.

D'autres travaux ont été consacrés à la synthèse de réseaux tridimensionnels par photopolymérisation de groupements acrylates greffés (par ouverture de cycle en présence d'acide acrylique) sur les chaînes de caoutchouc naturel époxydées. Ceux-ci pourraient avoir des applications dans le domaine de l'imagerie⁶⁶.

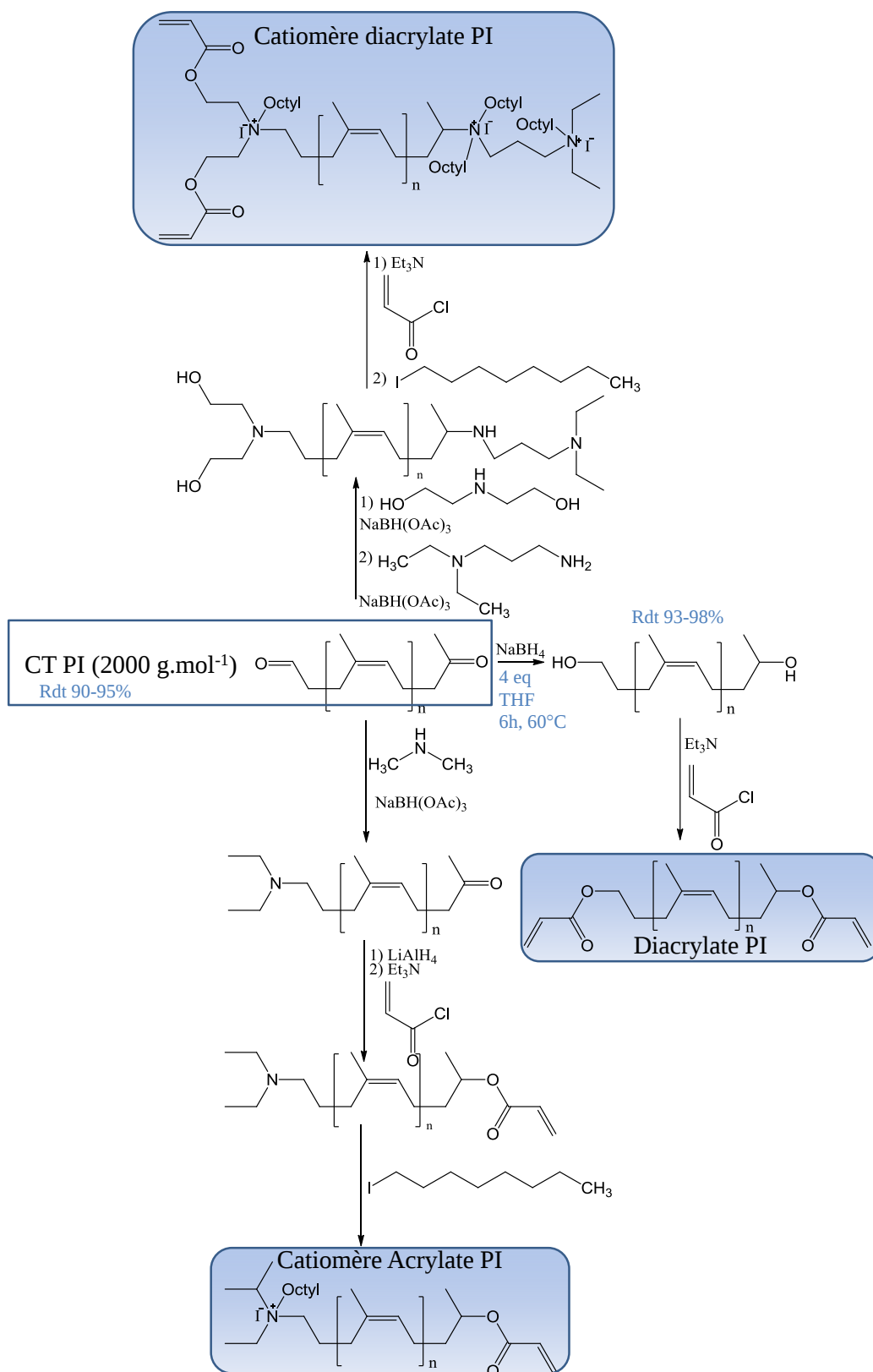


Figure 59: Synthèse des différents oligoisoprènes à partir du carbonyltélechelique poly (cis-1,4-isoprène) (CTPI).

Le limonène, monoterpène dérivé et présent en grande quantité dans les agrumes est largement utilisé dans la parfumerie, les industries cosmétique, agroalimentaire et pharmaceutique. Il est également utilisé comme solvant ou insecticide et possède des propriétés anticancéreuses. De plus, cette molécule chirale possède deux doubles liaisons carbonées de réactivité différente pouvant être mobilisées dans des réactions thiol-ène. Finalement, la présence d'un cycle cycloaliphatique permet également l'introduction d'une rigidité.

Ainsi, des réseaux réticulés biosourcés ont été récemment synthétisés par Claudino et *al.* en associant cette molécule au trithiol en présence de DMPA (**Figure 60**)¹⁰¹. D'autres matériaux élaborés en utilisant un tétrathiol et leurs propriétés thermo-mécaniques ont été étudiées. Selon la composition le module de conservation dans le plateau caoutchoutique varie entre 0,4 et 8,9 MPa, la largeur du pic $\tan \delta$ entre 14,4 et 33,3 °C tandis que sa hauteur est comprise entre 0,73 et 2,10 et la T_v entre -2 et 12,4°C¹⁰².

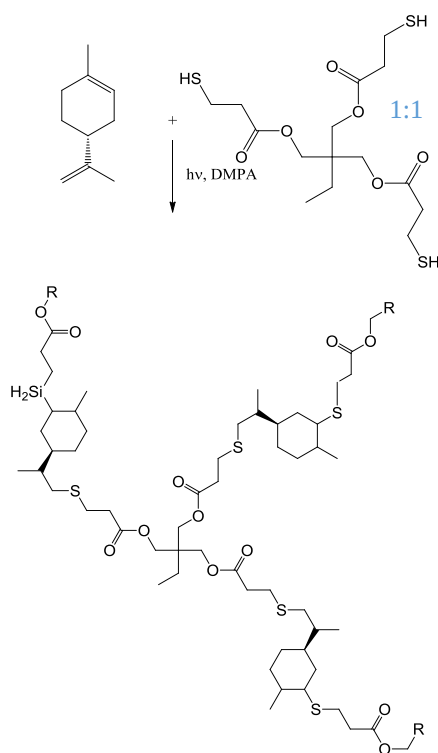


Figure 60: Réseaux réticulés à base de limonène.

I.5.4 Matériaux photoréticulés à partir des composés phénoliques

Divers composés phénoliques ont été (méth)acrylatés ou allylés afin d'obtenir des réseaux par photopolymérisation radicalaire. Ainsi, des réseaux biosourcés pouvant être utilisés comme revêtements ou adhésifs ont également été synthétisés par une réaction thiol-ène photoamorcée à partir de deux acides phénoliques naturels : l'acide salicylique et l'acide 4-hydroxybenzoïque allylés et du tétrathiol en présence de DMPA. Les matériaux présentèrent une haute résistance thermique (340 °C) et de bonnes propriétés mécaniques⁸⁴.

D'autres co-réseaux de polymères ont été synthétisés à partir de dérivés allyliques ou acrylates de l'acide gallique et du pyrogallol (**Figure 61**)¹⁰³. Les performances des réseaux obtenus à partir des dérivés acrylates sont supérieures à celles obtenues pour les composés allyliques (augmentation de $\tan \delta$ de -7,1 à 48,3°C et de la température de dégradation thermique à 5% de 315 à 371°C).

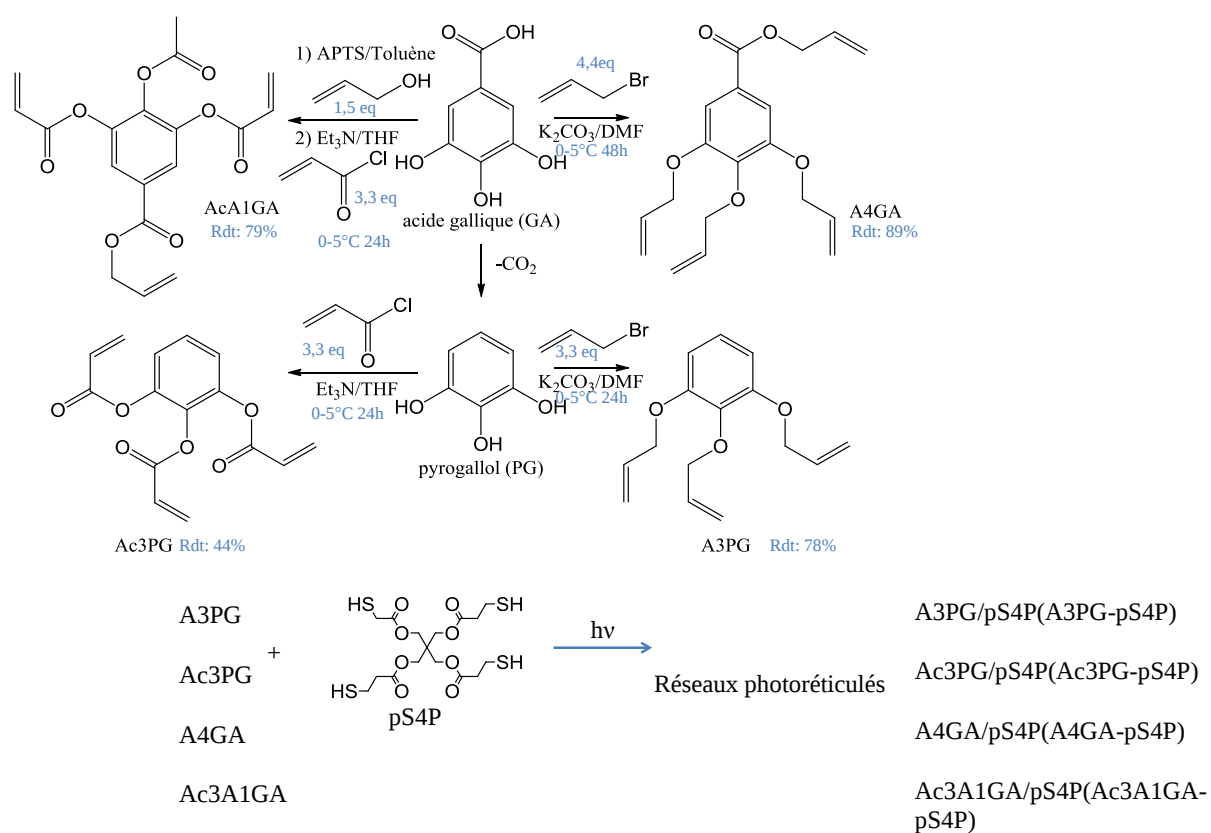


Figure 61: Synthèse des dérivés de l'acide gallique et des réseaux hybrides.

Enfin, l'eugénol, a été fonctionnalisé en utilisant le bromure d'allyle afin d'obtenir des dérivés di ou trifonctionnels. Ceux-ci ont par la suite été associés à différents thiols (tétra ou tri fonctionnels) afin d'obtenir par réaction thiol-ène photoamorcée des réseaux transparents dont les propriétés thermique et d'élongation varient avec la nature et le nombre de groupements allyliques et thiols (**Figure 62**)¹⁰⁴.

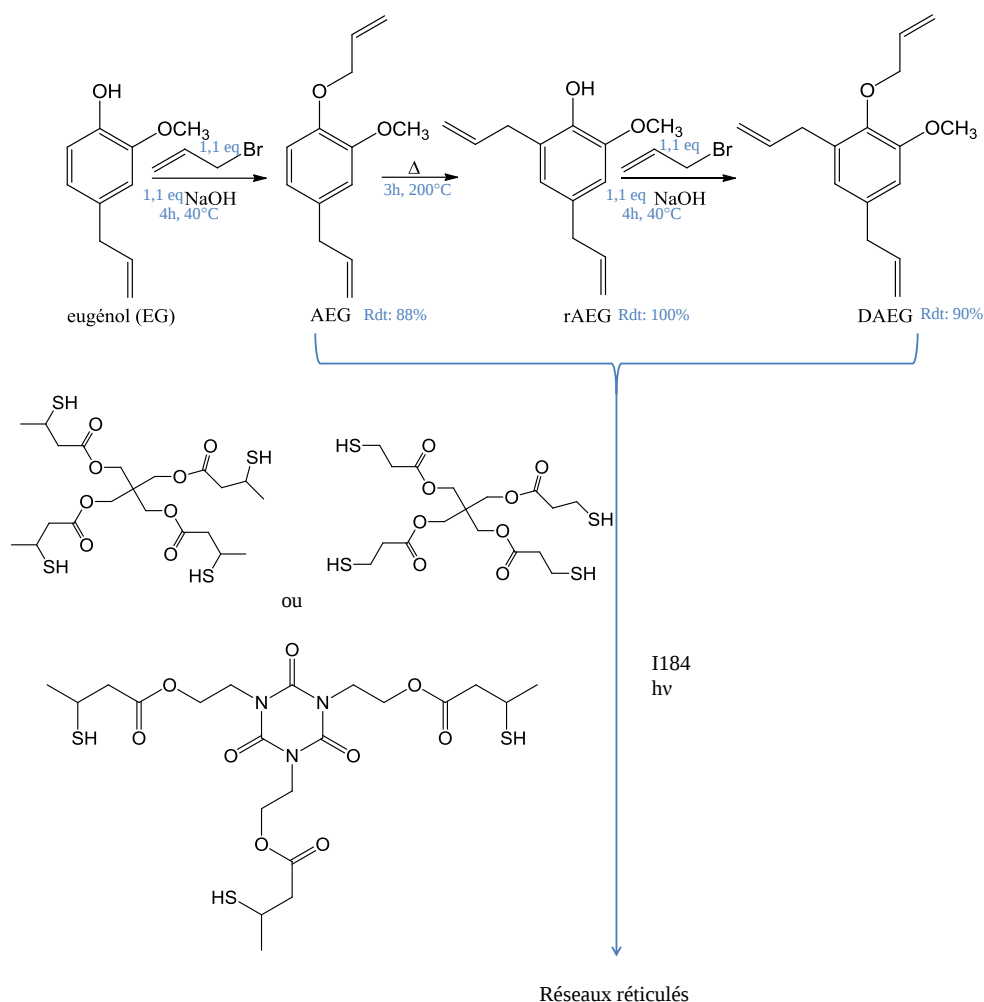


Figure 62: Réseaux réticulés à base de dérivés de l'eugénol.

I.5.5 Matériaux photoréticulés à partir d'autres macromolécules biosourcées

Divers matériaux ont été synthétisés à partir de poly(hydroxyalcanoates) (PHAs) fonctionnalisés. Ainsi, Ishida et *al.* ont synthétisé des nano composites à mémoire de forme à partir du poly(3-hydroxyalcanoate-co-3-hydroxyundécène) (PHOU) greffé avec des oligomères polyédriques de silsesquioxane (POSS) (**Figure 63**) par réaction thiol-ène

photoamorcée. Cette nanostructure hybride a été caractérisée par sa propriété à changer de configuration en raison de l'agrégation réversible des unités de POSS covalentement liées au réseau de PHOU. De plus ces co-réseaux présentent des propriétés d'élastomère souple¹⁰⁵.

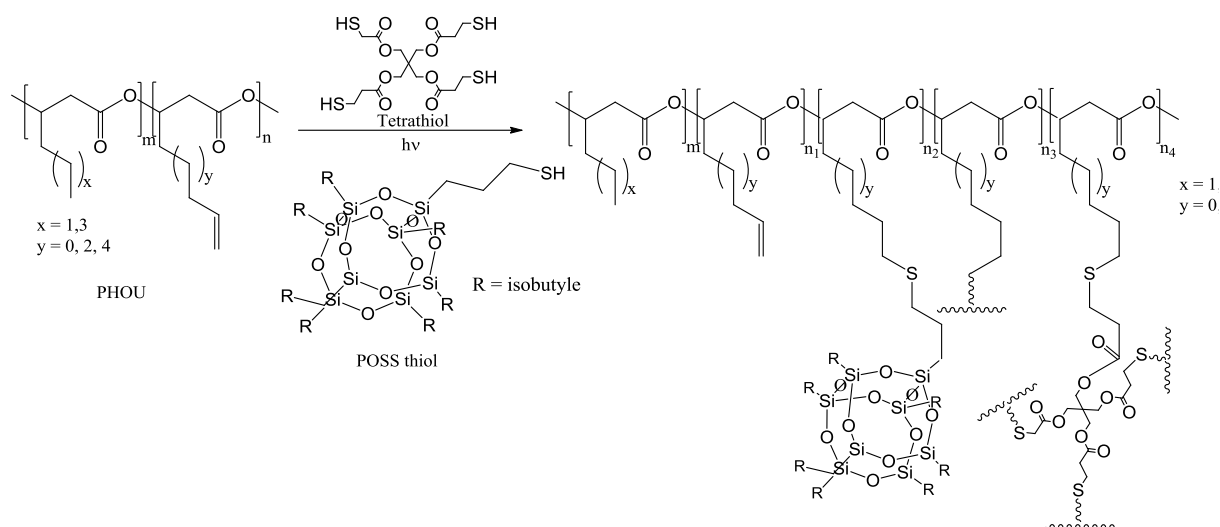


Figure 63: Formation des réseaux hybrides PHOU-POSS.

Un copolymère de poly[(R)-3-hydroxybutyrate-co-(R)-3-hydroxy-10-undécénoate] (PHBU) a également été fonctionnalisé avec des thiols (alcool, acide ou molécule tétra fonctionnelle) afin d'obtenir par photoamorçage une réticulation des copolymères permettant d'augmenter les propriétés physiques et d'élargir la gamme d'applications potentielles des PHAs. Les propriétés mécaniques (module de Young et contrainte à la rupture) de ces nouveaux copolymères réticulés augmentent, alors que l'hydrophobie décroît grâce à l'introduction de groupements fonctionnels polaires¹⁰⁶.

Enfin, Condat et *al.* ont modifié par réaction de thiol-ène photoamorcée le poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalérate) (PHBHV) par un procédé de grafting-from en milieu aqueux afin de lier covalentement du fluor ou des groupements polyéthylène glycol (PEG) thiolés pour lutter contre les infections nosocomiales (**Figure 64**). Une activité antibactérienne atteignant 98% contre *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) a été obtenue dans le cas du PHBHV greffé avec des groupements PEG. De plus, ces surfaces ont démontré qu'elles permettaient l'adhésion et la prolifération des fibroblastes humains et ce, sans cytotoxicité¹⁰⁷.

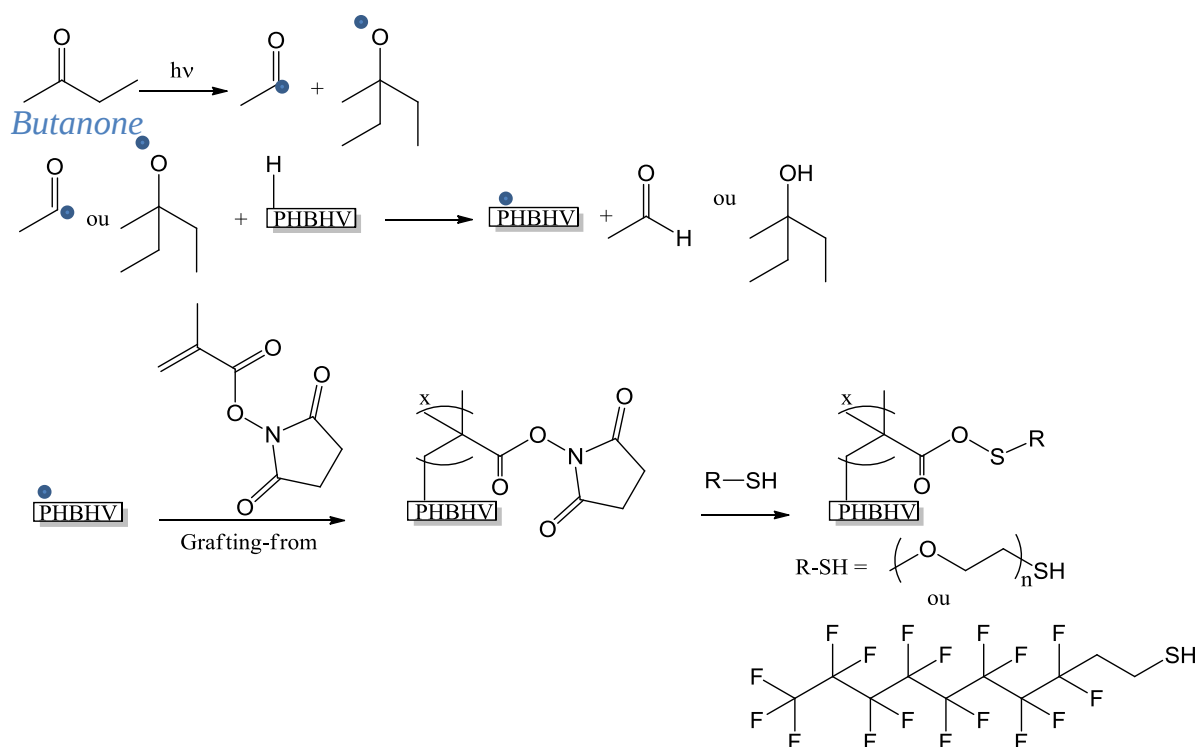


Figure 64: Schéma du photografting des dérivés thiolés sur le PHBHV.

I.6 Synthèse des matériaux biosourcés par polymérisation cationique photoinduite

I.6.1 Résines époxydes photoréticulées à partir des huiles et acides ou alcools gras dérivés

La polymérisation cationique des huiles époxydées puisque peu sensible à l'oxygène, apparaît particulièrement intéressante et ce dans de nombreux domaines tels que les adhésifs ou les revêtements. Ainsi, différents auteurs ont modifié l'huile de soja avec des fonctions époxyde afin d'obtenir par polymérisation cationique des matériaux réticulés. Shibata et *al.* ont synthétisé des nanocomposites biosourcés en associant cette huile époxydée (ESO) à des nanofibres d'acide hydroxystéarique (HSA) (**Figure 65**) en présence d'Irgacure 250. Ils ont ainsi démontré que l'introduction d'une quantité croissante d'HSA entraîne un renforcement des propriétés mécanique et thermique des composites ainsi obtenus¹⁰⁸ comme nous l'avons vu pour les dérivés à base de méthacrylate.

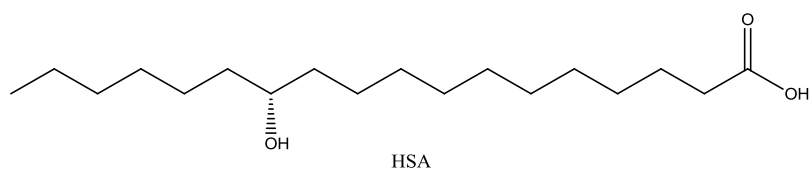


Figure 65: Formule chimique de l'acide hydroxystéarique (HSA).

De même, des matériaux réticulés utilisables comme revêtements d'origine biosourcée ont été obtenus en faisant réagir cette même huile époxydée (ESO) en présence de l'huile de soja dihydroxylée (DSO) (**Figure 66**). L'introduction du carboxylate de 3,4-époxydecyclohexylméthyl-3,4-époxydecyclohexane (ECHM) jouant le rôle de plastifiant, a permis une augmentation de la flexibilité des films⁷³.

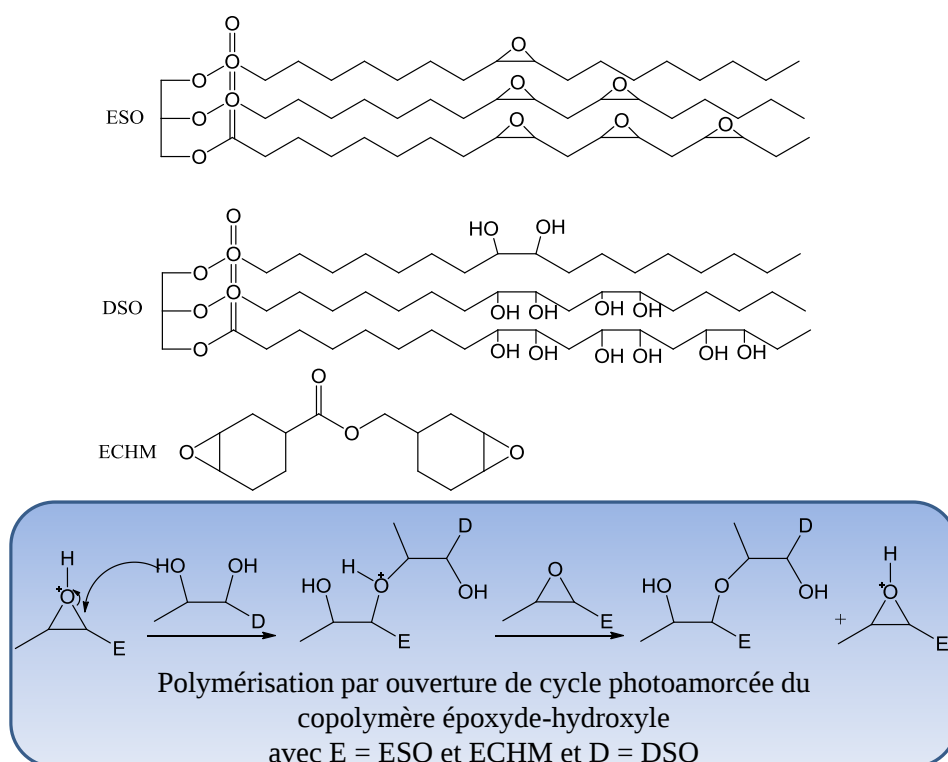


Figure 66: Formation des réseaux à base d'huile de soja époxydée et hydroxylée par polymérisation cationique photoinduite.

L'huile de lin a également été fonctionnalisée par des groupements époxydes⁷⁵ (**Figure 67**) ou norbornyle⁶⁸ (**Figure 68**). Ainsi, Chen et *al.* ont photopolymérisé de l'huile de lin modifiée par des groupements norbornène qui sont ensuite époxydés afin d'obtenir en présence de dérivés

divinyléther des revêtements biosourcés. Ils ont démontré que la nature mais aussi la concentration des composés de divinyléther avaient une influence sur la vitesse de réticulation.

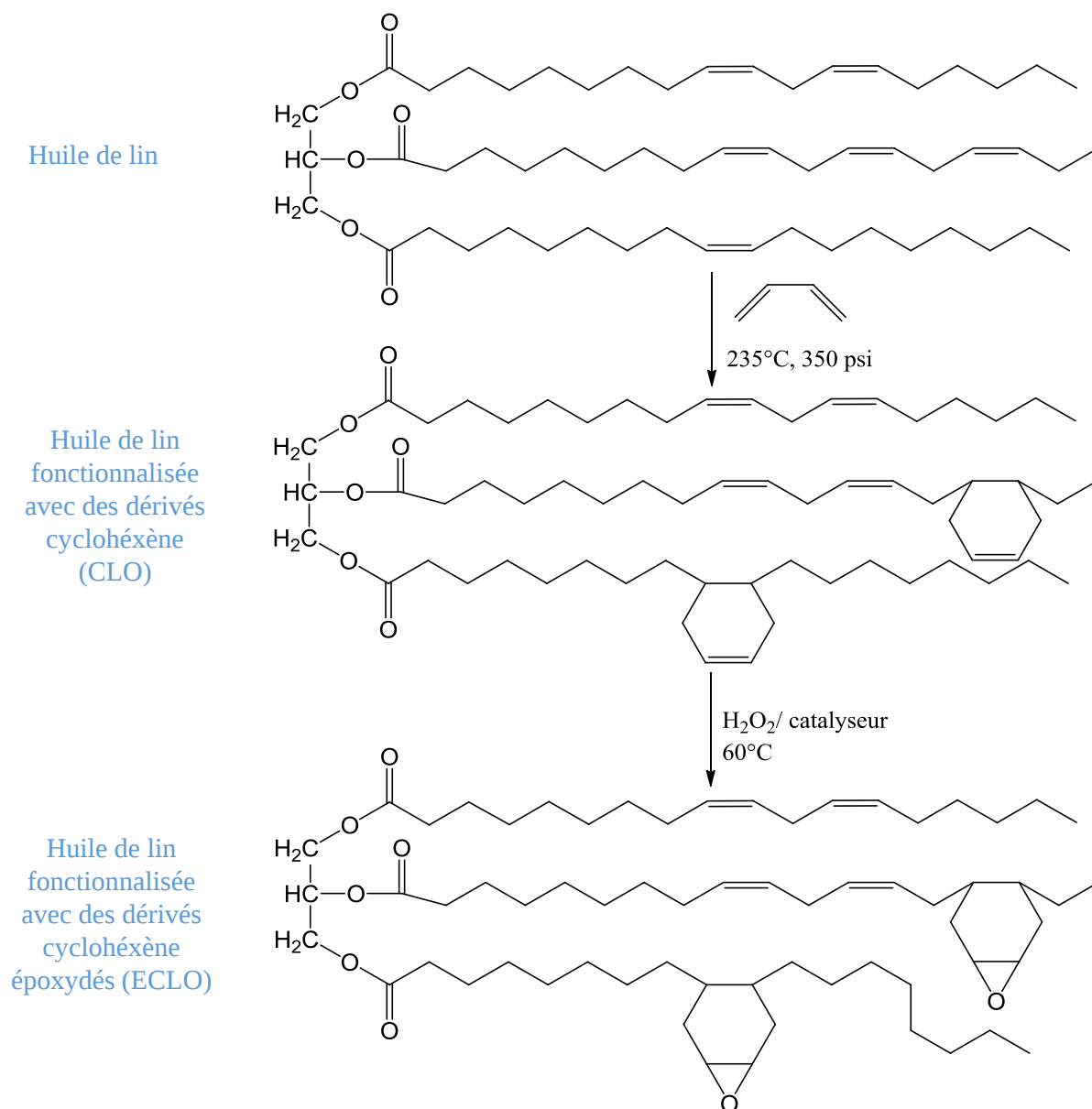


Figure 67: Fonctionnalisation de l'huile de lin avec les groupements cyclohexène (CLO) puis avec les groupements époxyde (ECLO).

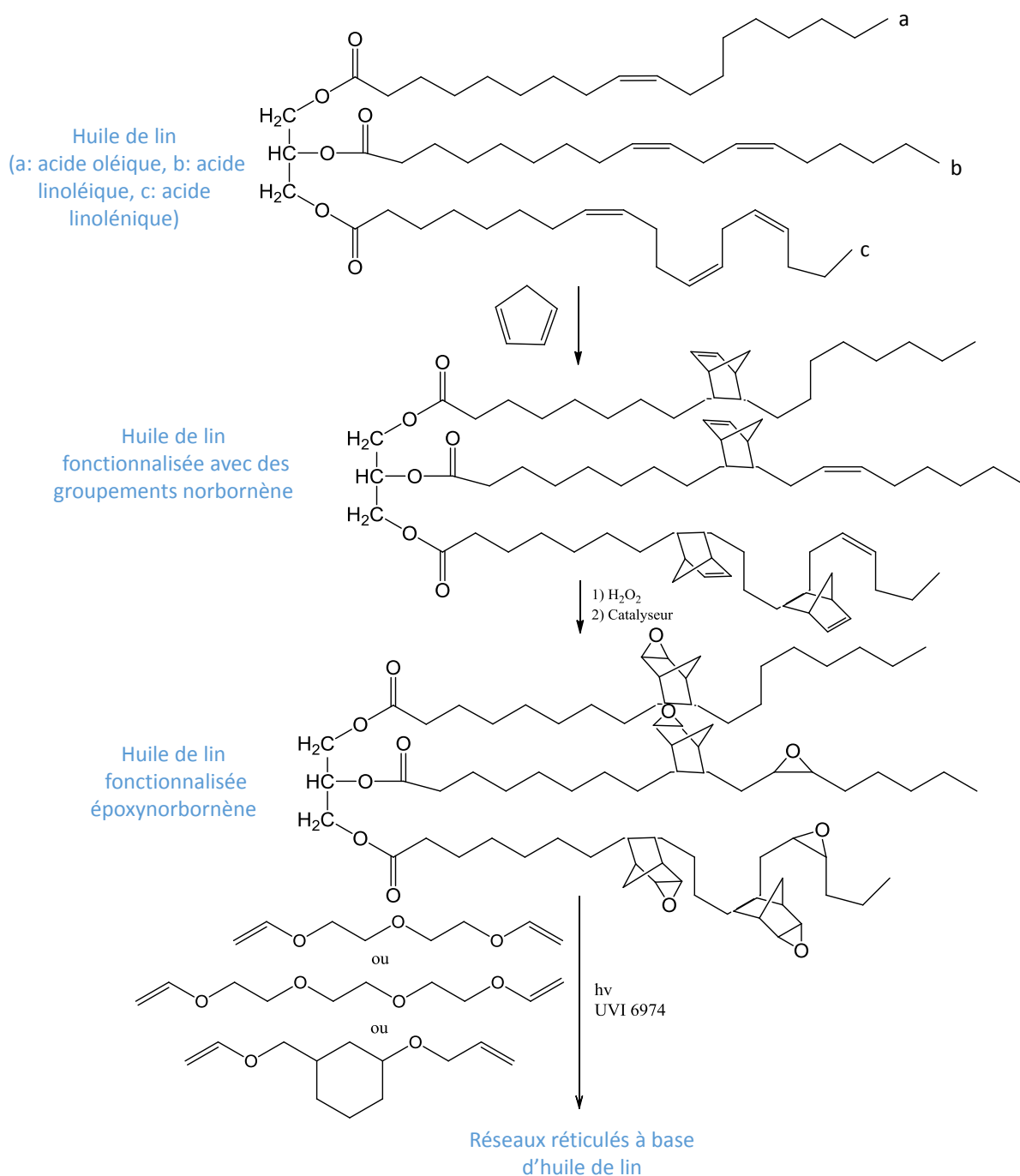


Figure 68: Formation des revêtements à partir d'huile de lin fonctionnalisée époxynorbornène.

D'autres revêtements à base d'huile de lin époxydée (ESO) associée à différents réactifs (**Figure 69**) ont également été élaborés par Remeikyte et al.⁶⁹. De même, des revêtements transparents obtenus à partir de l'huile de graines de coton époxydée puis fonctionnalisée de manière réversible avec un dérivé de coumarin ont été synthétisés¹⁰⁹ ainsi que des revêtements antibactériens à base de curcumine¹¹⁰.

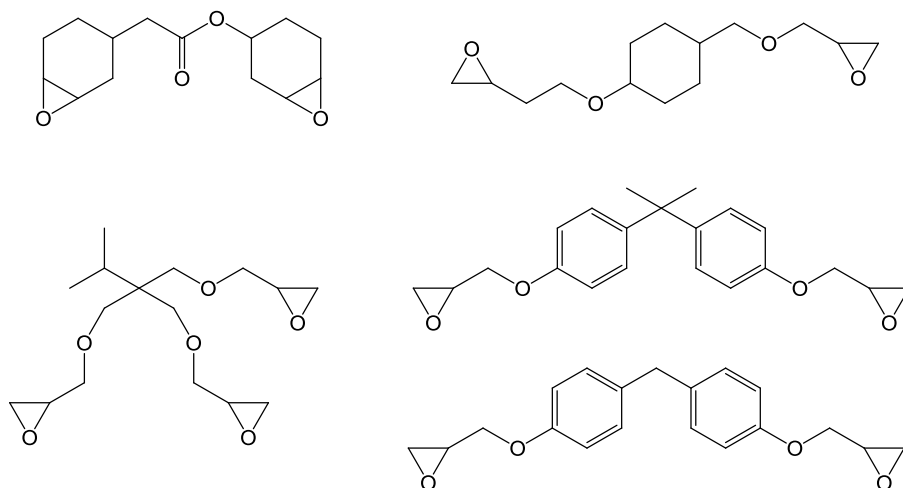


Figure 69: Formules des différents réactifs multiépoxydés.

Enfin, des composites à base d'huile de lin époxydée (ESO) associée au poly(chlorure) de vinyle (PVC) (vinyl plastisol) et de bois ont été synthétisés par Torres-Giner et *al.* afin d'augmenter l'adhésion interfaciale entre la surface du bois et les dérivés de vinylplastisol (Figure 70).

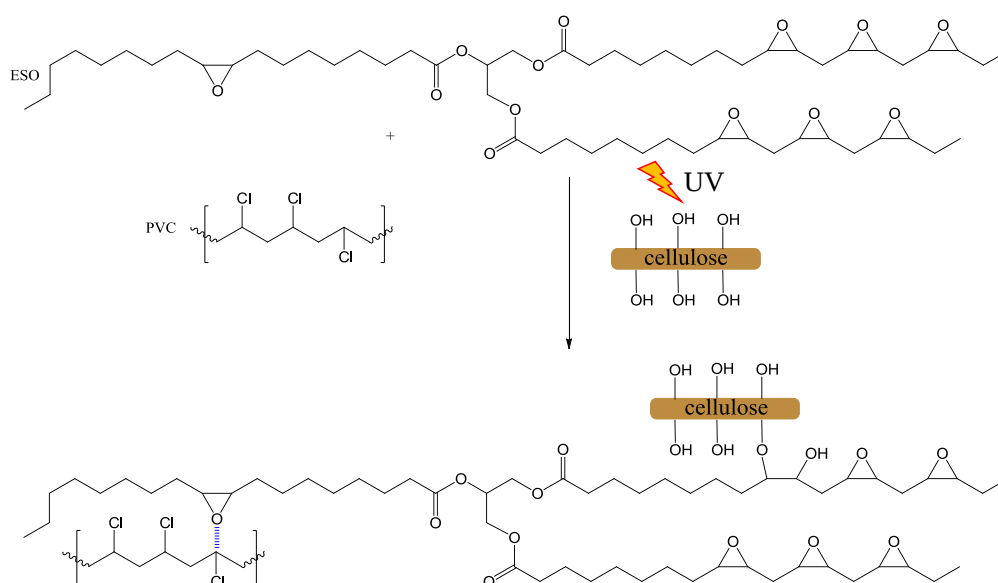


Figure 70: Formation des composites bois/vinyl plastisol par photoactivation UV.

Même si la fonctionnalisation par époxydation porte essentiellement sur les huiles végétales, quelques travaux concernent la fonctionnalisation de leurs dérivés (acides ou alcools gras).

Ainsi, des réseaux transparents ont été synthétisés à partir d'un dérivé époxydé de l'acide oléique (acide gras dérivé de l'huile d'olive) associé à divers diols aliphatiques (1,3-propanediol au 1,12-dodecanediol) par polymérisation cationique photoamorcée (**Figure 71**). Les différentes architectures et compositions des diols ont donné lieu à une grande variété de nouveaux matériaux de polymères issus des ressources renouvelables⁷⁰.

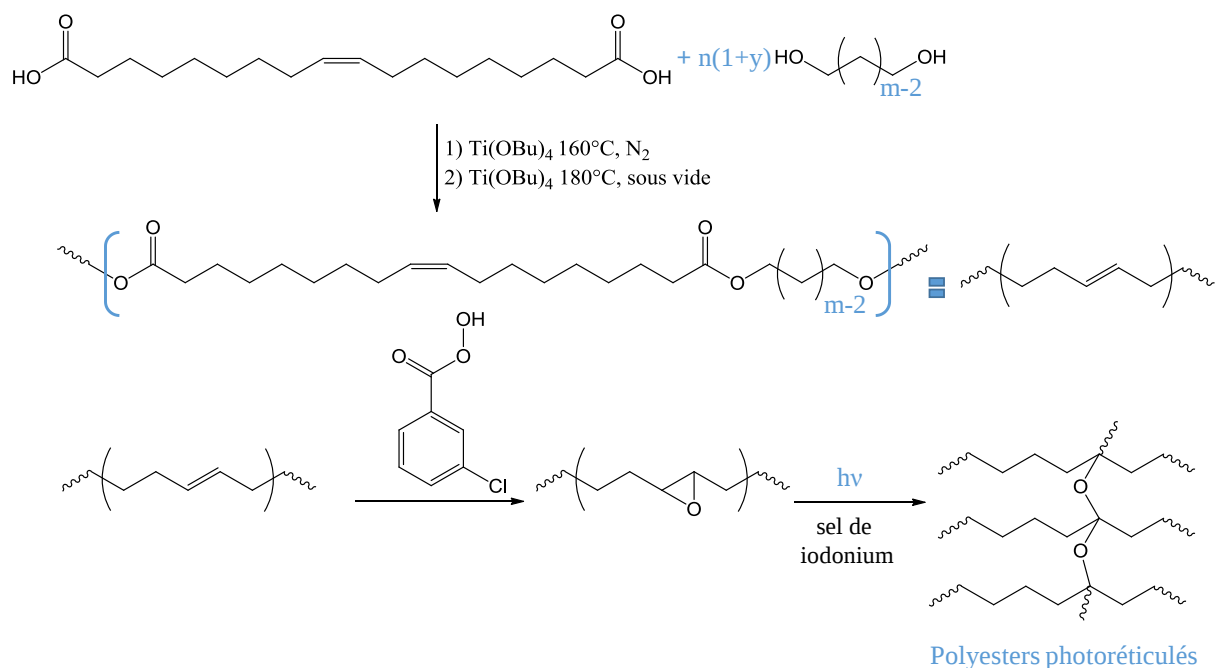


Figure 71: Formation des polyesters photoréticulés à partir de l'acide oléique.

D'autres réseaux tridimensionnels ont aussi été synthétisés à partir de dérivés de l'acide vernolique par polymérisation cationique photoamorcée⁷¹. L'acide vernolique présente la particularité d'avoir une double liaison de configuration Z en C₉-C₁₀ et n fonction époxyde (C₁₂-13-O).

I.6.2 Matériaux photoréticulés à partir des sucres (polysaccharides) et synthons dérivés fonctionnalisés par des époxydes

Différents dérivés du glucose ont également été fonctionnalisés avec des groupements époxydes afin d'obtenir des réseaux réticulés par photopolymérisation. En effet, Kasetaita et *al.* ont synthétisé des polymères réticulés à partir de l'éther diglycidyle de glycérol associée à

différents diluants (**Figure 69**). Ces matériaux, biodégradables en milieu naturel, ont montré de bonnes propriétés mécaniques et thermiques. Il a été démontré que leurs biorésistances au développement des champignons était dépendante à la fois de la structure des polymères mais aussi de l'activité physiologique des souches¹¹¹.

Des revêtements ont également été synthétisés par polymérisation cationique dans le visible puis spin-coating à partir de glycérol et de quercétine utilisée comme agent antibactérien et sensibilisateur¹¹².

Lorenzini *et al.* ont complété leurs travaux de 2015⁷⁹ sur le dérivé allylique de l'isosorbide en le fonctionnalisant avec des fonctions époxyde par réaction avec un peracide. Des réseaux partiellement biodégradables enzymatiquement ont été formés en présence d'oligomères de PHBHV diépoxydés et de l'irgacure 250. Ils ont démontré que les réseaux ainsi obtenus étaient fortement réticulés (densité de réticulation comprise entre 9000 et 9100 mol.cm⁻³) et que l'introduction des chaînes de PHAs permettait une augmentation de leurs flexibilités (**Figure 72**).¹¹³

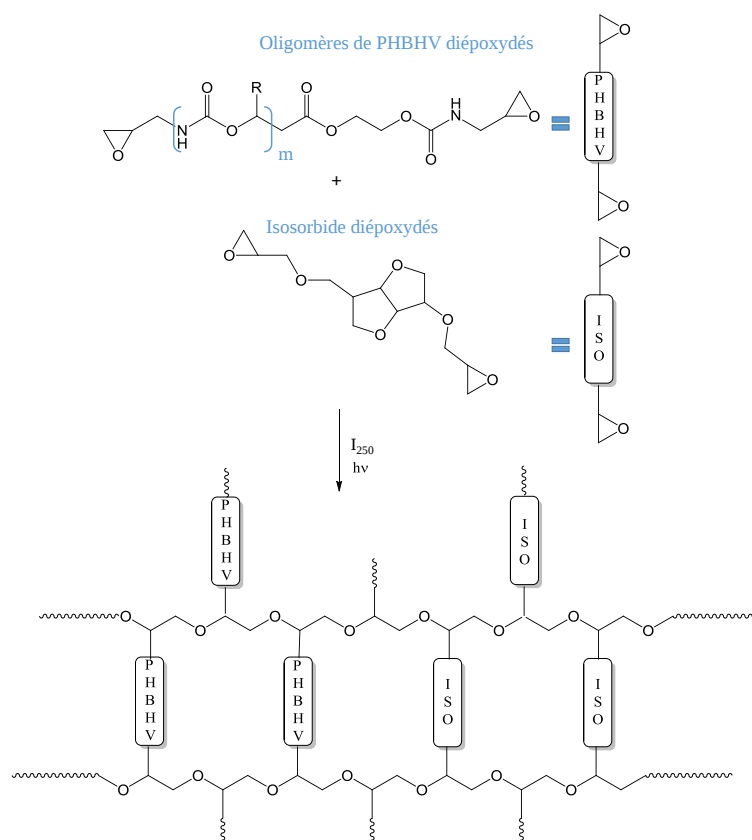


Figure 72: Formation des réseaux isosorbide/PHBHV par polymérisation cationique.

I.6.3 Matériaux à partir du caoutchouc naturel et de terpénoïdes époxydés

Des particules de caoutchouc naturel ont été recouvertes d'un revêtement à base de carboxylate de 3,4-époxycyclohexylméthyl-3',4'-époxycyclohexane (ECC) et de méthacrylate de glycidyle (GMA)⁷⁶ et photopolymérisés donnant lieu à la formation de co-réseaux (**Figure 73**).

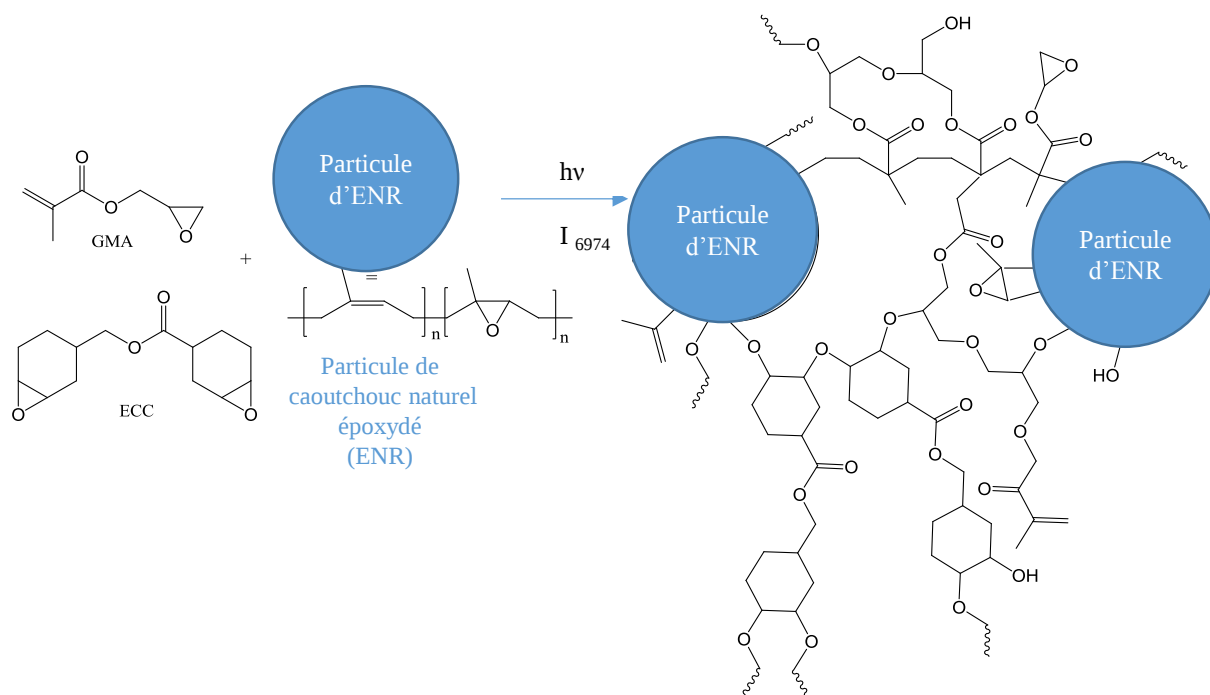


Figure 73: Formation des co-réseaux ENR/GMA/ECC.

A partir du dérivé CTPI déjà présenté dans la partie sur les réseaux obtenus à partir du caoutchouc naturel et de terpénoïdes, les auteurs ont préparés différents précurseurs, l'un portant une fonction ammonium IV terminale et l'autre deux fonctions alcool terminales. Ces deux précurseurs ont ensuite été époxydés partiellement, ce qui a permis l'élaboration d'une série de revêtements en fonction du taux d'époxydation et de la nature des extrémités du précurseurs (Catiomonomère PI époxydé) et (HTPI époxydé) (**Figure 74**). Si l'hydrophobicité de surface est comme attendue, inférieure aux dérivés obtenus par polymérisation radicalaire des précurseurs insaturés fonctionnalisés ammonium IV, ils n'ont pas montré d'activité contre l'adhésion des spores ou des gamètes de microalgues ni contre la croissance des gamètes et des champignons. Seul le dérivé catiomonomère PI époxydé a démontré une meilleure propriété d'antifouling⁶⁵.

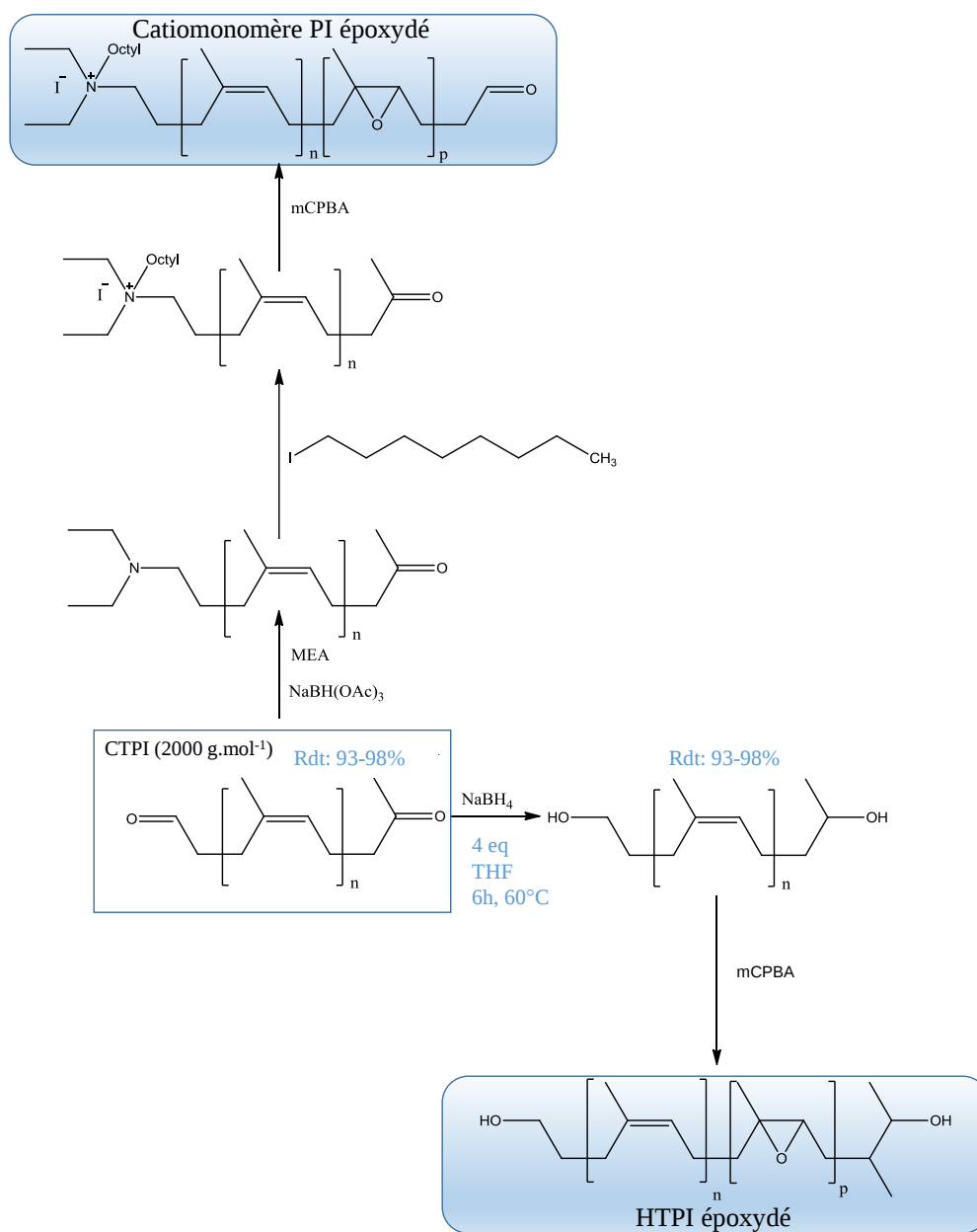


Figure 74: Formation des oligoisoprènes époxydés à partir du caoutchouc naturel dicarbonylé (CTPI).

I.7 Autres voies de synthèse pour la synthèse de matériaux photoinduits

I.7.1 Matériaux photo-induits à partir des sucres (polysaccharides) et synthons dérivés

Bien que les polymérisations par voie radicalaire ou cationique soient largement utilisées pour synthétiser des matériaux par photoréticulation, quelques travaux portent sur des voies de synthèse différentes. Nagata *et al.* ont préparé par cycloaddition [2+2] en l'absence de photoamorceur un réseau à base de poly(lactide)dihydroxylé fonctionnalisé par des groupements cinnamates (**Figure 75**). Malheureusement, aucune augmentation des propriétés mécaniques des réseaux ainsi synthétisés n'a été mesurée¹¹⁴.

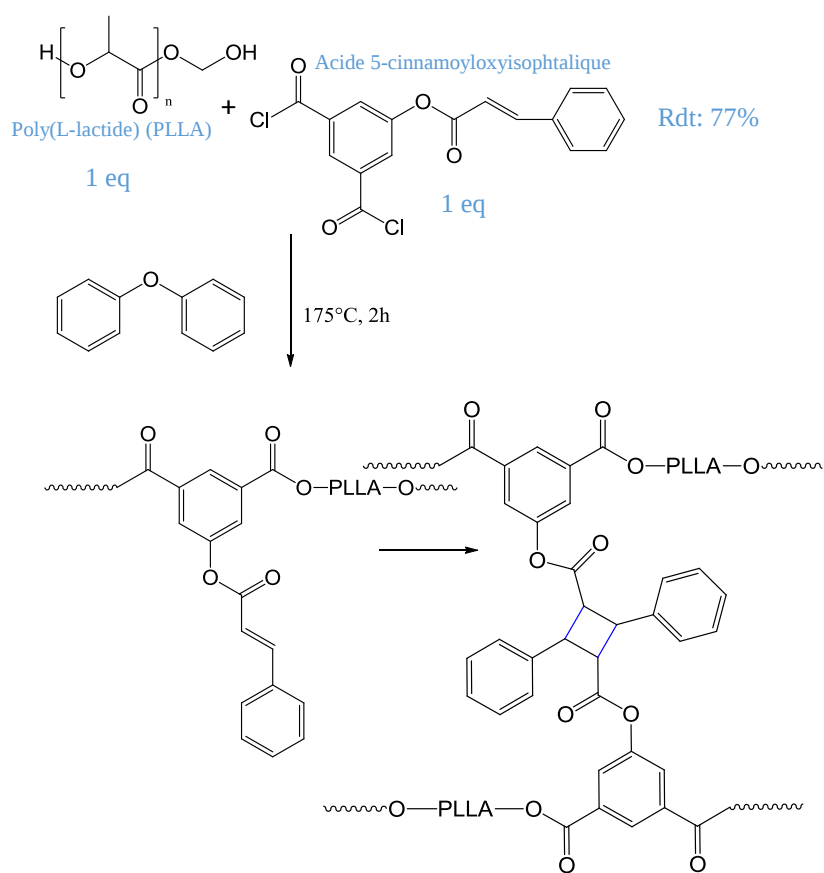


Figure 75: synthèse des réseaux à base de poly(L-lactide).

Des matériaux aux propriétés cicatrisantes à base de dérivés du chitosane ont également été synthétisés par photooxydation. En effet, Na *et al.* ont modifié le chitosane O-carboxylméthyle (O-CMC) avec des groupements d'éther glycidyle de furfuryle (O-CMC/FGE) par

photooxydation en passant par la formation d'un cycle endoperoxyde (**Figure 76**). Des études *in vivo* ont démontré une bonne biocompatibilité, un effet cicatrisant et l'absence d'adhésion cellulaire à la surface de ces matériaux. Ainsi ils sont d'excellents candidats en tant que matériaux actifs antiadhésifs dans le domaine biomédical¹¹⁵.

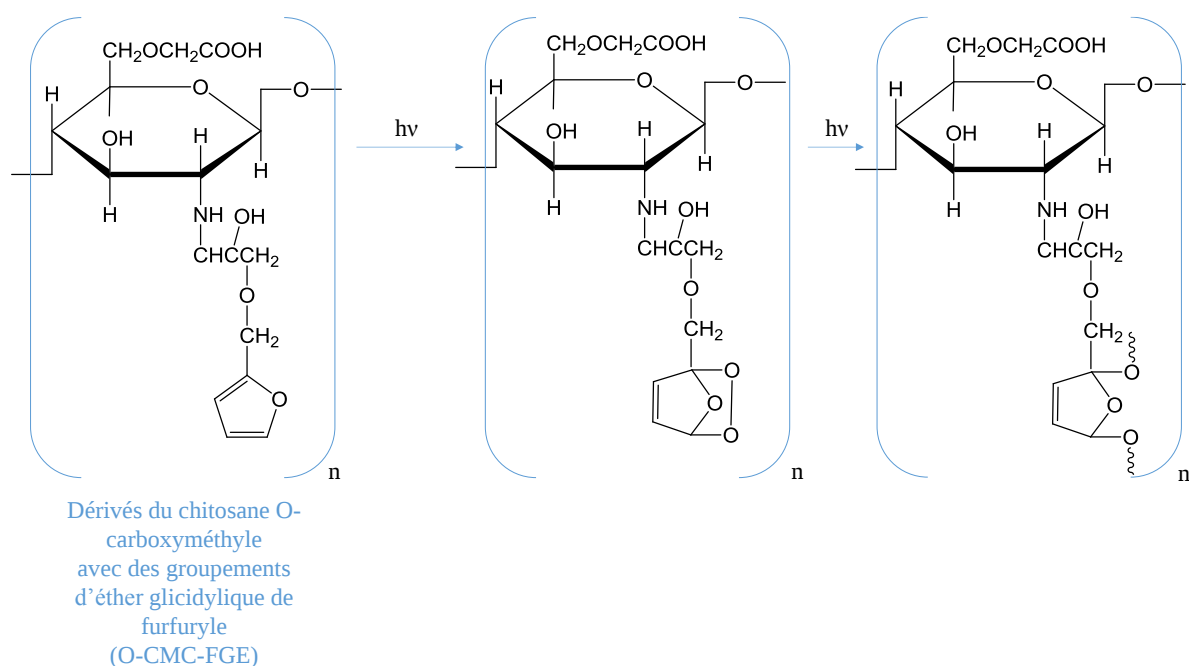


Figure 76: Formation des réseaux à base de chitosane par photooxydation.

I.7.2 Matériaux photoinduits à partir des composés phénoliques

Des films ultra-fins à base d'urushiol (toxine organique contenue dans certains végétaux) adsorbés à la surface d'une plaque de quartz modifiée par des fonctions NH_2 , ont été synthétisés par Zheng *et al.* à partir d'un assemblage couche par couche (**Figure 77**). Après une irradiation à 365 nm un réseau tridimensionnel réticulé, structuré, résistant aux bactéries et anti-corrosif a été obtenu¹¹⁶.

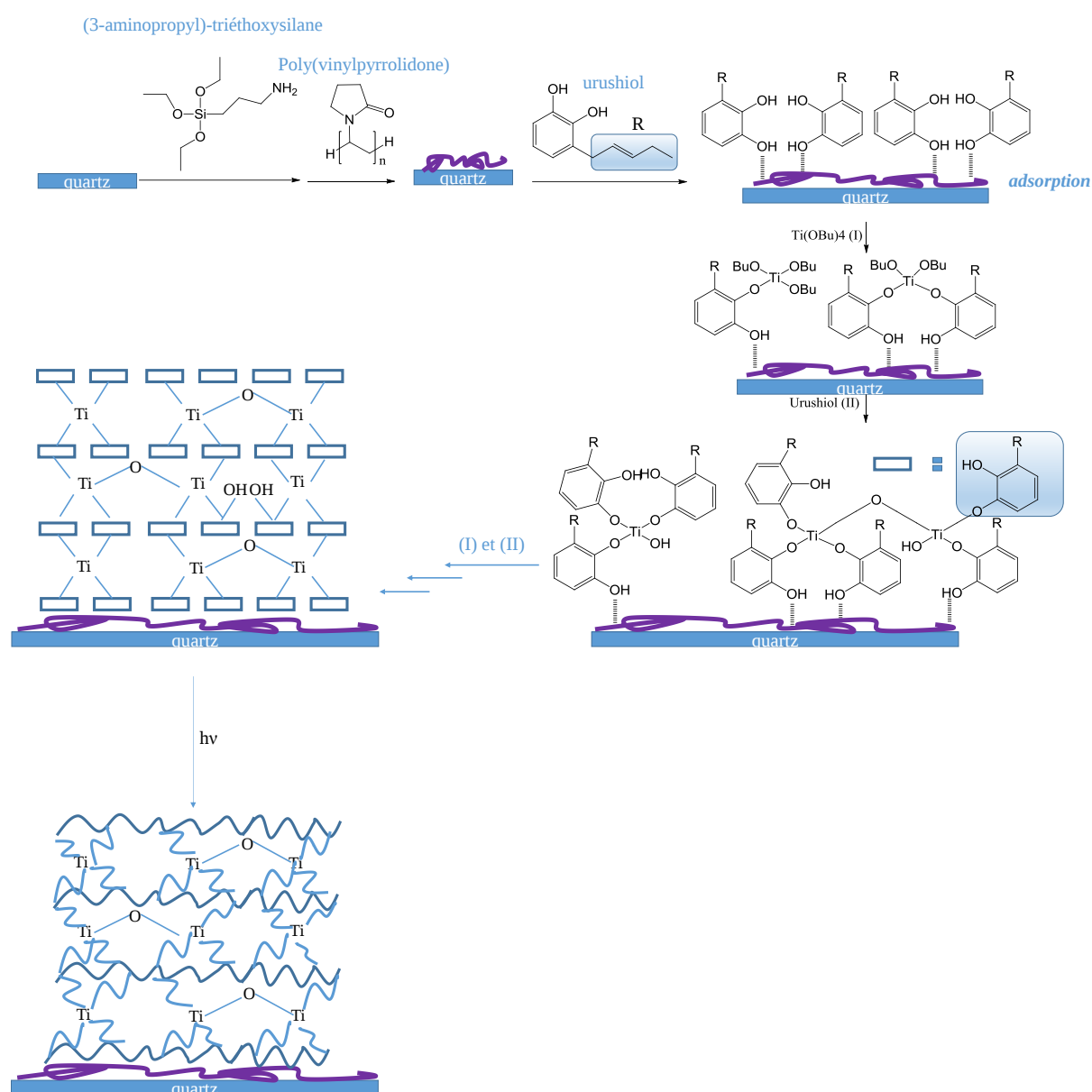


Figure 77: Synthèse de la multicouche à partir du dérivé d'urushiol

I.7.3 Matériaux photoinduits à partir de macromolécules biologiques et synthons dérivés

Certains auteurs se sont intéressés à l'élaboration de dérivés à base de gélatine photoréticulables afin d'obtenir des gels aux propriétés intéressantes. Ainsi, un matériau novateur pouvant être utilisé comme pansement en dentisterie a été synthétisé à partir de la gélatine fonctionnalisée par des groupements furfuryl. La rose de Bengale a été utilisée comme photosensibilisateur afin d'induire, après irradiation, la formation d'endopéroxyde de furane permettant la réticulation. En effet, après irradiation de la solution sous un photomasque, une microstructure est obtenue par lithographie (**Figure 78**)¹¹⁷

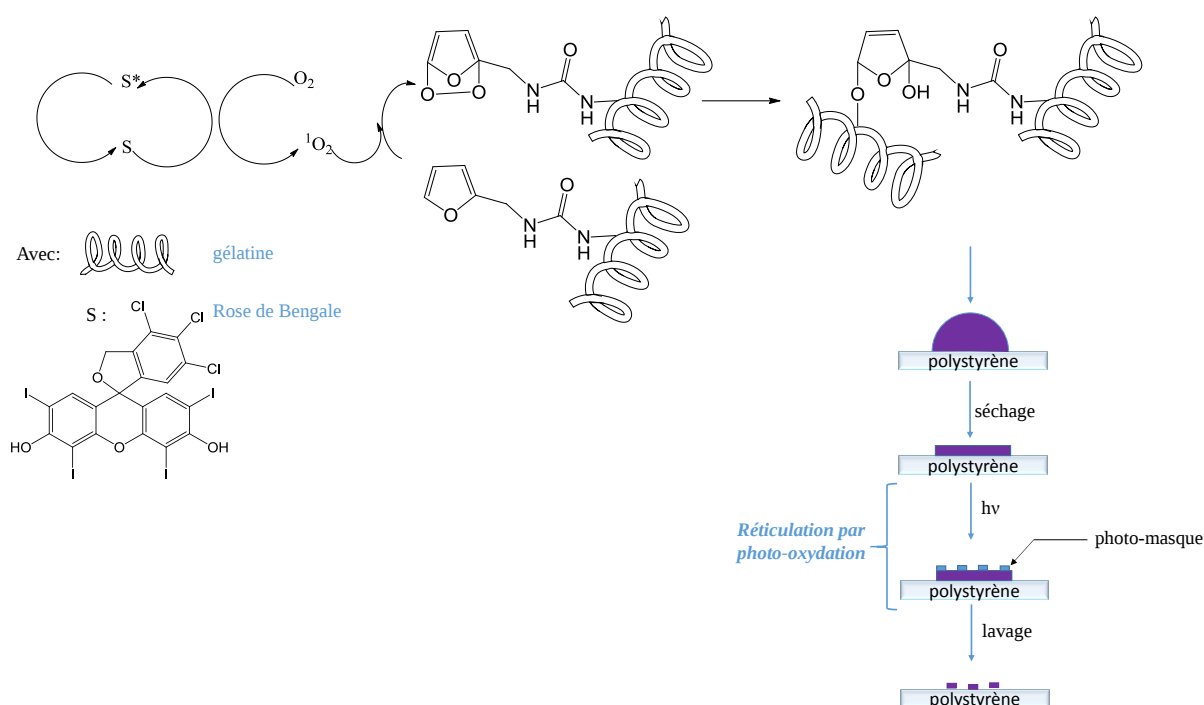


Figure 78: Réticulation des dérivés de gélatine par photooxydation et lithographie des dérivés de gélatine induite par photoirradiation

De même, Garcia-Astrain et *al.* ont modifié la gélatine en introduisant des groupements furane contenant des molécules chromophores photosensibles afin d'obtenir une photo réticulation grâce à la formation de cycle cylobutane sans avoir recours à un amorceur (**Figure 79**)¹¹⁸.

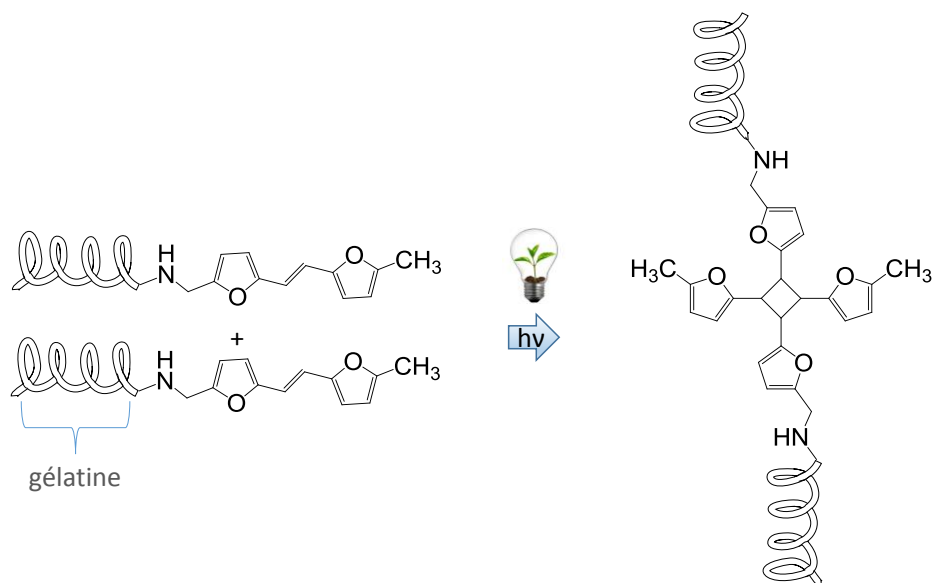


Figure 79: Schéma de synthèse des réseaux réticulés à base de gélatine obtenus par cyclodimérisation

Des réseaux tridimensionnels ont été obtenus par réaction de donneur-accepteur en fonctionnalisant des oligomères de lysine polymérisés par polycondensation thermique avec deux molécules insaturées : l'acide maléamique et l'éther allylglycidyle (Figure 80). Les films jaunes et transparents ainsi obtenus ont montrés de bonnes propriétés thermiques (T_v proche de 130°C et une température de dégradation supérieure à 300°C ¹¹⁹).

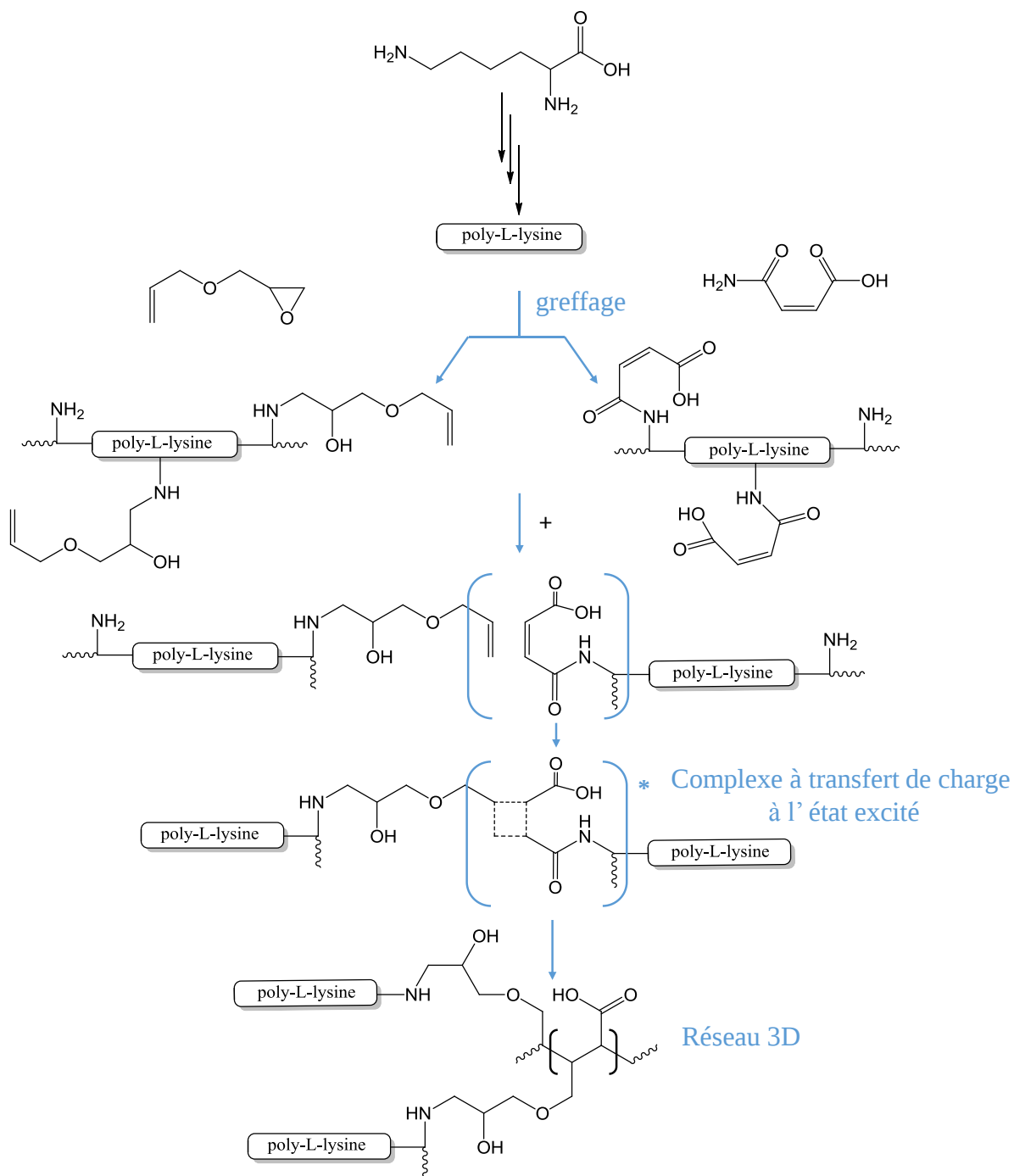


Figure 80: Formation des réseaux à partir des dérivés de la lysine par réaction de donneur-accepteur.

De même, des nanofibres de poly(vinylbenzyl) fonctionnalisées avec des groupements uracil ont été photoréticulées. Celles-ci pourraient être utilisées dans les domaines tels que la vectorisation de médicaments ou l'adsorption d'ions métalliques¹²⁰.

Conclusion

Comme nous l'avons vu, l'utilisation des bioressources n'est pas une nouveauté mais, avec l'apparition de nombreuses contraintes, il est apparu comme une nécessité de trouver une alternative durable au carbone d'origine fossile qui présenterait l'avantage d'être renouvelable, compostable et plus respectueux de l'environnement.

La biomasse, particulièrement abondante mais sous exploitée par rapport à sa production annuelle représente donc une alternative prometteuse au carbone fossile permettant de limiter la production de déchets et l'émission de gaz à effet de serre.

Bien que la diversité de la biomasse soit relativement élevée, seules certaines grandes familles du fait de leur abondance sont à ce jour exploitées pour la synthèse de matériaux biosourcés. Ainsi, la plupart des travaux portent sur les dérivés oléagineux ou saccharidiques ou bien encore des dérivés issus du caoutchouc. Riches en oxygène, ils doivent être chimiquement modifiés afin d'être utilisés comme brique constitutive des matériaux.

Depuis la dernière décennie les recherches portant sur la synthèse de matériaux biosourcés est en pleine essor même si seul 1% d'entre elles sont consacrées à la photochimie. Deux grandes voies de synthèse émergent de ces travaux : la polymérisation radicalaire et la polymérisation cationique des époxydes. Les travaux portant sur les huiles végétales ou les sucres et leurs dérivés sont particulièrement nombreux contrairement à ceux concernant les dérivés du caoutchouc, les composés phénoliques ou les biopolymères.

Néanmoins, il existe très peu d'études concernant les matériaux photoréticulés à base de terpènes et aucune étude sur la conservation de leurs propriétés antibactériennes n'a été menée. Pourtant, il a été démontré que ces composés porteurs de fonctionnalités intrinsèques (doubles liaisons, OH) facilitant leurs fonctionnalisations possèdent également des activités antibactériennes et antifongiques qui peuvent être valorisées dans des matériaux (**Tableau 8**).

Ainsi, cette thèse portera sur la synthèse de réseaux biosourcés photopolymérisés afin d'obtenir une large gamme de matériaux antibactériens et/ou antioxydants allant du thermoplastique au thermodurcissable. Ceux-ci seront élaborés par polymérisation radicalaire et notamment par thiol-ène ou par polymérisation cationique des époxydes à partir de composés terpéniques, phénoliques ou de PHAs fonctionnalisés.

Cependant, avant toute chose, un bref rappel présentant le processus de colonisation bactérienne ainsi que les différentes stratégies permettant l'élaboration de matériaux antibactériens (actifs ou passifs) sera décrit.

Rappel sur le processus de colonisation bactérienne et les différentes stratégies pour l'obtention de matériaux antibactériens

Processus de colonisation bactérienne

✚ Constitution des bactéries

Les bactéries sont des organismes vivants unicellulaires dont la taille varie entre 1 et 10 μm . Elles existent sous différentes formes : sphérique (coques), cylindrique ou en bâtonnet (bacilles) ou spiralée (tréponème). On distingue deux classes de bactéries, celles à Gram-positif et celles à Gram-négatifs qui diffèrent de par la structure de leur paroi cellulaire (**Figure 81**).

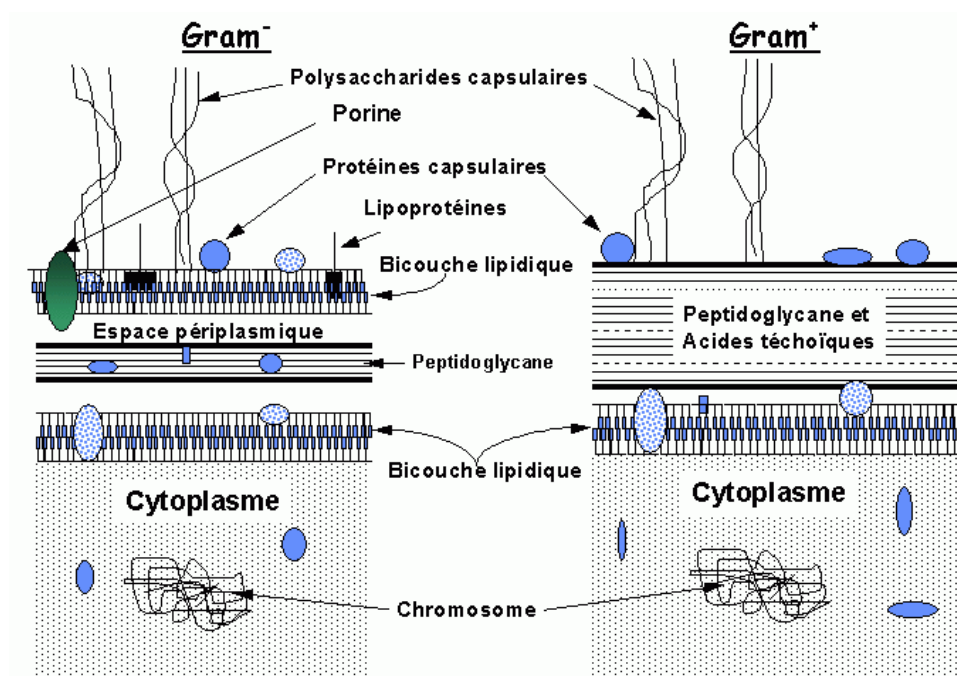


Figure 81: Structure des bactéries à Gram-négatif et à Gram-positif (<http://mesanneespourdevenirinfirmier.over-blog.com/les-bacteries.html>).

Les bactéries à Gram-négatif ont une paroi de 15 à 20 nm d'épaisseur constituée de 3 couches (la membrane externe, l'espace périplasmique et la membrane cytoplasmique). La membrane externe est constituée d'une double couche de phospholipides, de lipopolysaccharides et de protéines de transport (porines). L'espace périplasmique situé entre les membranes externe et cytoplasmique, est quant à lui un lieu de stockage des nutriments et des enzymes. Finalement, la membrane cytoplasmique est semblable à l'externe mais diffère par l'absence de

lipopolysaccharides. Elle contient des complexes protéiques vitaux à la bactérie tels que l'ATP synthase jouant un rôle prédominant dans le métabolisme bactérien.

Les bactéries à Gram-positif sont constituées d'une paroi de 20 à 100 nm d'épaisseur comprenant la couche de peptidoglycanes, l'espace périplasmique et enfin la membrane cytoplasmique. La couche de peptidoglycanes est composée en majorité de polymères de N-acétylglucosamine et N-acétylmuramique alternés en série. Celle-ci est traversée par les acides teichoïques et lipoteichoïques qui assurent sa stabilité. L'espace périplasmique, beaucoup plus mince que dans les bactéries à Gram-négatif, possède la même constitution. Enfin, la membrane cytoplasmique est constituée de protéines poreuses reliées à l'espace périplasmique et est semblable à celles des bactéries à Gram-négatif.

Mécanisme d'adhésion sur une surface

Ce mécanisme de survie peut être décrit en deux phases distinctes : une première étape instantanée et réversible pendant laquelle les bactéries vont s'attacher à la surface et vont pouvoir y adhérer par des liaisons physicochimiques (interactions électrostatiques ou de Van der Waals) ainsi que par des interactions dues au mouvement brownien ; suivie d'une seconde étape irréversible liée à la physiologie des bactéries (les liaisons entre les bactéries et la surface créées précédemment sont consolidées) et permettant l'adaptation de la bactérie à la surface.

Différents facteurs peuvent influencer ce processus comme la nature (chargée ou non) ou la rugosité de la surface et l'environnement (pH, température, temps d'exposition, présence d'antibiotique, concentration bactérienne etc.). Après cette adhésion, les bactéries vont pouvoir proliférer en formant une « communauté bactérienne » ou biofilm. Elles deviennent ainsi plus résistantes aux agents antimicrobiens.

Lors des étapes 1 à 3, les bactéries sécrètent des polysaccharides, des protéines, de l'ADN ou des lipides formant une matrice extracellulaire les liant entre-elles. C'est la formation des colonies. Cette matrice très organisée est pourvue de canaux aqueux permettant l'apport en nutriments et oxygène nécessaires à la survie ainsi que du matériel génétique accroissant leur résistance aux hôtes hostiles. Lors des étapes 4 et 5, les colonies se réunissent en formant un biofilm puis ces bactéries migrent afin de coloniser d'autres milieux (**Figure 82**).

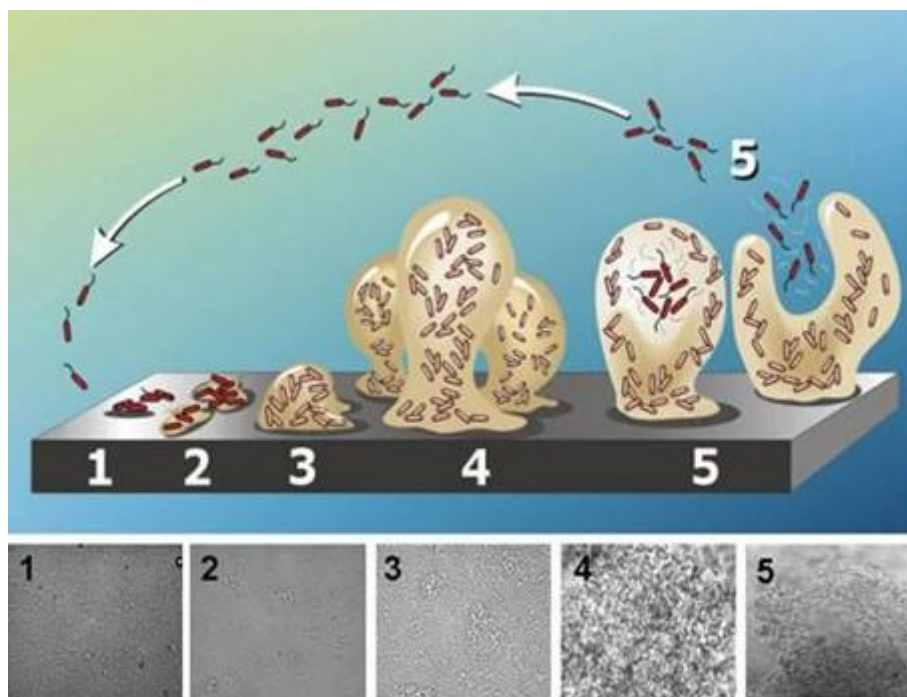


Figure 82: Formation d'un biofilm : (1) diffusion des bactéries vers la surface, (2) attachement réversible, (3), adhésion, (4) développement et formation des colonies, (5) formation du biofilm et libération puis diffusion des bactéries (Gervais, Blade, Eyeong-Be <http://slideplayer.fr/slide/9520001/>).

Ces biofilms pathogènes sont responsables de graves problèmes sanitaires dans les milieux hospitaliers.

Stratégie pour l'obtention de matériaux antibactériens

Avec le développement des maladies nosocomiales et la résistance aux antibiotiques des différentes souches responsables de ces infections le développement de matériaux antibactériens est devenu une réelle nécessité. Différentes stratégies peuvent être envisagées pour la synthèse de matériaux antibactériens limitant ou inhibant la prolifération des bactéries ainsi, diverses revues ont été publiées à ce sujet.

Composés organiques ou inorganiques utilisés comme agents antibactériens

Certains auteurs ont eu recours à l'utilisation de composés organiques ou inorganiques en tant qu'agents antibactériens. On peut par exemple citer l'imprégnation du matériau par des antibiotiques¹²¹ afin de lutter contre les infections ou bien l'incorporation de composés

métalliques connus pour leur activité antibactérienne (argent, cuivre, mercure, nickel ou zinc)^{122,123}. Cette stratégie présentant l'inconvénient de relarguer dans l'environnement et/ou le corps humain des molécules antimicrobiennes et de provoquer une résistance aux antibiotiques, une nouvelle stratégie visant à lier covalentement des polymères biocides (entraînant la mort des microorganismes en solution ou en surface) ou antiadhésifs (évitant l'accumulation des microorganismes en surface) au matériau a fait son apparition.

Polymères biocides

Parmi les polymères de type biocides on peut citer les polymères cationiques porteurs de sels d'ammonium, de phosphonium, de sulfonium ou de pyridium quaternaire ainsi que les sels mono et biguanidinium¹²⁴ capables de s'adsorber sur la bactérie et d'endommager sa membrane cellulaire entraînant la lyse de la cellule. D'autres, non chargés sont également utilisés comme les N-halanines (biocides relargant du chlore), ou bien les composés phénoliques¹²⁵ ou les acides ou halogènes aromatiques¹²⁶.

Polymères anti-adhésifs

Dans le cas des polymères antiadhésifs, le poly(éthylène glycol) est l'un des plus répandus. Certains travaux ont démontrés que certains polysaccharides tels que l'hydroxyéthylcellulose, la méthylecellulose¹²⁷ ou le chitosane présentaient des propriétés antiadhésives et antithrombotiques.

Stratégies de greffage des surfaces

Le greffage de polymères à la surface est en plein essor. Il peut être effectué par « grafting-from » (depuis la surface) ou par « grafting-onto » (réaction du polymère avec des fonctions réactives greffées à la surface du matériau). Ceux-ci peuvent s'effectuer par photopolymérisation en présence de benzophénone par UV¹²⁸, par activation plasma puis polymérisation (thermique ou irradiation UV^{109,110}), par polymérisation induite par plasma, par activation plasma et greffage ou par polymérisation radicalaire contrôlée.

Tableau 8: Activité antibactérienne des huiles essentielles.

Nature du produit	Agent antibactérien	Microorganismes	Résultats	Références
Huile essentielle	<i>Callicarpa japonica</i> (farnesène et linalol)	<i>Bacillus cereus</i> (+), <i>Staphylococcus aureus</i> (+), <i>Listeria monocytogenes</i> (+)	<i>Bacillus cereus</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	J. Agric. Food Chem 2004, 52, 781-787
		<i>Escherichia coli</i> (-), <i>Salmonella typhimurium</i> (-), <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (-)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> : Les plus sensibles à l'effet antibactérien	
Huile essentielle et gomme	<i>Pistacia lentiscus</i> (Mastic tree) (myrcène 25% et linalol 0,5%)	<i>Bacillus subtilis</i> (+), <i>Staphylococcus aureus</i> (+)	<i>Escherichia coli</i> : résistant au myrcène <i>Staphylococcus aureus</i> : très sensible	J. Agric. Food Chem 2005, 53, 7681-7685
		<i>Escherichia coli</i> (-)	<i>Bacillus subtilis</i> : sensible linalol peu présent mais activité antibactérienne plus importante	
Composants volatils	<i>Coriandrum sativum</i> (linalol et géranol)	<i>Salmonella choleraesuis</i> (-), <i>Escherichia coli</i> (-), <i>Escherichia aerogenes</i> (-), <i>Proteus aeruginosa</i> (-), <i>Proteus vulgaris</i> (-)	<i>Salmonella choleraesuis</i> (-) activité antibactérienne du géranol et linalol	J. Agric. Food Chem 2004, 52, 3329-3332
			Activité antibactérienne plus importante sur les gram -	
Huile essentielle	<i>Cuminum cyminum</i> (myrcène 0,9% limonène 3% et eugénol 0,7%) <i>Carum carvi</i> (linalol 0,3% et limonène 18%)	<i>Bacillus megaterium</i> (+) ..., <i>Escherichia coli</i> (-), <i>Pseudomonas syringae</i> (-) ...	Activité antibactérienne du <i>Cuminum cyminum</i> due au limonène et eugénol	J. Agric. Food Chem 2005, 53, 57-61
			Activité antibactérienne du <i>Carum carvi</i> due au limonène et linalol	
Huile essentielle	linalol	<i>Streptococcus mutans</i> (+) ..., <i>Porphyromonas gingivalis</i> (-) ...	Activité antibactérienne remarquable du linalol sur les bactéries périodontopathique et cariogénique <i>Streptococcus mutans</i> (+); plus sensibles	Anaerobe 2012, 18, 369-372
Huile essentielle	<i>Artemisia turcomanica</i> (linalol 6,9%)	<i>Bacillus subtilis</i> (+), <i>Staphylococcus aureus</i> (+), <i>Enterococcus faecalis</i> (+)	Activité antibactérienne contre <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>	Chemistry of Natural Compounds, 2010, 46, N°5, 819-821
		<i>Klebsiella pneumoniae</i> (-), <i>Escherichia coli</i> (-), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (-)	Modérée sur <i>Klebsiella pneumoniae</i> et <i>Escherichia coli</i>	
			Inactive sur <i>Enterococcus faecalis</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	

Nature du produit	Agent antibactérien	Microorganismes	Résultats	Références
Huiles essentielles et huiles contenues dans le jus de pomme	raisin, citron vert, orange amère, orange mandarine, tangerine	<i>Escherichia coli</i> (-) <i>Salmonella enterica</i> (-)	Géraniole le plus actif contre <i>Escherichia coli</i> Linalol contre <i>Salmonella enterica</i> (-) Efficacité augmente avec le temps (5min-1h) Mort des bactéries	J. Agric. Food Chem 2004, 52, 6042-6048
Huile essentielle	<i>Coriandrum sativum</i> (myrcène 0,8%, linalol 64,5%, géraniol 0,4%) <i>Foeniculum vulgare</i> Miller (myrcène traces)	<i>Bacillus megaterium</i> (+) ... <i>Escherichia coli</i> (-) <i>Pseudomonas syringae</i> (-) ...	Activité antibactérienne de <i>Coriandrum sativum</i> plus importante que <i>Foeniculum vulgare</i> : croissance des bactéries inhibée	J. Agric. Food Chem 2004, 52, 7862-7866
Extrait brut	<i>Cinnamomum burmannii</i> (cinnamaldéhyde)	<i>Staphylococcus aureus</i> (+) <i>Bacillus cereus</i> (+) <i>Listeria monocytogenes</i> (+) <i>Escherichia coli</i> (-) <i>Salmonella anatum</i> (-)	Activité antibactérienne contre les 2 souches (gram + plus sensible) <i>Staphylococcus aureus</i> la plus sensible et <i>Listeria monocytogenes</i> la plus résistante <i>Salmonella anatum</i> (-) la plus sensible et <i>Escherichia coli</i> la plus résistante	J. Agric. Food Chem 2004, 55, 5484-5490
Solution de terpène	géraniol	<i>Escherichia coli</i> (-)	Hypersensibilité d' <i>Escherichia coli</i> (-) vis à vis du géraniol	Journal of Bioscience and Biengineering, 2013, 115, N°3, 253-258
Huile essentielle	<i>Rosa damascena</i> absolue (géraniol 3,7%) <i>Rosa damascena</i> hydrosol (géraniol 30,7%) <i>Huile de rose</i> (géraniol 22,2%, linalol 0,5%)	<i>Bacillus subtilis</i> (+) <i>Staphylococcus aureus</i> (+) <i>Escherichia coli</i> (-) <i>Chromobacterium violaceum</i> (-) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (-)	<i>Chromobacterium violaceum</i> la plus sensible à <i>Rosa damascena</i> absolue et à l' <i>huile de rose</i> tout comme <i>Escherichia coli</i> Activité antibactérienne de <i>Rosa damascena absolue</i> sur les 2 souches due aux groupements phénoliques	Curr Microbiol, 2009, 59, 554-558

Nature du produit	Agent antibactérien	Microorganismes	Résultats	Références
Encapsulation dans de la β -cyclodextrine et de l'amidon modifié	géraniol	-	Augmentation de la solubilité dans l'eau, protection contre l'oxydation	Journal of Food Science, 2008, 73, N°1, 89-94
Huile essentielle	<i>Helichrysum italicum</i> (géraniol 0,5%, linalol 3,2%)	<i>Staphylococcus aureus</i> (+)	Activité antibactérienne contre <i>Escherichia coli</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Chemistry of Natural Compounds 2005, 41, N°1, 35-40
		<i>Escherichia coli</i> (-)		
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (-)	Diminution de la croissance plus importante pour le <i>Staphylococcus aureus</i>	
			Composés oxygénés à l'origine de l'activité	
Films de polysaccharide (chitosan et hydroxypropylmethyl-cellulose) Contenant des huiles essentielles dispersées	Bergamote Citron Arbre à thé	<i>Listeria monocytogenes</i> (+)	Activité antibactérienne sur toutes les souches	Food Control 2011, 22, 1302-1310
		<i>Staphylococcus aureus</i> (+)	Activité la plus forte pour l'huile de <i>Tea Tree</i>	
		<i>Escherichia coli</i> (-)	Inhibition de la croissance d' <i>Escherichia coli</i> et <i>Listeria monocytogenes</i> pour les films hydroxypropylmethyl-Cellulose-Tea Tree	
			Inhibition de la croissance du <i>Staphylococcus aureus</i> pour les films hydroxypropylmethyl-Cellulose-Bergamote	
Huile	<i>Lemongrass</i> (géraniol 4,6% et myrcène 10,3%)	<i>Staphylococcus aureus</i> (+)	Pas d'activité antibactérienne du myrcène	Research in Veterinary Science 2011, 91, 31-37
		<i>Staphylococcus agalactiae</i> (+)	<i>Escherichia coli</i> plus résistant au géraniol que <i>Staphylococcus aureus</i>	
		<i>Bacillus cereus</i> (+)	Action bactéricide du géraniol	
		<i>Escherichia coli</i> (-)	Composants mineurs (linalol) ont un effet synergique	
Huiles essentielles	<i>Juniperus phoenicea</i> (myrcène 2,10%) <i>Juniperus oxycedrus</i> (myrcène 8,70%) <i>Juniperus oxycedrus</i> (myrcène 2,10%)	<i>Staphylococcus aureus</i> (+)	Bonne activité contre <i>Staphylococcus aureus</i>	J.Agric. Food Chem 2003, 51, 3073-3078
		<i>Escherichia coli</i> (-)		
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (-)		

Nature du produit	Agent antibactérien	Microorganismes	Résultats	Références
Huile essentielle	<i>Metasequoia glyptostroboides</i> Miki (β-myrcène 13,29% et β-famésène 1,67%)	<i>Bacillus subtilis</i> (+) <i>Staphylococcus aureus</i> (+)		
		<i>Escherichia coli</i> (-)	Bonne activité contre <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Food and Chemical Toxicology 2009, 47, 1876-1883
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (-)		
		<i>Salmonella typhimurium</i> (-) <i>Salmonella enteritidis</i> (-)	Effet antibactérien a de faible concentration (125-250µg/mL)	
Extraits d'épices et d'herbes	<i>Alpinia galanga</i> <i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Eucalyptus staigerana</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> (+) <i>Staphylococcus aureus</i> (+) <i>Clostridium perfringens</i> (+)	Réduction significative des <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Escherichia coli</i> avec <i>Alpinia galanga</i>	J.Sci Food Agric 2011, 91, 461-468
		<i>Escherichia coli</i> (-) <i>Salmonella typhimurium</i> (-)	Pas d'inhibition significative des <i>Listeria monocytogenes</i> mais effet synergique des 3 extraits	
Huiles essentielles	<i>Lavandula angustifolia</i> (myrcène 1,62%, Linalol 22,35% et Farnésène 2,87%) <i>Mentha piperita</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (-) <i>Escherichia coli</i> (-)	Inhibition des souches due au Linalol	Meat Science 2012, 92, 667-674

Figures

Figure 1: Evolution de l'exploitation du carbone végétal ³	11
Figure 2: Les 12 principes de la chimie verte selon Paul Anastas et John Warner ²	12
Figure 3: Catégories et constituants de la biomasse.....	14
Figure 4: Evolution du nombre de publications mondiales relatives aux revêtements et matériaux d'origine biosourcées depuis 1990 (source : Web of science).	15
Figure 5: Répartition des différentes méthodes de photopolymérisation permettant le design de biomatériaux.....	16
Figure 6: Mécanisme de photolyse des photoamorceurs de type I (coupure en α du carbonyle).	19
Figure 7: Mécanisme de photolyse des photoamorceurs de type I (coupure en β).	20
Figure 8: Mécanisme de photolyse de la benzophénone (photoamorceur de type II).....	20
Figure 9: Etapes de la polymérisation radicalaire.	21
Figure 10: Mécanisme de la réaction de thiol-ène photoamorcée.....	22
Figure 11: Mécanisme de photopolymérisation cationique sensibilisée par les radicaux.....	23
Figure 12: Mécanisme de photolyse d'un sel d'onium. RH = solvant ou donneur d'hydrogène.	24
Figure 13: Amorçage et propagation de la polymérisation cationique par le radical cation $ArY^{+\bullet}$	24
Figure 14: Différents groupements polymérisables par voie cationique.....	25
Figure 15: Polymérisation photoamorcée des dérivés époxydes suivant le mécanisme d'Active Chain End.	25
Figure 16: Réaction de terminaison par transfert (réaction avec un alcool).	26
Figure 17: Réaction de terminaison (réaction avec un contre-ion).	26
Figure 18: Production mondiale d'huiles végétales entre 1986 et 2016 ^{12,13}	27
Figure 19: Formule chimique du triglycéride de palmitoyle.....	28
Figure 20: Acides gras obtenus à partir des huiles végétales d'olive, de ricin et de <i>Vernonia galamensis</i>	29
Figure 21: Formules chimiques de l'amylopectine et de l'amylose.	30
Figure 22: Formules chimiques de la cellulose et du xylane.	31
Figure 23: Synthèse du chitosane par désacétylation de la chitine.	31
Figure 24: Formules chimiques de l'héparine et de l'acide hyaluronique.	32
Figure 25: Formule chimique du saccharose.....	33

Figure 26: Synthons issus de la biomasse saccharidique.	34
Figure 27: Formule chimique du caoutchouc naturel (poly cis 1-4 isoprène).	35
Figure 28: Formule chimique de l'isoprène.	35
Figure 29: Dérivés du limonène.	37
Figure 30: Dérivés du pinène.	38
Figure 31: Formule chimique de l'urushiol.	39
Figure 32: Formule chimique de la curcumine.	39
Figure 33: Formule chimique de la quercétine.	40
Figure 34: Composés phénoliques dérivés de l'acide benzoïque.	41
Figure 35: Formules chimiques des alcools cinnamyles constituant la lignine.	42
Figure 36: Transformation commerciale de la lignine ³²	42
Figure 37: Conditions de culture normale et limitante conduisant à l'accumulation intracellulaire du PHA.	44
Figure 38: Formule générale des poly(3-hydroxyalcanoates).	45
Figure 39: Image de microscopie électronique à transmission de granules de PHB chez la souche <i>Azobacter Chroococcum</i> (Bunicourt, <i>Express polymer Letters</i> , 2014).	45
Figure 40: Schéma d'un granule de PHA.	46
Figure 41: Fonctionnalités intrinsèques des principaux constituants de la biomasse.	47
Figure 42: Exemple de fonctionnalisation des principaux constituants biosourcés.	48
Figure 43: Réaction d'oxydation d'une double liaison carbonée par un peroxyacide.	52
Figure 44: Domaines d'applications (encres ⁶⁰ , biomédical ⁴⁰ , composites ^{56,64} , revêtements ^{61,63,67,95} , stockage d'énergie ⁵⁷) des huiles végétales acrylates.	55
Figure 45: Différents types de réseaux obtenus par photoréticulation.	56
Figure 46: Synthèse de l'acide gallique tétra fonctionnalisé.	57
Figure 47: Formation des réseaux hybrides POSS-OA/SH et ACO par réaction de type thiol-ène.	58
Figure 48: Alcools gras associés à l'huile de soja acrylatée.	59
Figure 49: Synthèse des réseaux biosourcés à partir de l'acide undécylénique.	60
Figure 50: Formation des réseaux hybrides à partir de l'acide quinique.	60
Figure 51: Co-réseaux à partir de dérivés acrylates en partie biosourcés.	61
Figure 52: Applications des matériaux à base de sucres.	62
Figure 53: Fonctionnalisation de l'acétate de cellulose par le de N-méthylolacrylamide.	63
Figure 54: Formation d'un réseau semi- interpénétré cellulose/PUA.	64
Figure 55: Synthèse de l'acide poly(lactique) (PLA).	66

Figure 56: Formation des réseaux hybrides à base d'acide glycolique.	68
Figure 57: Formation des réseaux hybrides à base d'isosorbide diméthacrylique.	69
Figure 58: Formule de l'isosorbide fonctionnalisé avec le bromure d'allyle.....	70
Figure 59: Synthèse des différents oligoisoprènes à partir du carbonyltélchélique cis-1,4- polyisoprène (CTPI).	72
Figure 60: Réseaux réticulés à base de limonène.	73
Figure 61: Synthèse des dérivés de l'acide gallique et des réseaux hybrides.	74
Figure 62: Réseaux réticulés à base de dérivés de l'eugénol.	75
Figure 63: Formation des réseaux hybrides PHOU-POSS.....	76
Figure 64: Schéma du photografting des dérivés thiolés sur le PHBHV.	77
Figure 65: Formule chimique de l'acide hydroxystéarique (HSA).	78
Figure 66: Formation des réseaux à base d'huile de soja époxydée et hydroxylée par polymérisation cationique photoinduite.	78
Figure 67: Fonctionnalisation de l'huile de lin avec les groupements cyclohexène (CLO) puis avec les groupements époxyde (ECLO).	79
Figure 68: Formation des revêtements à partir d'huile de lin fonctionnalisée époxynorbornène.	80
Figure 69: Formules des différents réactifs multiépoxydés.	81
Figure 70: Formation des composites bois/vinyl plastisol par photoactivation UV.	81
Figure 71: Formation des polyesters photoréticulés à partir de l'acide oléique.	82
Figure 72: Formation des réseaux isosorbide/PHBHV par polymérisation cationique.	83
Figure 73: Formation des co-réseaux ENR/GMA/ECC.....	84
Figure 74: Formation des oligoisoprènes époxydés à partir du caoutchouc naturel dicarboxylé (CTPI).	85
Figure 75: synthèse des réseaux à base de poly(L-lactide).	86
Figure 76: Formation des réseaux à base de chitosan par photo-oxydation.....	87
Figure 77: Synthèse de la multicouche à partir du dérivé d'urushiol	88
Figure 78: Réticulation des dérivés de gélatine par photo-oxydation et lithographie des dérivés de gélatine induite par photo-irradiation	89
Figure 79: Schéma de synthèse des réseaux réticulés à base de gélatine obtenus par cyclodimérisation	90
Figure 80: Formation des réseaux à partir des dérivés de la lysine par réaction de donneur- accepteur.....	91

Figure 81: Structure des bactéries Gram-négatif et Gram-positif (http://mesanneespourdevenirinfirmier.over-blog.com/les-bacteries.html).....	94
Figure 82: Formation d'un biofilm : (1) diffusion des bactérie vers la surface, (2) attachement réversible, (3), adhésion, (4) développement et formation des colonies, (5) formation du biofilm et libération puis diffusion des bactéries (Gervais, Blade, Eyeang-Be http://slideplayer.fr/slide/9520001/).	96

Références

- (1) Colonna, Paul. Le carbone renouvelable au carrefour des enjeux de durabilité. *Innov. Agron.* **2013**, 26, 1–15.
- (2) Anastas, P.; Warner, J. *Green Chemistry: Theory and Practice*; Oxford University Press: Oxford, New York, 2000.
- (3) Colonna, Paul. Le carbone renouvelable au carrefour des enjeux de durabilité. *Innov. Agron.* **2013**, 26, 1–15.
- (4) Fertier, L.; Koleilat, H.; Stemmelen, M.; Giani, O.; Joly-Duhamel, C.; Lapinte, V.; Robin, J.-J. The use of renewable feedstock in UV-curable materials – A new age for polymers and green chemistry. *Prog. Polym. Sci.* **2013**, 38 (6), 932–962.
- (5) Fizet, M.; Decker, C.; Faure, J. Photopolymérisation de macromères multifonctionnels—II. Analyse cinétique par néphélométrie-laser. *Eur. Polym. J.* **1985**, 21 (5), 427–434.
- (6) Decker, C.; Moussa, K. Photopolymerization of multifunctional monomers in condensed phase. *J. Appl. Polym. Sci.* **1987**, 34 (4), 1603–1618.
- (7) Decker, C.; Bendaikha, T. Photopolymérisation de macromères multifonctionnels—I. Étude Cinétique. *Eur. Polym. J.* **1984**, 20 (8), 753–758.
- (8) Fouassier, Jean-Pierre. *Photoinitiation, Photopolymerization, and Photocuring: Fundamentals and Applications*; Hanser, 1995.
- (9) Dektar, J. L.; Hacker, N. P. Comparison of the photochemistry of diarylchloronium, diarylbromonium, and diaryliodonium salts. *J. Org. Chem.* **1991**, 56 (5), 1838–1844.
- (10) Hacker, N. P.; Welsh, K. M. Photochemistry of triphenylsulfonium salts in poly[4-[(tert-butoxycarbonyl)oxy]styrene]: evidence for a dual photoinitiation process. *Macromolecules* **1991**, 24 (8), 2137–2139.
- (11) Chollet, G.; Gadenne, B.; Alfos, C.; Cramail, H. Les lipides : une matière première alternative pour la synthèse de polymères de spécialités. *OCL* **2012**, 19 (1), 39–50.
- (12) Terres Inovia l'agronomie en mouvement. Huiles végétales: Production.
- (13) FOP Fédération Française des Producteurs d'Oléagineux et de Protéagineux. Marché mondial des oléagineux.
- (14) Silvestre, A. J. D.; Gandini, A.; Belgacem, M. N. *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*; 2008.
- (15) Breitmaier, E. Terpenes-Favors, fragrances,pharmaca, pheromones. *Appl. Organomet. Chem.* **2007**, 21 (5), 377.
- (16) *Bioactive Essential Oils and Cancer*; de Sousa, D. P., Ed.; Springer International Publishing: Cham, 2015.
- (17) Inouye, S.; Yamaguchi, H.; Takizawa, T. Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on respiratory tract pathogens, using a modified dilution assay method. *J. Infect. Chemother.* **2001**, 7 (4), 251–254.
- (18) Corma, A.; Iborra, S.; Velty, A. Chemical Routes for the Transformation of Biomass into Chemicals. *Chem. Rev.* **2007**, 107, 2411–2502.
- (19) L'AGRICULTURE, O. D. N. U. P. L. E. *AGRUMES FRAIS ET TRANSFORMÉS STATISTIQUES ANNUELLES*; EST, 2012.
- (20) Aggarwal, B. B.; Harikumar, K. B. Potential Therapeutic Effects of Curcumin, the Anti-inflammatory Agent, Against Neurodegenerative, Cardiovascular, Pulmonary, Metabolic, Autoimmune and Neoplastic Diseases. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2009**, 41 (1), 40–59.
- (21) Guimarães, M. R.; Coimbra, L. S.; de Aquino, S. G.; Spolidorio, L. C.; Kirkwood, K. L.; Rossa, C. Potent anti-inflammatory effects of systemically administered curcumin modulate periodontal disease in vivo. *J. Periodontal Res.* **2011**, 46 (2), 269–279.
- (22) Loke, Wai Mun; Proudfoot, Julie M; Stewart, Scott; McKinley, Allan J.; Needs, Paul W.; Kroon, Paul A.; Hodgson, Jonathan M.; Croft, Kevin D. Metabolic transformation has a

- profound effect on anti-inflammatory activity of flavonoids such as quercetin: Lack of association between antioxidant and lipoxygenase inhibitory activity. *Biochem. Pharmacol.* **2008**, 75 (1), 1045–1053.
- (23) Murakami, Akira; Ashida, Hitoshi; Terao, Junji. Multitargeted cancer prevention by quercetin. *Cancer Lett.* **2008**, 269 (2), 315–325.
 - (24) Boots, A. W.; Drent, M.; de Boer, V. C. J.; Bast, A.; Haenen, G. R. M. M. Quercetin reduces markers of oxidative stress and inflammation in sarcoidosis. *Clin. Nutr. Edinb. Scotl.* **2011**, 30 (4), 506–512.
 - (25) Kratz, J. M.; Andrighetti-Fröhner, C. R.; Leal, P. C.; Nunes, R. J.; Yunes, R. A.; Trybala, E.; Bergström, T.; Barardi, C. R. M.; Simões, C. M. O. Evaluation of anti-HSV-2 activity of gallic acid and pentyl gallate. *Biol. Pharm. Bull.* **2008**, 31 (5), 903–907.
 - (26) You, B. R.; Park, W. H. Gallic acid-induced lung cancer cell death is related to glutathione depletion as well as reactive oxygen species increase. *Toxicol. Vitro Int. J. Publ. Assoc. BIBRA* **2010**, 24 (5), 1356–1362.
 - (27) Wang, C.; Venditti, R. A. UV Cross-Linkable Lignin Thermoplastic Graft Copolymers. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2015**, 3 (8), 1839–1845.
 - (28) Zhang, Y.; Liao, J.; Fang, X.; Bai, F.; Qiao, K.; Wang, L. Renewable High-Performance Polyurethane Bioplastics Derived from Lignin–Poly(ϵ -caprolactone). *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2017**, 5 (5), 4276–4284.
 - (29) Çalgeris, İ.; Çakmakçı, E.; Ogan, A.; Kahraman, M. V.; Kayaman-Apohan, N. Preparation and drug release properties of lignin–starch biodegradable films. *Starch - Stärke* **2012**, 64 (5), 399–407.
 - (30) Engelmann, G.; Ganster, J. Bio-based epoxy resins with low molecular weight kraft lignin and pyrogallol. *Holzforsch. Int. J. Biol. Chem. Phys. Technol. Wood* **2014**, 68 (4), 435–446.
 - (31) Stanzione, J. F.; Giangiulio, P. A.; Sadler, J. M.; La Scala, J. J.; Wool, R. P. Lignin-Based Bio-Oil Mimic as Biobased Resin for Composite Applications. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2013**, 1 (4), 419–426.
 - (32) Upton, B. M.; Kasko, A. M. Strategies for the Conversion of Lignin to High-Value Polymeric Materials: Review and Perspective. *Chem. Rev.* **2016**, 116 (4), 2275–2306.
 - (33) Zhao, S.; Abu-Omar, M. M. Renewable Epoxy Networks Derived from Lignin–Based Monomers: Effect of Crosslinking Density. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2016**.
 - (34) Lemoigne, M. Produit de déshydratation et de polymérisation de l'acide b-oxybutyrique. *Bull. Société Chim. Biol.* **1926**, 8, 770–782.
 - (35) Brandl, H.; Gross, R. A.; Lenz, R. W.; Fuller, R. C. Plastics from bacteria and for bacteria: poly(beta-hydroxyalkanoates) as natural, biocompatible, and biodegradable polyesters. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* **1990**, 41, 77–93.
 - (36) Steibüchel, A. PHB and others polyhydroxyalkanoic acids; Rehm, H. J., Reed, G., Eds.; *Biotechnology: Weinheim*, 1996; Vol. 6, pp 403–464.
 - (37) Repaske, R.; Repaske, A. C. Quantitative requirements for exponential-growth of *Alcaligenes-eutrophus*. *Appl. Environnemental Microbiol.* **1976**, 32, 585–591.
 - (38) Ward, A. C.; Rowley, B. I.; Dawes, E. A. Effect of oxygen and nitrogen limitation on poly-b-hydrobutyrate biosynthesis in ammonium-grown *azotobacter beijerinckii*. *J. Gen. Microbiol.* **1977**, 102, 61–68.
 - (39) Grage, K.; Jahns, A. C.; Parlane, N.; Palanisamy, R.; Rasiah, I. A.; Atwood, J. A.; Rehm, B. H. A. Bacterial polyhydroxyalkanoate granules: biogenesis, structure, and potential use as nano-/micro-beads in biotechnological and biomedical applications. *Biomacromolecules* **2009**, 10 (4), 660–669.

- (40) Jang, N. R.; Kim, H.-R.; Hou, C. T.; Kim, B. S. Novel biobased photo-crosslinked polymer networks prepared from vegetable oil and 2,5-furan diacrylate. *Polym. Adv. Technol.* **2013**, 24 (9), 814–818.
- (41) Kim, S.; Cho, J. K.; Shin, S.; Kim, B.-J. Photo-curing behaviors of bio-based isosorbide dimethacrylate by irradiation of light-emitting diodes and the physical properties of its photo-cured materials. *J. Appl. Polym. Sci.* **2015**, 132 (44), n/a-n/a.
- (42) Matsuda, T.; Magoshi, T. Preparation of Vinylated Polysaccharides and Photofabrication of Tubular Scaffolds as Potential Use in Tissue Engineering. *Biomacromolecules* **2002**, 3 (5), 942–950.
- (43) Nijst, C. L. E.; Bruggeman, J. P.; Karp, J. M.; Ferreira, L.; Zumbuehl, A.; Bettinger, C. J.; Langer, R. Synthesis and Characterization of Photocurable Elastomers from Poly(glycerol-co-sebacate). *Biomacromolecules* **2007**, 8 (10), 3067–3073.
- (44) Łukaszczyk, J.; Janicki, B.; Kożuch, J.; Wojdyła, H. Synthesis and Characterization of Low Viscosity Dimethacrylic Resin Based on Isosorbide. *J. Appl. Polym. Sci.* **2013**, 130 (4), 2514–2522.
- (45) Granat, P.; Pudas, M.; Hormi, O.; Hagberg, J.; Leppävuori, S. Synthesis of acrylated ethylcellulose for UV-curing ink. *Carbohydr. Polym.* **2004**, 57 (2), 225–228.
- (46) Kumar, R. N.; Po, P. L.; Rozman, H. D. Studies on the synthesis of acrylamidomethyl cellulose ester and its application in UV curable surface coatings induced by free radical photoinitiator. Part 1: Acrylamidomethyl cellulose acetate. *Carbohydr. Polym.* **2006**, 64 (1), 112–126.
- (47) Delville, J.; Joly, C.; Dole, P.; Bliard, C. Solid state photocrosslinked starch based films: a new family of homogeneous modified starches. *Carbohydr. Polym.* **2002**, 49 (1), 71–81.
- (48) Vieira, A. P.; Ferreira, P.; Coelho, J. F. J.; Gil, M. H. Photocrosslinkable starch-based polymers for ophthalmologic drug delivery. *Int. J. Biol. Macromol.* **2008**, 43 (4), 325–332.
- (49) Zhou, J.; Zhang, J.; Ma, Y.; Tong, J. Surface photo-crosslinking of corn starch sheets. *Carbohydr. Polym.* **2008**, 74 (3), 405–410.
- (50) Fertier, L.; Ibert, M.; Buffe, C.; Saint-Loup, R.; Joly-Duhamel, C.; Robin, J.-J.; Giani, O. New biosourced UV curable coatings based on isosorbide. *Prog. Org. Coat.* **2016**, 99, 393–399.
- (51) Ferdous, S.; Mustafa, A. I.; Khan, M. A. Study on mechanical properties of photocured films of chitosan/PVA and PEO/PVA blend with acrylic monomers. *J. Macromol. Sci.-Pure Appl. Chem.* **2003**, A40 (8), 817–832.
- (52) Knight, P. T.; Lee, K. M.; Chung, T.; Mather, P. T. PLGA–POSS End-Linked Networks with Tailored Degradation and Shape Memory Behavior. *Macromolecules* **2009**, 42 (17), 6596–6605.
- (53) Kristufek, T. S.; Kristufek, S. L.; Link, L. A.; Weems, A. C.; Khan, S.; Lim, S.-M.; Lonneck, A. T.; Raymond, J. E.; Maitland, D. J.; Wooley, K. L. Rapidly-cured isosorbide-based cross-linked polycarbonate elastomers. *Polym. Chem.* **2016**, 7 (15), 2639–2644.
- (54) Shen, J. Y.; Pan, X. Y.; Lim, C. H.; Chan-Park, M. B.; Zhu, X.; Beuerman, R. W. Synthesis, Characterization, and In Vitro Degradation of a Biodegradable Photo-Cross-Linked Film from Liquid Poly(ϵ -caprolactone-co-lactide-co-glycolide) Diacrylate. *Biomacromolecules* **2007**, 8 (2), 376–385.
- (55) Amsden, B. G.; Misra, G.; Gu, F.; Younes, H. M. Synthesis and Characterization of A Photo-Cross-Linked Biodegradable Elastomer. *Biomacromolecules* **2004**, 5 (6), 2479–2486.
- (56) Åkesson, D.; Skrifvars, M.; Lv, S.; Shi, W.; Adekunle, K.; Seppälä, J.; Turunen, M. Preparation of nanocomposites from biobased thermoset resins by UV-curing. *Prog. Org. Coat.* **2010**, 67 (3), 281–286.

- (57) Baştürk, E.; Kahraman, M. V. Photocrosslinked biobased phase change material for thermal energy storage. *J. Appl. Polym. Sci.* **2016**, *133* (32), n/a-n/a.
- (58) Dai, J.; Ma, S.; Wu, Y.; Zhu, J.; Liu, X. High bio-based content waterborne UV-curable coatings with excellent adhesion and flexibility. *Prog. Org. Coat.* **2015**, *87*, 197–203.
- (59) Mülazim, Y.; Çakmakçı, E.; Kahraman, M. V. Preparation of photo curable highly hydrophobic coatings using a modified castor oil derivative as a sol–gel component. *Prog. Org. Coat.* **2011**, *72* (3), 394–401.
- (60) Pelletier, H.; Belgacem, N.; Gandini, A. Acrylated vegetable oils as photocrosslinkable materials. *J. Appl. Polym. Sci.* **2006**, *99* (6), 3218–3221.
- (61) Rao, B. S.; Palanisamy, A. Photocuring and thermomechanical properties of multifunctional amide acrylate compositions derived from castor oil. *Prog. Org. Coat.* **2010**, *67* (1), 6–11.
- (62) Rengasamy, S.; Mannari, V. Development of soy-based UV-curable acrylate oligomers and study of their film properties. *Prog. Org. Coat.* **2013**, *76* (1), 78–85.
- (63) Rengasamy, S.; Mannari, V. UV-curable PUDs based on sustainable acrylated polyol: Study of their hydrophobic and oleophobic properties. *Prog. Org. Coat.* **2014**, *77* (3), 557–567.
- (64) Shibata, M.; Kaneko, K.; Kakihara, T. Supramolecular composites of photocured acrylated epoxidized soybean oil and fibers formed by the self-assembly of low molecular weight organic gelators. *Polym. J.* **2011**, *43* (6), 552–558.
- (65) Jellali, R.; Campistron, I.; Pasetto, P.; Laguerre, A.; Gohier, F.; Hellio, C.; Pilard, J.-F.; Mouget, J.-L. Antifouling activity of novel polyisoprene-based coatings made from photocurable natural rubber derived oligomers. *Prog. Org. Coat.* **2013**, *76* (9), 1203–1214.
- (66) Le Xuan, H.; Decker, C. Photocrosslinking of acrylated natural rubber. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **1993**, *31* (3), 769–780.
- (67) Tajau, Rida; Ibrahim, Mohammad Izzat; Yunus, Nurulhuda Mohod; Mahmood, Mohd Hilmi; Salleh, Mek Zah; Salleh, Nik Ghazali Nik. Development of Palm Oil-Based UV-Curable Epoxy Acrylate and Urethane Acrylate Resins For Wood Coating Application. *Adv. Nucl. Res. Energy Dev.* **2014**, *1584*, 164–169.
- (68) Chen, J.; Soucek, M. D.; Simonsick, W. J.; Celikay, R. W. Synthesis and photopolymerization of norbornyl epoxidized linseed oil. *Polymer* **2002**, *43* (20), 5379–5389.
- (69) Remeikyte, A.; Ostrauskaite, J.; Grazuleviciene, V. Synthesis and properties of photocross-linked polymers of epoxidized linseed oil with different reactive diluents. *J. Appl. Polym. Sci.* **2013**, *129* (3), 1290–1298.
- (70) Roumanet, P.-J.; Laflèche, F.; Jarroux, N.; Raoul, Y.; Claude, S.; Guégan, P. Novel aliphatic polyesters from an oleic acid based monomer. Synthesis, epoxidation, cross-linking and biodegradation. *Eur. Polym. J.* **2013**, *49* (4), 813–822.
- (71) Samuelsson, J.; Sundell, P.-E.; Johansson, M. Synthesis and polymerization of a radiation curable hyperbranched resin based on epoxy functional fatty acids. *Prog. Org. Coat.* **2004**, *50* (3), 193–198.
- (72) Shibata, M.; Nakai, K. Preparation and properties of biocomposites composed of bio-based epoxy resin, tannic acid, and microfibrillated cellulose. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **2010**, *48* (4), 425–433.
- (73) Sung, J.; Li, Y.; Sun, X. S. Plasticization effects of dihydroxyl soybean oil improve flexibilities of epoxy-based films for coating applications. *J. Appl. Polym. Sci.* **2015**, *132* (14), n/a-n/a.
- (74) Torres-Giner, S.; Montanes, N.; Fenollar, O.; García-Sanoguera, D.; Balart, R. Development and optimization of renewable vinyl plastisol/wood flour composites exposed to ultraviolet radiation. *Mater. Des.* **2016**, *108*, 648–658.

- (75) Zou, K.; Soucek, M. D. UV-Curable Cycloaliphatic Epoxide Based on Modified Linseed Oil: Synthesis, Characterization and Kinetics. *Macromol. Chem. Phys.* **2005**, 206 (9), 967–975.
- (76) Kumar, R. N.; Mehnert, R.; Scherzer, T.; Bauer, F. Application of Real Time FTIR and MAS NMR Spectroscopy to the Characterization of UV/EB Cured Epoxidized Natural Rubber Blends. *Macromol. Mater. Eng.* **2001**, 286 (10), 598–604.
- (77) Lorenzini, C.; Versace, D. L.; Renard, E.; Langlois, V. Renewable epoxy networks by photoinitiated copolymerization of poly(3-hydroxyalkanoate)s and isosorbide derivatives. *React. Funct. Polym.* **2015**, 93 (1), 95–100.
- (78) Zhang, B.; Uyama, H. Biomimic Plant Cuticle from Hyperbranched Poly(ricinoleic acid) and Cellulose Film. *Acs Sustain. Chem. Eng.* **2016**, 4 (1), 363–369.
- (79) Lorenzini, C.; Haider, A.; Kang, I.-K.; Sangermano, M.; Abbad-Andalloussi, S.; Mazeran, P.-E.; Lalevée, J.; Renard, E.; Langlois, V.; Versace, D.-L. Photoinduced Development of Antibacterial Materials Derived from Isosorbide Moiety. *Biomacromolecules* **2015**, 16 (3), 683–694.
- (80) Ortiz, R. A.; Garcia Valdéz, A. E.; Martinez Aguilar, M. G.; Berlanga Duarte, M. L. An effective method to prepare sucrose polymers by Thiol-Ene photopolymerization. *Carbohydr. Polym.* **2009**, 78 (2), 282–286.
- (81) Link, L. A.; Lonneck, A. T.; Hearon, K.; Maher, C. A.; Raymond, J. E.; Wooley, K. L. Photo-cross-linked Poly(thioether-co-carbonate) Networks Derived from the Natural Product Quinic Acid. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, 6 (20), 17370–17375.
- (82) Chen, Z.; Chisholm, B. J.; Patani, R.; Wu, J. F.; Fernando, S.; Jogodzinski, K.; Webster, D. C. Soy-based UV-curable thiol-ene coatings. *J Coat Technol Res* **2010**, 7 (5), 603.
- (83) Yoshimura, T.; Shimasaki, T.; Teramoto, N.; Shibata, M. Bio-based polymer networks by thiol-ene photopolymerizations of allyl-etherified eugenol derivatives. *Eur. Polym. J.* **2015**, 67 (1), 397–408.
- (84) Yang, G.; Kristufek, S. L.; Link, L. A.; Wooley, K. L.; Robertson, M. L. Synthesis and Physical Properties of Thiol-Ene Networks Utilizing Plant-Derived Phenolic Acids. *Macromolecules* **2015**, 48 (23), 8418–8427.
- (85) Luo, A.; Jiang, X.; Lin, H.; Yin, J. “Thiol-ene” photo-cured hybrid materials based on POSS and renewable vegetable oil. *J. Mater. Chem.* **2011**, 21 (34), 12753–12760.
- (86) Ma, S.; Jiang, Y.; Liu, X.; Fan, L.; Zhu, J. Bio-based tetrafunctional crosslink agent from gallic acid and its enhanced soybean oil-based UV-cured coatings with high performance. *Rsc Adv.* **2014**, 4 (44), 23036–23042.
- (87) Bigot, S.; Daghrir, M.; Mhanna, A.; Boni, G.; Pourchet, S.; Lecamp, L.; Plasseraud, L. Undecylenic acid: A tunable bio-based synthon for materials applications. *Eur. Polym. J.* **2016**, 74, 26–37.
- (88) Andrzejewska, E.; Andrzejewski, M.; Jeczalik, J.; Sterzynski, T. Composites of photocured acrylic resins with natural and polymeric fibers. *Polimery* **2009**, 54 (5), 382–385.
- (89) Amsden, B. G.; Misra, G.; Gu, F.; Younes, H. M. Synthesis and Characterization of A Photo-Cross-Linked Biodegradable Elastomer. *Biomacromolecules* **2004**, 5 (6), 2479–2486.
- (90) Amsden, B. G.; Tse, M. Y.; Turner, N. D.; Knight, D. K.; Pang, S. C. In Vivo Degradation Behavior of Photo-Cross-Linked star-Poly(ϵ -caprolactone-co-d,l-lactide) Elastomers. *Biomacromolecules* **2006**, 7 (1), 365–372.
- (91) Li, W.; Wu, Y.; Liang, W.; Li, B.; Liu, S. Reduction of the Water Wettability of Cellulose Film through Controlled Heterogeneous Modification. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, 6 (8), 5726–5734.

- (92) Łukaszczyk, J.; Janicki, B.; Kożuch, J.; Wojdyła, H. Synthesis and Characterization of Low Viscosity Dimethacrylic Resin Based on Isosorbide. *J. Appl. Polym. Sci.* **2013**, *130* (4), 2514–2522.
- (93) Killops, K. L.; Campos, L. M.; Hawker, C. J. Robust, Efficient, and Orthogonal Synthesis of Dendrimers via Thiol-ene “Click” Chemistry. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130* (15), 5062–5064.
- (94) Service, R. F. Click Chemistry Clicks Along. *Science* **2008**, *320* (5878), 868–869.
- (95) Dai, J.; Ma, S.; Liu, X.; Han, L.; Wu, Y.; Dai, X.; Zhu, J. Synthesis of bio-based unsaturated polyester resins and their application in waterborne UV-curable coatings. *Prog. Org. Coat.* **2015**, *78*, 49–54.
- (96) Zovi, O.; Lecamp, L.; Loutelier-Bourhis, C.; Lange, C. M.; Bunel, C. A solventless synthesis process of new UV-curable materials based on linseed oil. *Green Chem.* **2011**, *13* (4), 1014–1022.
- (97) Zhao, Y. H.; Hupin, S.; Lecamp, L.; Vuluga, D.; Afonso, C.; Burel, F.; Loutelier-Bourhis, C. Thiol-ene chemistry of vegetable oils and their derivatives under UV and air: a model study by using infrared spectroscopy and mass spectrometry. *RSC Adv.* **2017**, *7* (6), 3343–3352.
- (98) Prandato, E.; Livi, S.; Melas, M.; Auclair, J.; Verney, V.; Fleury, E.; Méchin, F. Effect of bio-based monomers on the scratch resistance of acrylate photopolymerizable coatings. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **2015**, *53* (5), 379–388.
- (99) Fertier, L.; Ibert, M.; Buffe, C.; Saint-Loup, R.; Joly-Duhamel, C.; Robin, J.-J.; Giani, O. New biosourced UV curable coatings based on isosorbide. *Prog. Org. Coat.* **2016**, *99*, 393–399.
- (100) Lorenzini, C.; Haider, A.; Kang, I.-K.; Sangermano, M.; Abbad-Andalloussi, S.; Mazeran, P.-E.; Lalevée, J.; Renard, E.; Langlois, V.; Versace, D.-L. Photoinduced Development of Antibacterial Materials Derived from Isosorbide Moiety. *Biomacromolecules* **2015**, *16* (3), 683–694.
- (101) Claudino, M.; Jonsson, M.; Johansson, M. Utilizing thiol-ene coupling kinetics in the design of renewable thermoset resins based on D-limonene and polyfunctional thiols. *RSC Adv.* **2014**, *4* (20), 10317–10329.
- (102) Claudino, M.; Mathevet, J.-M.; Jonsson, M.; Johansson, M. Bringing D-limonene to the scene of bio-based thermoset coatings via free-radical thiol-ene chemistry: macromonomer synthesis, UV-curing and thermo-mechanical characterization. *Polym. Chem.* **2014**, *5* (9), 3245–3260.
- (103) Uemura, Y.; Shimasaki, T.; Teramoto, N.; Shibata, M. Thermal and mechanical properties of bio-based polymer networks by thiol-ene photopolymerizations of gallic acid and pyrogallol derivatives. *J. Polym. Res.* **2016**, *23* (10), 216.
- (104) Yoshimura, T.; Shimasaki, T.; Teramoto, N.; Shibata, M. Bio-based polymer networks by thiol-ene photopolymerizations of allyl-etherified eugenol derivatives. *Eur. Polym. J.* **2015**, *67* (1), 397–408.
- (105) Ishida, K.; Hortensius, R.; Luo, X.; Mather, P. T. Soft bacterial polyester-based shape memory nanocomposites featuring reconfigurable nanostructure. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **2012**, *50* (6), 387–393.
- (106) Levine, A. C.; Heberlig, G. W.; Nomura, C. T. Use of thiol-ene click chemistry to modify mechanical and thermal properties of polyhydroxyalkanoates (PHAs). *Int. J. Biol. Macromol.* **2016**, *83*, 358–365.
- (107) Condat, M.; Helary, C.; Coradin, T.; Dubot, P.; Babinot, J.; Faustini, M.; Andaloussi, S. A.; Renard, E.; Langlois, V.; Versace, D.-L. Design of cytocompatible bacteria-repellent bio-based polyester films via an aqueous photoactivated process. *J. Mater. Chem. B* **2016**, *4* (16), 2842–2850.

- (108) Shibata, M.; Teramoto, N.; Someya, Y.; Suzuki, S. Bio-Based Nanocomposites Composed of Photo-Cured Epoxidized Soybean Oil and Supramolecular Hydroxystearic Acid Nanofibers. *J. Polym. Sci. Part B-Polym. Phys.* **2009**, *47* (7), 669–673.
- (109) Zhao, Y. H.; Vuluga, D.; Lecamp, L.; Burel, F. Photoinitiated thiol–epoxy addition for the preparation of photoinduced self-healing fatty coatings. *RSC Adv.* **2016**, *6* (38), 32098–32105.
- (110) Condat, M.; Mazeran, P.-E.; Malval, J.-P.; Lalevée, J.; Morlet-Savary, F.; Renard, E.; Langlois, V.; Andalloussi, S. A.; Versace, D.-L. Photoinduced curcumin derivative-coatings with antibacterial properties. *RSC Adv.* **2015**, *5* (104), 85214–85224.
- (111) Kasetaitė, S.; Ostrauskaitė, J.; Grazuleviciene, V.; Svediene, J.; Bridziuvienė, D. Photocross-linking of glycerol diglycidyl ether with reactive diluents. *Polym. Bull.* **2015**, *72* (12), 3191–3208.
- (112) Condat, M.; Babinot, J.; Tomane, S.; Malval, J.-P.; Kang, I.-K.; Spillebout, F.; Mazeran, P.-E.; Lalevée, J.; Andalloussi, S. A.; Versace, D.-L. Development of photoactivable glycerol-based coatings containing quercetin for antibacterial applications. *RSC Adv.* **2016**, *6* (22), 18235–18245.
- (113) Lorenzini, C.; Versace, D. L.; Renard, E.; Langlois, V. Renewable epoxy networks by photoinitiated copolymerization of poly(3-hydroxyalkanoate)s and isosorbide derivatives. *React. Funct. Polym.* **2015**, *93* (1), 95–100.
- (114) Nagata, M.; Inaki, K. Synthesis and characterization of photocrosslinkable poly(l-lactide)s with a pendent cinnamate group. *Eur. Polym. J.* **2009**, *45* (4), 1111–1117.
- (115) Na, H.-N.; Park, S.-H.; Kim, K.-I.; Kim, M. K.; Son, T.-I. Photocurable O-carboxymethyl chitosan derivatives for biomedical applications: Synthesis, in vitro biocompatibility, and their wound healing effects. *Macromol. Res.* **2012**, *20* (11), 1144–1149.
- (116) Zheng, X.; Weng, J.; Li, S.; Liu, H.; Hu, B.; Li, Y.; Meng, X.; Ruan, H. Anticorrosive ultrathin film derived from bio-based urushiol-Ti by layer-by-layer self-assembly. *Chem. Eng. J.* **2014**, *245*, 265–275.
- (117) Son, T. I.; Sakuragi, M.; Takahashi, S.; Obuse, S.; Kang, J.; Fujishiro, M.; Matsushita, H.; Gong, J.; Shimizu, S.; Tajima, Y.; et al. Visible light-induced crosslinkable gelatin. *Acta Biomater.* **2010**, *6* (10), 4005–4010.
- (118) García-Astrain, C.; Peña-Rodríguez, C.; Retegi, A.; Eceiza, A.; Corcuera, M. A.; Gabilondo, N. Green chemistry for the cross-linking of photo-sensitive furan modified gelatin. *Mater. Lett.* **2015**, *160*, 142–145.
- (119) Koleilat, H.; Giani, O.; Joly-Duhamel, C.; Robin, J.-J. Syntheses of donor acceptor biobased photocurable water-soluble resins based on poly-l-lysine. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2015**, *53* (8), 955–963.
- (120) Wang, Y.-S.; Cheng, C.-C.; Ye, Y.-S.; Yen, Y.-C.; Chang, F.-C. Bioinspired Photo-Cross-Linked Nanofibers from Uracil-Functionalized Polymers. *ACS Macro Lett.* **2012**, *1* (1), 159–162.
- (121) Piozzi, A.; Francolini, I.; Occhiaperti, L.; Venditti, M.; Marconi, W. Polyurethanes Loaded With Antibiotics: Influence of Polymer-Antibiotic Interactions on in Vitro Activity Against Staphylococcus Epidermidis <https://ncbi.nlm.nih.gov/labs/articles/15565910/> (accessed May 24, 2017).
- (122) McLean, R. J.; Hussain, A. A.; Sayer, M.; Vincent, P. J.; Hughes, D. J.; Smith, T. J. Antibacterial activity of multilayer silver-copper surface films on catheter material. *Can. J. Microbiol.* **1993**, *39* (9), 895–899.
- (123) Wataha, J. c.; Lockwood, P. e.; Schedle, A. Effect of silver, copper, mercury, and nickel ions on cellular proliferation during extended, low-dose exposures. *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, *52* (2), 360–364.

- (124) Arnt, L.; Nüsslein, K.; Tew, G. N. Nonhemolytic abiogenic polymers as antimicrobial peptide mimics. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2004**, 42 (15), 3860–3864.
- (125) Iemma, F.; Puoci, F.; Curcio, M.; Parisi, O. I.; Cirillo, G.; Spizzirri, U. G.; Picci, N. Ferulic acid as a comonomer in the synthesis of a novel polymeric chain with biological properties. *J. Appl. Polym. Sci.* **2010**, 115 (2), 784–789.
- (126) Park, E.-S.; Moon, W.-S.; Song, M.-J.; Kim, M.-N.; Chung, K.-H.; Yoon, J.-S. Antimicrobial activity of phenol and benzoic acid derivatives. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2001**, 47 (4), 209–214.
- (127) Mussard, W.; Kebir, N.; Kriegel, I.; Estève, M.; Semetey, V. Facile and Efficient Control of Bioadhesion on Poly(dimethylsiloxane) by Using a Biomimetic Approach. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50 (46), 10871–10874.
- (128) Ma, H.; Davis, R. H.; Bowman, C. N. A Novel Sequential Photoinduced Living Graft Polymerization. *Macromolecules* **2000**, 33 (2), 331–335.

Chapitre II : Réseaux obtenus par réaction thiol-ène photoamorcée

II.1 Introduction

Dans le chapitre précédent, il a été démontré combien la biomasse et les différentes macromolécules ou synthons biosourcés qu'elle renferme pouvaient être une alternative prometteuse et réaliste au carbone fossile.

De plus, cet état de l'art a mis en évidence que bien que cette biomasse soit d'une extrême diversité, seule une faible partie de celle-ci est à ce jour exploitée pour la synthèse de matériaux biosourcés. En effet, seules les plantes lignocellulosiques et les végétaux à réserve glucidiques ou lipidiques, du fait de leurs disponibilités et de leurs abondances sont réellement valorisés. Dans ce chapitre, nous nous sommes donc intéressés à la synthèse de matériaux biosourcés par réaction thiol-ène photoamorcée. En effet, la réaction de thiolène est à ce jour reconnue comme une voie de synthèse qui s'inscrit parfaitement dans les principes de la chimie verte puisqu'elle est particulièrement rapide (ici moins de 300s), qu'elle n'utilise aucun catalyseur métallique et qu'elle ne nécessite que peu ou pas de solvant (Lowe, *Polym. Chem*, 48, 2010 ; Jing, *Macromolecules*, 43, 2010). Elle peut également être réalisée sans photoamorceur (Cramer, *Macromolecules*, 35, 2002) mais ceci induit une cinétique de réaction extrêmement lente ainsi, l'utilisation d'un photoamorceur tel que le 2,2-diméthoxy-2-phénylacétophénone (ou DMPA) est plus intéressante puisqu'il permet l'obtention de réseaux en quelques minutes.

Parmi les différents composés de la biomasse, les huiles essentielles connaissent un essor fulgurant depuis une dizaine d'années puisqu'elles sont désormais reconnues comme ayant des propriétés antimicrobiennes et antifongiques (Nostro, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 97, 2013 ; Lang, *Flavour and Fragrance J.*, 27, 2012 ; Iacobellis, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 2005 ; Kubo, *J. Agric. Food Chem.*, 52, 2004 ; Shah, *J. Biosci. Bioeng.*, 115, 2013). Diverses études ont été menées sur des matériaux renfermant ces huiles essentielles pour produire des matériaux actifs par polymérisation (Arrieta, *Eur. Polym. J.*, 50, 2014 ; Mourtzinou, *J. Food Sci.*, 73, 2008 ; Robertson, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 3, 2011 ; Sanchez-Gonzalez, *Food Control*, 22, 2011 ; Tackenberg, *J. Food Eng.*, 135, 2014) ou en mélange avec une matrice (thermoplastique) de polymère (Pa, *Macromol. Rapid Commun.*, 1, 2013 ; Holmberg, *Soft Matter*, 10, 2014 ; Barros, *Eur. J. Org. Chem.*, 2007, 2007 ; Firdaus, *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.*, 116, 2014 ; Singh, J.

Appli. Polym. Sci., 125, 2012). Cependant, leurs propriétés antimicrobiennes et antifongiques ne sont que temporaires et s'estompent avec la diffusion des composés volatiles. De plus, le procédé de mise en œuvre, principalement thermique, induit également une perte de ces composés.

En outre, les huiles essentielles sont un mélange extrêmement complexe de différents composants (monoterpènes, sesquiterpènes, alcools, esters, aldéhydes, oxydes etc.) mais, les propriétés biologiques de chacun d'entre eux ne sont pas clairement définies.

Il apparaît cependant dans la littérature que les dérivés terpéniques porteurs de fonctions oxygénées semblent avoir une activité plus importante que leurs homologues carbonés (Zygadlo, *Curr. Top. Phytochem.* 3,2000) et que les dérivés phénoliques sont impliqués dans le mécanisme d'action contre les bactéries (Akiyama, *J. Antimicrob. Chemother.* 48, 2001; Funatogawa, *Microbiol. Immunol.* 48, 2004; Pyla, *Int. J. Food Microbiol.*, 137, 2010 ; Chen, *Biotechnol. Bioeng.*, 101, 2009 ; Burt, *Int. J. Food Microbiol.*, 94, 2004).

Par ailleurs, il n'est pas à exclure qu'un effet synergique entre les différents composés des huiles essentielles soit à l'origine d'une exacerbation de ces propriétés antimicrobiennes. En tenant compte de cette relative complexité, nous avons décidé de sélectionner différents monoterpènes et/ou composés phénoliques extraits des huiles essentielles dont les propriétés antibactériennes sont clairement reconnues : le **linalol** (Iacobellis, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 2005; Kubo, *J. Agric. Food Chem.*, 52, 2004; Habibi, *Chem. Nat. Compd.*, 46, 2010; Lo Cantore, *J. Agric. Food Chem.*, 52, 2004; Park, *Anaerobe*, 18, 2012), monoterpène linéaire porteur d'un groupement hydroxyle présent dans la plupart des huiles essentielles notamment celle de lavande ou de bois de rose ; l'**eugénol**, composé phénolique extrait de l'huile essentielle de clou de girofle (Chen, *Biotechnol. Bioeng.*, 104, 2009 ; Burt, *Int. J. Food. Microbiol.*, 94, 2004). Ces derniers sont présentés dans la **Figure 83**.

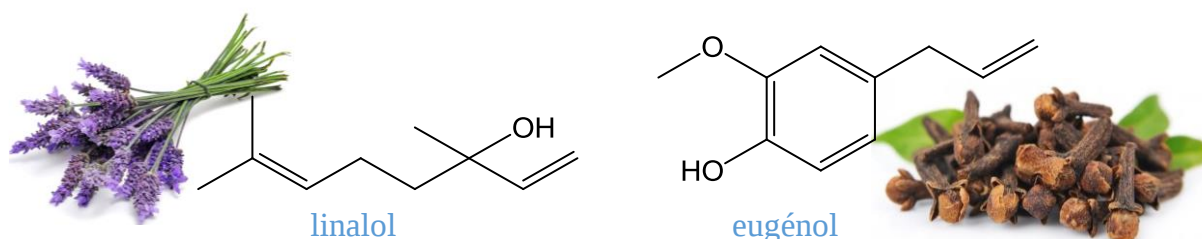


Figure 83: Synthons issus des huiles essentielles sélectionnés dans le cadre de cette étude.

Comme nous l'avons vu dans le chapitre I, le linalol et l'eugénol possèdent une ou plusieurs insaturations qui peuvent être engagées dans des réactions de type thiol-ène. De plus, ces composés possèdent des propriétés de solvant particulièrement intéressantes dans le cadre de l'élaboration de matériaux biosourcés ainsi, aucun solvant additionnel ne sera nécessaire à la synthèse de nos matériaux sous illumination ce qui est en parfaite adéquation avec les principes de la chimie verte.

L'objectif de cette étude est donc l'élaboration de matériaux photoréticulés biosourcés et de démontrer que l'activité antibactérienne de ces dérivés est conservée malgré l'immobilisation des molécules bioactives. A ce jour, une seule étude a été menée sur les propriétés antiadhésives d'un revêtement obtenu par polymérisation plasma du terpinène-4-ol (*Bazaka, Polymers*, 3, 2011). D'autres matériaux ont également été très récemment synthétisés par une réaction de thiol-ène photoamorcée à partir du limonène mais aucune étude sur une potentielle activité antibactérienne n'a été reportée (*Claudino, Polymer Chem.*, 5, 2014). D'autre part, aucune étude n'a été menée à notre connaissance sur des matériaux obtenus par réaction de thiol-ène impliquant le linalol.

La première partie de ce chapitre porte sur une étude préliminaire relative aux réseaux 100% linalol puis nous détaillerons la formation de co-réseaux isosorbide-linalol. La deuxième partie sera consacrée à la synthèse de co-réseaux à partir d'un dérivé de l'eugénol et du linalol ou de l'eugénol natif. Les parties II.3 et II.4 porteront sur l'élaboration de réseaux hybrides à base de nanoparticules (NPs) d'oxyde de zinc (ZnO) ou de systèmes réservoirs à base de carvacrol ou d'acide tannique. Enfin, la dernière partie présentera les premiers résultats sur la synthèse de co-réseaux à base de PHBHV et de linalol.

Les propriétés mécaniques et thermiques des réseaux préparés, ainsi que leurs activités antibactériennes contre deux souches bactériennes *Escherichia coli* (*E. coli*) Gram négatif et *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) Gram positif et leurs propriétés antioxydantes ont été évaluées afin de faire émerger les systèmes les plus prometteurs.

II.2 Etude préliminaire

Une étude préliminaire a d'abord été effectuée sur l'élaboration de réseaux 100% terpènes.

Les réseaux sont préparés par réaction entre le linalol et un agent réticulant, le triméthylolpropane tris(3-mercaptopropionate) (Trithiol). Afin d'atteindre une conversion totale, une stœchiométrie SH/C=C a été conservée lors de l'élaboration des réseaux (**Figure 84**). Après irradiation en présence du DMPA comme photoamorceur, des réseaux extrêmement souples du fait de la flexibilité de la liaison thioéther (Claudino, *Polym. Chem*, 5,2014 ; Carlsson, *ACS Symposium Series*, 847, 2003 ; Sangermano, *React. Funct. Polym.*, 69, 2009) et transparents ont été obtenus.

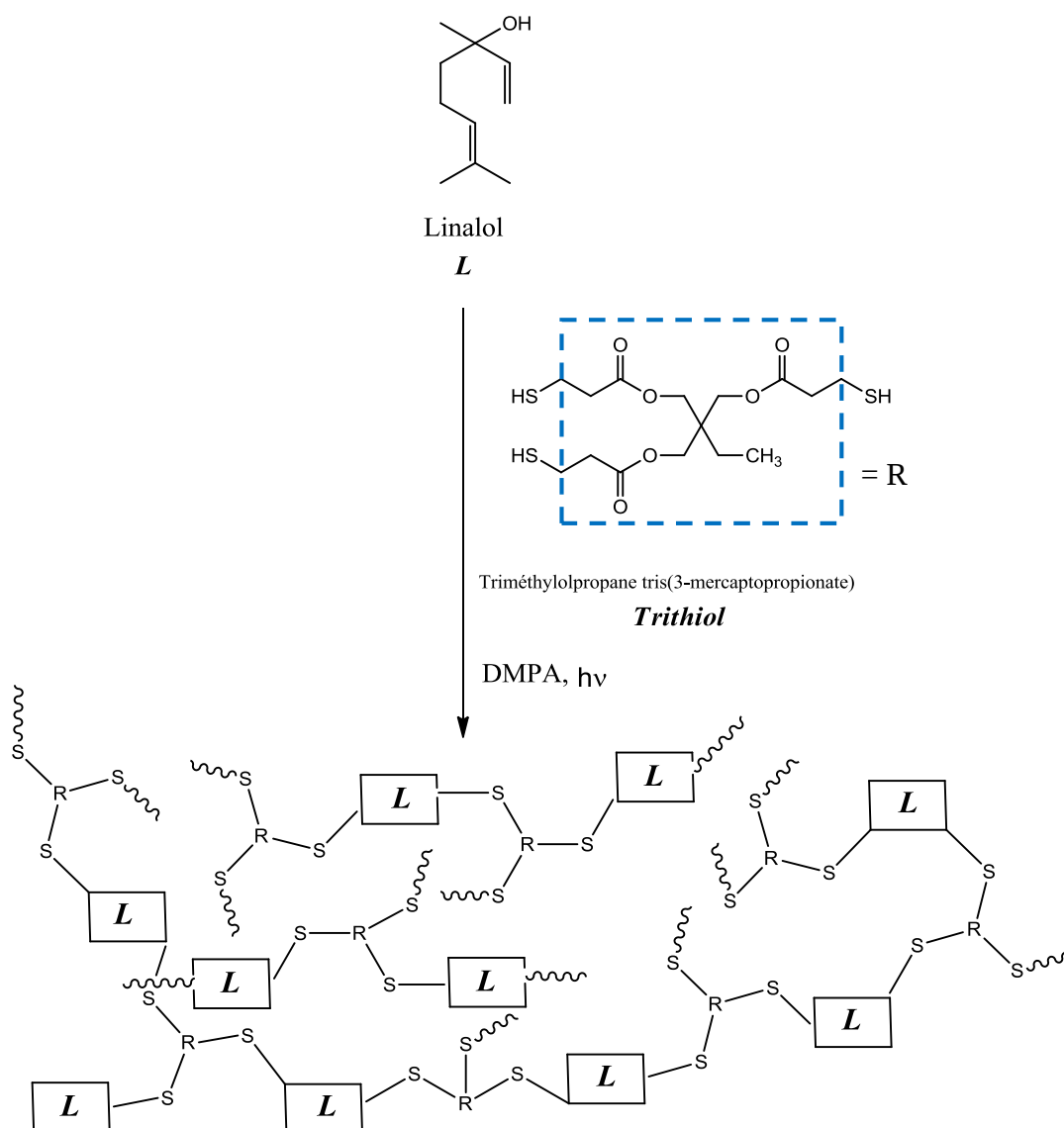


Figure 84: Formation des réseaux à base de linalol.



Figure 85: Photographie d'un film 100% linalol sur lame de verre

En raison de leur caractère adhésif très prononcé (**Figure 85**), les réseaux sont difficilement manipulables, et de ce fait n'ont pu être caractérisés que partiellement. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le **Tableau 9**.

Tableau 9: Caractérisations du film 100% linalol

Angle de contact ^{a)} (°)	93 ± 2
Taux de conversion des fonctions C=C ^{b)} (%)	98 ± 2
Extractibles ^{c)} (%)	4 ± 3
T _v ^{d)} (°C)	-25
T _f ^{d)} (°C)	113

^{a)}Déterminé par mesure de l'angle de contact avec de l'eau ; ^{b)}Déterminé par spectroscopie InfraRouge ;

^{c)}Déterminé par gravimétrie ; ^{d)}Déterminé par DSC

Contrairement aux résultats attendus, la présence de fonctions OH sur le squelette carboné n'induit pas une diminution de l'angle de contact de nos réseaux. En effet, la valeur mesurée pour l'angle de contact est caractéristique d'une surface hydrophobe. Ceci peut être expliqué par une internalisation des groupements hydroxyles qui, n'étant pas tous orientés à la surface du matériau, ne permettent pas une augmentation de l'hydrophilie de la surface.

L'analyse par spectroscopie Infra Rouge par Transformée de Fourier (FTIR) en mode ATR du mélange réactionnel avant et après irradiation a permis la détermination du taux de conversion des fonctions C=C après une normalisation des spectres sur la bande carbonyle des esters à 1735cm⁻¹ via l'équation suivante:

Équation 1

$$\alpha = \left(\frac{R_0 - R_t}{R_0} \right) \times 100 \text{ Avec } R_0 = \frac{I_{C=C}}{I_{C=O}}, \text{ avant irradiation et } R_t = \frac{I_{C=C}}{I_{C=O}}, \text{ après irradiation}$$

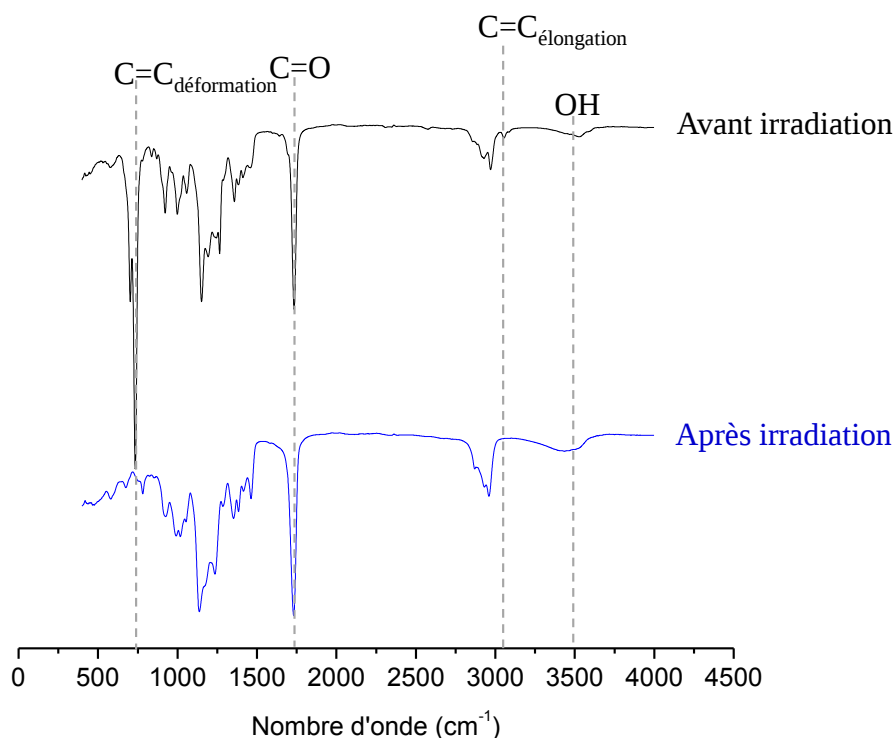


Figure 86: Spectres Infra-Rouge du mélange 100% linalol avant irradiation (noir) et du film après irradiation (lampe LC8, Intensité 100%) (bleu).

Comme on peut le constater sur la **Figure 86** avec la disparition quasi totale de la bande caractéristique de la déformation de la double liaison carbonée à 725cm^{-1} , une conversion proche de 100% a été obtenue (**Tableau 9**). De plus, on constate la présence de fonctions OH du linalol.

La caractérisation thermique des réseaux a été effectuée par calorimétrie différentielle à balayage (DSC). La valeur de la température de transition vitreuse (T_v) relativement faible (-25°C) est en accord avec la grande souplesse des matériaux obtenus (**Tableau 9**).

Finalement, la détermination par gravimétrie du taux d'extractibles effectuée dans l'éther diéthylique confirme les résultats obtenus pour la conversion puisque celui-ci est inférieur à 5%.

Malheureusement, du fait de la linéarité du linalol et la flexibilité du réseau due à la souplesse de la liaison thioéther et du caractère adhésif (le film a tendance à coller sur lui-même) du matériau, son utilisation semble compromise. Il pourrait, cependant être valorisé pour une application de type revêtement. Compte tenu de l'objectif recherché pour ce travail de thèse, à savoir une orientation matériau, nous avons cherché à augmenter les propriétés mécaniques des réseaux. L'augmentation de la rigidité du matériau peut être obtenue par l'augmentation de la densité de réticulation en sélectionnant des molécules de fonctionnalité supérieure ou bien par

l'introduction de monomères plus rigides. C'est cette dernière stratégie que nous avons choisie pour la suite de cette étude.

II.3 Synthèse de co-réseaux à base d'isosorbide fonctionnalisé et de linalol

II.3.1 Introduction du sous chapitre

L'étude préliminaire effectuée sur les films 100% linalol, monoterpène oxygéné, a démontré la nécessité d'associer ces synthons biosourcés à d'autres synthons cycliques afin d'augmenter les propriétés mécaniques des films obtenus par réaction thiol-ène.

Ainsi, le choix d'une molécule cyclique et donc relativement rigide s'est avéré particulièrement intéressant. L'isosorbide (1,4:3,6-dianhydro-D-sorbitol), synthétisé par la double déshydratation du sorbitol s'inscrit parfaitement dans notre thématique puisqu'il est issu de ressources renouvelables mais est aussi disponible en quantité industrielle. De plus, sa rigidité, sa chiralité, sa non-toxicité et son origine biosourcée font de ce synthon une molécule très attractive (Stoss, *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 1991 ; Thiem, *Polym. Bull.*, 11, 1984; Chatti, *J. Macromol. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 51, 2013; Kricheldorf, *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. Phys.*, 37, 1997; Kricheldorf, *J. Macromol. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 44, 2007).

La première partie de ce chapitre sera donc dédiée à l'élaboration de co-réseaux à base d'isosorbide difonctionnalisé par une réaction de Williamson afin d'obtenir un composé porteur de deux doubles liaisons carbonées allyliques à l'aide du bromure d'allyle. Ce dérivé de l'isosorbide associé à un polythiol (identique à l'étude préliminaire précédente) et au linalol également porteur de deux insaturations ont conduit à la synthèse de matériaux souples et transparents dont les propriétés mécanique et thermique ont été étudiées. De plus, la conservation de l'activité antibactérienne du linalol lié de façon covalente au réseau a été déterminée contre deux souches bactériennes *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. En effet, ces deux bactéries sont les souches les plus communément utilisées dans la littérature pour l'étude des propriétés antibactériennes puisqu'elles font parties des souches responsables des infections nosocomiales (OMS, <http://www.who.int/gpsc/background/fr/>; B. Coignard, D. Rahib, *Infections à Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (Sarm) dans les établissements de santé, France, 2005 2008 – Analyse épidémiologique des données transmises dans le cadre des bilans standardisés des activités de lutte contre les infections nosocomiales*, (2009) 40 ; H. Aubry-Damon, A. Carbonne, N. Marty, V. Jarlier, *Staphylococcus aureus de*

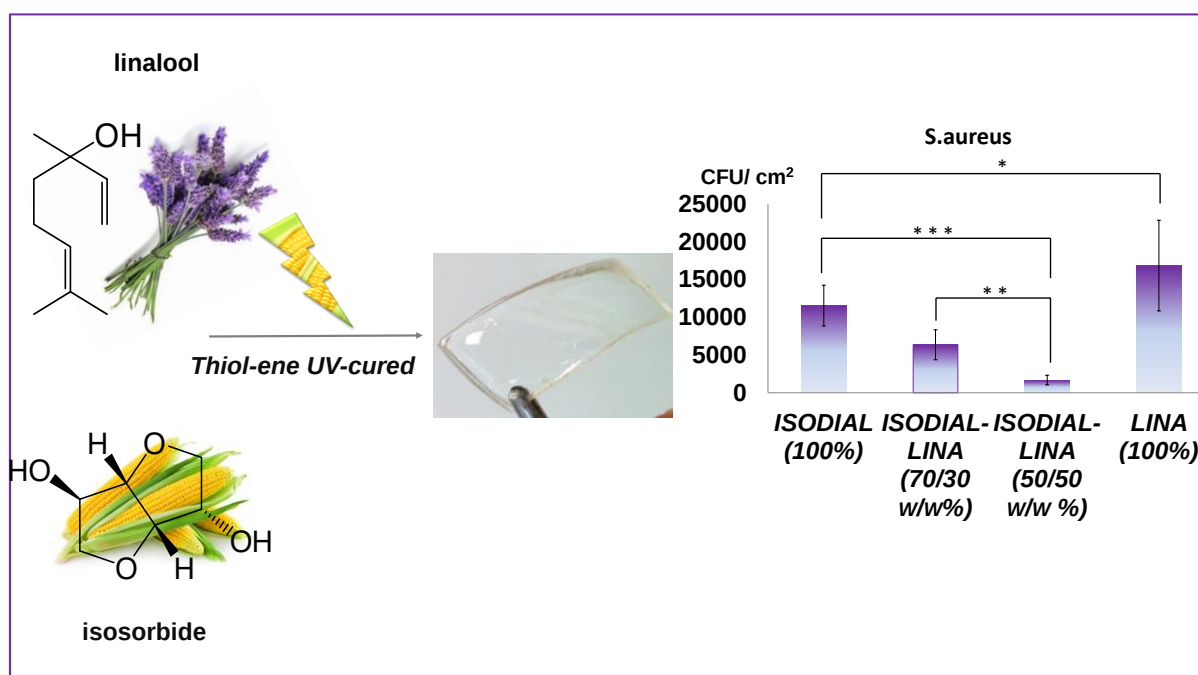
sensibilité diminuée aux glycopeptides (GISA) dans les hôpitaux en France, 2000-2001, (2004) 35.).

Les résultats de cette étude seront présentés dans l'article suivant : Antibacterial networks based on isosorbide and linalool by photoinitiated process publié dans ACS Sustainable Chemistry & Engineering (3, 2015, 1094-1100).

Antibacterial Networks Based on Isosorbide and Linalool by Photoinitiated Process

ACS Sustainable Chemistry and Engineering, 3, 2015, 1094-1100

Tina Modjinou, Davy-Louis Versace, Samir Abbad-Andaloussi, Nouredine Bousserrhine,
Julien Babinot, Valérie Langlois and Estelle Renard



II.3.2 Abstract

In this study, we used photo-induced thiol-ene reactions to design bio-based crosslinked networks from diallyl derivative isosorbide, a crude monoterpene as linalool and a trithiol. The aim of this study is to prepare new antibacterial UV-cured networks by using a thiol-ene formulation with covalent immobilization of monoterpenes as antibacterial agents and without any organic solvent thanks to the solvent like properties of linalool. The challenge was to demonstrate the advantage of using linalool as a chemical platform molecule and at the same time as an antibacterial agent. The incorporation of linear linalool to the rigid isosorbide moiety generates flexible networks. Different networks were prepared by varying the mass ratio of linalool (from 0 to 100 % w/w) mixed into the coating and then characterized.

Their antibacterial activities were investigated *in vitro* against two pathogenic bacteria strains: *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The results have shown a promising anti-adherence for *S. aureus* without any diffusion of linalool which will allow potential applications of terpenes coatings for anti-bacterial adhesion.

II.3.3 Introduction

During the last decades, the development of bio-based molecules to replace petroleum based resources has been constantly increasing. This global effort from the scientific community is in perfect agreement with the social demands of sustainable management to reduce our reliance on fossil resources and decrease the environmental impacts of the petroleum chemistry. The development of bioplastics from renewable resources is expected to reach the one million tons in 2017¹. Among the renewable molecules of the chemical platform, terpenes represent a wide range of cheap and abundant hydrocarbons made of isoprene units (C₅) which will not affect agricultural resources. Pure or crude terpenes are usually used as perfumes and fragrances. Furthermore, they are excellent solvents and diluting agents for dyes and varnishes. Even though terpenes are involved in numerous catalytic chemical processes, only a few of them (especially α -pinene, β -pinene, limonene) have been the subjects of studies related to their use as polymeric unit²⁻⁶. Terpenes are known as components of essential oils with antibacterial and antimicrobial activities⁷⁻¹¹. Such significant impacts have been observed for essential oils incorporated by blending¹²⁻¹⁶ in polymer matrix. The presence of microbial biofilm on

polymeric surfaces represents a serious problem with substantial implications in industrial and health care processes. Several recent publications talk about the use of essential oils as additives to films or polymer matrices to produce active packaging^{12,14,17,18}. However, the activity of these active polymeric materials lies in the terpenes ability to diffuse out of the materials, which raises the issue of the sustainability of its activity over time. To overcome this drawback, we suggest to bind covalently terpenes inside a network and to evaluate the potential preservation of their specific antibacterial properties. To the best of our knowledge, there is only one study about this topic¹⁹. The authors report the synthesis of a polyterpineol film derived from terpinen-4-ol using radio frequency polymerization. The aim of our research is to prepare new antibacterial UV-cured networks by using thiol-ene process with covalent immobilization of monoterpenes as antibacterial agents and without using any organic solvent. We want to demonstrate the advantage of using linalool as a chemical platform molecule and at the same time as an antibacterial agent.

Thiol-ene reactions involving cyclic monoterpene, limonene, and multifunctional thiols²⁰ as promising bio-based template molecules, have been previously described without any biological investigation. Several reports on the antimicrobial activity of some monoterpenes have shown that the number of double bonds in the structure and acyclic, monocyclic and/or bicyclic structures have no significant influence on their activity^{21,22}. The relative inactivity of hydrocarbons like myrcene is associated with their low aqueous solubility while the formation of hydrogen bonds is associated with high antimicrobial activity. However, oxygenated terpenoids show distinct activities and characteristic patterns towards microorganisms²³. Moreover, the essential oils that contain alcohol possess higher activity than those with the corresponding carbonyl compounds²². Based on these previous results, linalool was selected for its antibacterial properties^{9,10,23–25}. Thanks to the presence of two unconjugated double bonds, it can also be used as an efficient building molecule for the preparation of networks by thiol-ene chemistry in presence of a multifunctional thiol. Due to its linear structure and the very flexible thioether bond^{20,26–29}, the association with a rigid segment is therefore essential to grant the mechanical properties of the resulting network. The biobased rigid unit selected in the present study is isosorbide (1,4:3,6-dianhydro- D-sorbitol) which is prepared by a double dehydration of sorbitol and is available in industrial quantities. The attractive features of isosorbide are linked to its rigidity, chirality, non-toxicity and renewable origin^{30–34}. Moreover, the two hydroxyl groups of isosorbide can be used directly for polycondensation or for chemical

modification to prepare reactive precursors. Isosorbide can also constitute a serious alternative of diglycidyl ether bisphenol A (DGEBA) in epoxy networks as reported lately. Isosorbide derivatives were used to prepare bio-based epoxy networks and the resulting structures were evaluated and compared to a conventional epoxy network based on DGEBA cured by amine curing agent, isophorone diamine³⁵. In spite of the increasing interest in isosorbide, its association with terpenic molecules has not been studied yet.

In order to remain consistent with an eco-friendly process, UV initiated thiol-ene chemistry was chosen. This chemical route is now widely considered as a green process since it can proceed under mild conditions (room -temperature, solvent free, without metal catalysis) and fast kinetic^{36,37}. This procedure is an easy and modular synthetic methodology for the preparation of networks with variable properties. The thiol-ene is an extremely versatile reaction reacting at its internal and terminal double bonds. The terminal ones are the more reactive one. These properties provided by thiol-ene UV system make it attractive for a wide range of applications: medical systems, advanced coatings or adhesives... The thiol-ene can be used with linalool but required the synthesis of isosorbide diallyl derivatives, *ISODIAL*, as illustrated in **Figure 87**. An optimized crosslinked formulation is obtained by combining it with a trithiol-functional crosslinking agent (trimethylolpropane tris(3-mercaptopropionate)) to yield the desired network. Thermal and mechanical properties of the new bio-based networks are reported and their actions against the adhesion of both pathogenic bacteria species (*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*) are evaluated and discussed thoroughly.

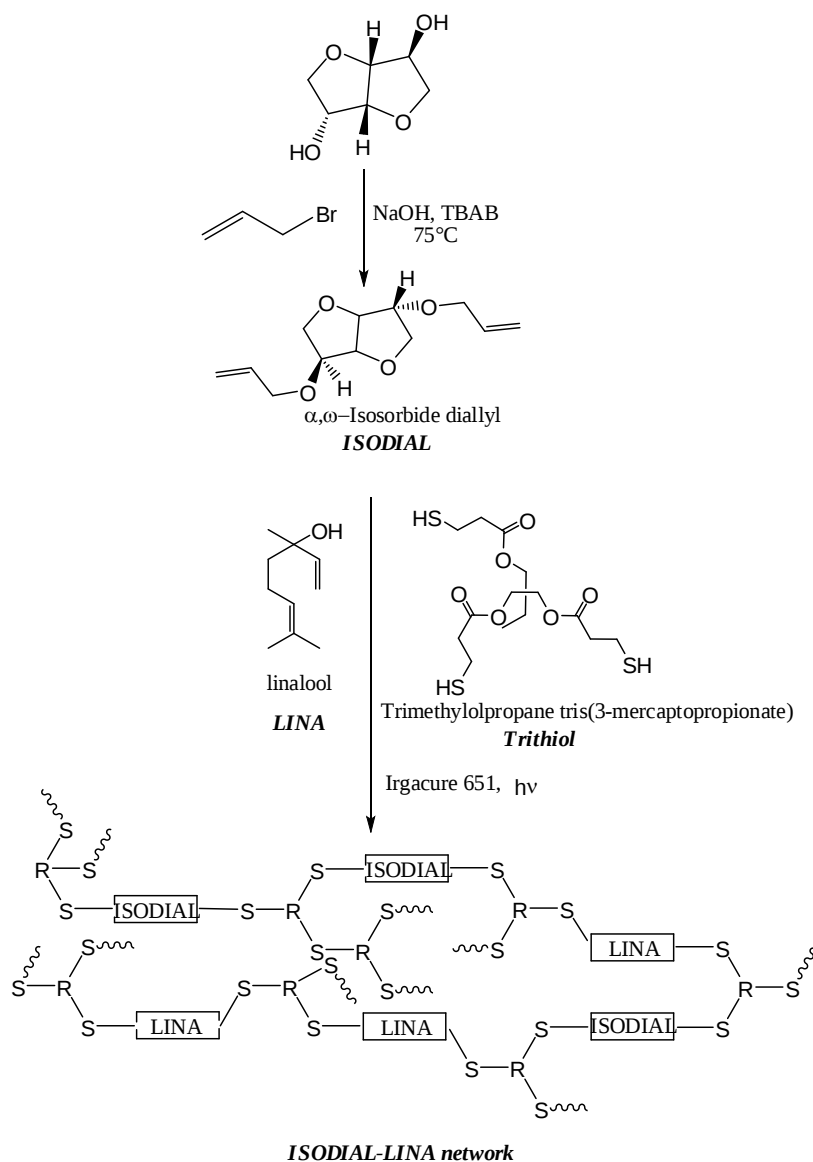


Figure 87: Synthesis of ISODIAL and Formation of the ISODIAL-LINA Networks by Thiol-ene Reaction

II.3.4 Experimental Part

II.3.4.1 Materials

Trimethylolpropane tris (3-mercaptopropionate) $\geq 95\%$ (Trithiol), linalool 97% and sodium hydroxide Sigma Ultra minimum 98% were purchased from Aldrich. 2,2-dimethoxy-1,2-diphenylethan-1-one (DMPA) was provided by BASF company. Allyl bromide 99% stab. with 300-1000 ppm propylene oxide was obtained from Alfa Aesar. Tetrabutylammonium bromide $\geq 98\%$ (TBAB) was purchased from Fluka. Isosorbide was provided by Roquette.

Dichloromethane and diethylether used were of analytical grade. Other chemicals for this study were analytic reagents obtained from Aldrich and used without purification.

II.3.4.2 Synthesis of α,ω –Isosorbide Diallyl, ISODIAL

α,ω isosorbide diallyl was synthesized by Williamson reaction^{38,39}. Isosorbide (3 g, $20.5 \cdot 10^{-3}$ mol) and tetrabutylammonium bromide (300 mg, $9.3 \cdot 10^{-4}$ mol) were dissolved in 12 mL of an aqueous NaOH solution (6 g, $1.5 \cdot 10^{-1}$ mol, $2 \cdot 10^{-3}$ g.L⁻¹). Allyl bromide (10 mL, $1.2 \cdot 10^{-4}$ mol) were added to the mixture as an alkylating agent. The mixture was heating at 75°C for 4 h 30 and then extracted with dichloromethane. The organic phase was washed with 100 mL of HCl 1 M to neutralize the solution. Afterward, several water washes were carried out to remove the salts. The organic layer was then dried under MgSO₄ and evaporated to give the crude product with a yield of 80-90%.

II.3.4.3 Isosorbide-Linalool Networks Preparation, ISODIAL-LINA Networks

As an example, the synthesis of 70-30 (w/w %) α,ω isosorbide diallyl-linalool network (1eq SH/C=C) is described here. Linalool (103 μ L, 90 mg, $5.8 \cdot 10^{-4}$ mol) and DMPA (1.5 wt% of total mixture) were dissolved in α,ω isosorbide diallyl (210 mg, $9.3 \cdot 10^{-4}$ mol). Trithiol (398 mg, $9.9 \cdot 10^{-4}$ mol, SH/C=C = 1) were added to the solution. The formulation was deposited into a silicone mold (1.8 x 4 cm) and irradiated 5 min at room temperature with a Hamamatsu Lightning LC8 (L8251). It was equipped with a mercury-xenon lamp (200W) coupled with a flexible light guide. The end of the guide was placed at 11cm of the sample's surface. The maximum UV light intensity at the sample position was measured by radiometry (International Light Technologies ILT 393). It was 180 mWcm⁻² in the 250-450 nm. A transparent network was obtained.

II.3.4.4 Characterization

¹H NMR (400 MHz) spectra were recorded on a Bruker AV 400M in CDCl₃ at 25°C. FT-IR spectra were recorded on a Bruker Tensor 27 spectrometer with 32 scans equipped with an ATR apparatus.

Kinetics of the photo addition reactions were followed by Real-Time Fourier Transform Infra Red Spectroscopy (RT-FTIR) using a Thermo-Nicolet 6700 instrument and a 80 μ L of a liquid

mixture composed of *ISODIAL*, linalool and trithiol. The photoinitiator (DMPA) was dissolved to a 3% w/w dilution. This sample was applied to a BaF₂ chip by a calibrated wire-wound applicator. The thickness of the UV- curable film was evaluated at 4 µm. The RT-FTIR analyses were carried out under laminated conditions: a polypropylene film was deposited on the top of the photosensitive layer to prevent oxygen diffusion. Samples were simultaneously exposed for few seconds to both the UV beam, which starts the photoreaction, and the IR beam which analyzes the extent of the photoreaction *in situ*. The mixture was irradiated at room temperature with the Hamamatsu lightening cure LC8 (L8251), equipped with a Mercury-Xenon lamp (200 W) coupled with a flexible light guide. The end of the guide was placed at a distance of 11 cm of the sample's surface. The light intensity on the surface of the sample was about 180 mW/cm². The thiol-ene photo-addition was monitored by the disappearance of the C=C bonds of (I) at 1647 cm⁻¹ and of the SH bonds of the trithiol at 2560 cm⁻¹.

Measurements were performed on a Horiba Xplora confocal Raman microscope (Horiba Jobin Yvon) equipped with an external excitation source (638 nm He-Ne laser). The objective lenses used in the study were 50x long-working distance (Long Working Distance M Plan Semi-Apochromat, LMPLFL50x, Olympus) and 10x (M Plan Achromat, MPLN10x, Olympus), operating in air. Spectral acquisition was obtained using LabSpec software (Horiba Scientific, Edison, New Jersey). Raman spectra were recorded at a resolution of 1 cm⁻¹ in the range between 4000 and 200 cm⁻¹. The Raman analyses were performed on a dark background at 20°C. Repeated acquisitions using the highest magnification were accumulated to improve the signal-to-noise ratio. Spectra were calibrated using the 520.5 cm⁻¹ line of a silicon wafer. Spectral details were as following; objective: × 50, filter: 100 %, exposition: 10, slit: 50, hole: 500. Spectra were averaged from two to five accumulations, each with an acquisition time ranging from 15 s to 5 min. The conditions of measurement were adjusted depending on the type of the matrices to obtain a good signal-to-noise ratio.

The extent of conversion was measured via FT-Raman spectroscopy from the band 2600 cm⁻¹ corresponding to the SH bonds after the normalization of the spectrum to the ester carbonyl peak at 1735 cm⁻¹. The relative conversion was calculated according to the

Equation 1

$$\alpha = \left(\frac{R_0 - R_t}{R_0} \right) \times 100$$

With $R_0 = \frac{I_{SH}}{I_{C=0}}$, before irradiation and $R_t = \frac{I_{SH}}{I_{C=0}}$, after irradiation

Water contact measurements were performed with the Drop Shape Analysis system Krüss Easy DROP Contact Angle measuring system apparatus controlled by the DSA software.

The thermal properties of the networks were measured by Differential Scanning Calorimetry (DSC). The measurements were conducted on Perkin Elmer Diamond DSC apparatus according to the following heating programs: heating from -60 to 170°C at $20^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$, cooling to -60°C at $200^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$ holding at 60°C for 5 min and heating to 170°C at $20^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$ to determine the glass transition temperatures.

Thermogravimetric analyses (TGA) were performed on a Setaram Setsys Evolution 16 apparatus by heating from 20°C to 800°C at $10^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$ under argon atmosphere.

Water Uptake Determination

Prior to the water uptake measurements, the samples were dried under vacuum. They were placed in a conditioning closed chamber over a saturated solution of NaCl to obtain a water saturated atmosphere of 75% at room temperature. The percentage uptake of moisture into the material was measured by a coulometric method at $t = 0$ s and after 18 h. The 831 K F Coulometer Metrohm was equipped with a 728 Stirrer and an 860 K F Thermoprep Metrohm.

Soluble Extract Determination

The samples were treated with 10 mL of diethyl ether stirred in a flask during 1h at room temperature. The remaining residue and the film were weighed after the solvent evaporation under vacuum.

Bacterial Adhesion

The anti-adherence activity of the networks was evaluated using two pathogenic bacterial strains: *Staphylococcus aureus* ATCC6538 (Gram- positive) and *Escherichia coli* ATCC25922 (Gram- negative) which were grown aerobically at 37°C overnight on LB medium (Lysogeny Broth) before the bacterial adhesion tests. LB medium was purchased from Aldrich.

The samples of *ISODIAL-LINA* networks were immersed 1h at 37°C and stirred in the bacterial suspension of the two different strains ($\text{Abs}_{600\text{nm}} = 0.05$). The non-adherent bacteria were then removed from the network surface by several washes with a physiological saline buffer. The networks were then submitted to vortex and ultrasounds in a minimum volume of saline buffer to unhook fasten bacteria. Finally 100 μL of this resulting viable bacteria suspension were inoculated onto the surface of a PCA agar (Plat Count Agar) Petri dish. After 24h of incubation at 37°C in aerobic conditions, the antibacterial activity was measured by counting CFUs for the different strains. Each experiment was performed in six replicates.

The software R was used to analyse the data. At least, six replicates of the experiments were conducted in order to allow a significant statistical analysis. The ANalysis Of the VAriance (ANOVA) statistical test was used and significant differences ($p < 0.05$) among antibacterial properties of the networks were detected thanks to the multiple range test of Duncan.

II.3.5 Results and Discussion

II.3.5.1 Preparation of *ISODIAL-LINA* Networks

The present work focuses on the photoinduced thiol-ene crosslinking involving different components (**Figure 87**): linalool, an unsaturated monoterpene, isodial, an allylic derivative of isosorbide, the trithiol and 3 wt% of DMPA. The first step consisted in the synthesis of isodial by reaction of isosorbide with allyl bromide under phase-transfer catalysis conditions as described in a previous report⁴⁰. The chemical structure of isodial is confirmed by ^1H NMR (**Figure 88**) with the appearance of new signals at 5.2-5.3 and 5.8-5.9 ppm characteristic of unsaturated allyl groups. Fourier Transform InfraRed spectroscopy (FTIR) was used to confirm this. Different peaks indicate the presence of =CH bond (3079 cm^{-1}), C=C bond (1647 cm^{-1}), C-O bond from aliphatic ether (1059 cm^{-1}) and -CH- bond ($2930, 2870\text{ cm}^{-1}$ and $1460, 1360\text{ cm}^{-1}$).

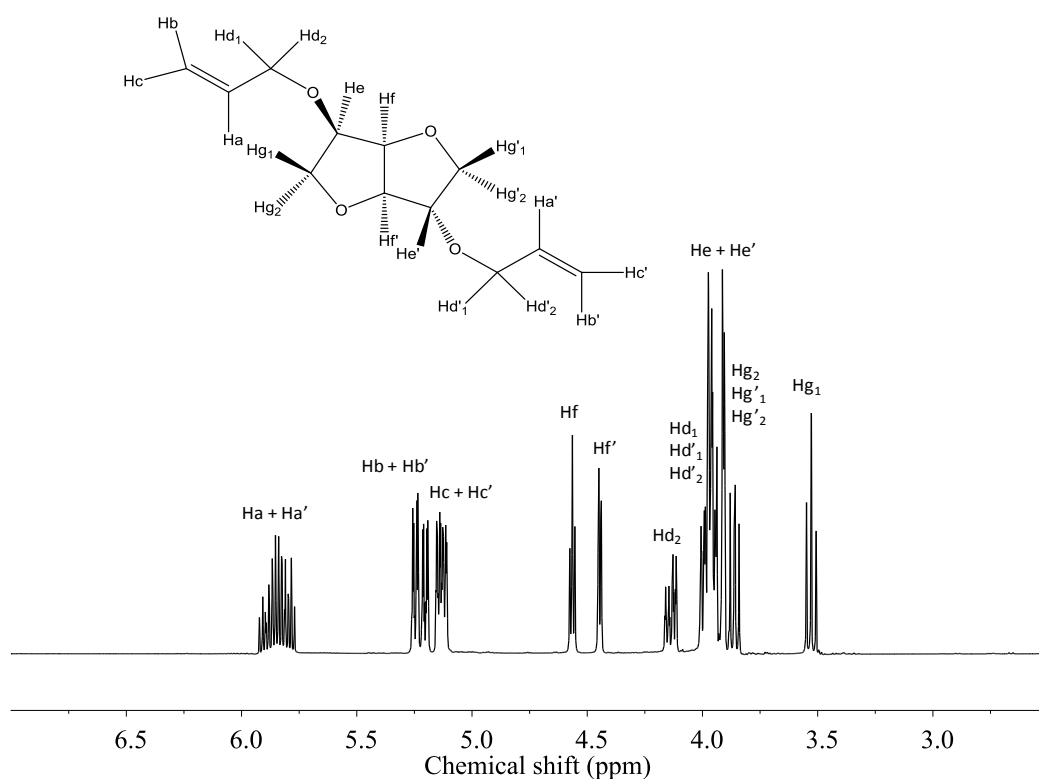


Figure 88: ^1H NMR spectrum of ISODIAL in CDCl_3 .

Figure 89 shows the FT-IR spectra of linalool, isodial and a 70/30 isodial/linalool mixture before irradiation. The absorption of SH groups can be identified at 2560 cm^{-1} and the stretching band of C=C groups for both isodial and linalool appears at 1647 cm^{-1} . After irradiation, the absorbance of the SH and C=C groups should decrease, thus assuming the success of the thiol-ene reaction. Figure 90 represents the kinetic profiles (disappearance of the SH bonds) of three compositions of isodial (from 100 to 50%) and of linalool (from 0 to 50 %), to highlight the thiol-ene process. High SH conversions are obtained after 100 s of irradiation in the case of the isodial-based network while a slight decrease has occurred when the linalool content was increased. In the samples series with 30 and 50 % of linalool, the SH conversion reached 90 and 85% respectively. Furthermore, it can be noticed that the thiol conversion appears slightly lower when the linalool percentage increases. This is likely due to the different reactivity of the double bonds of linalool as previously reported for limonene⁴¹. However, it appears that a rapid free-radical thiol-ene crosslinking occurs for all the studied compositions.

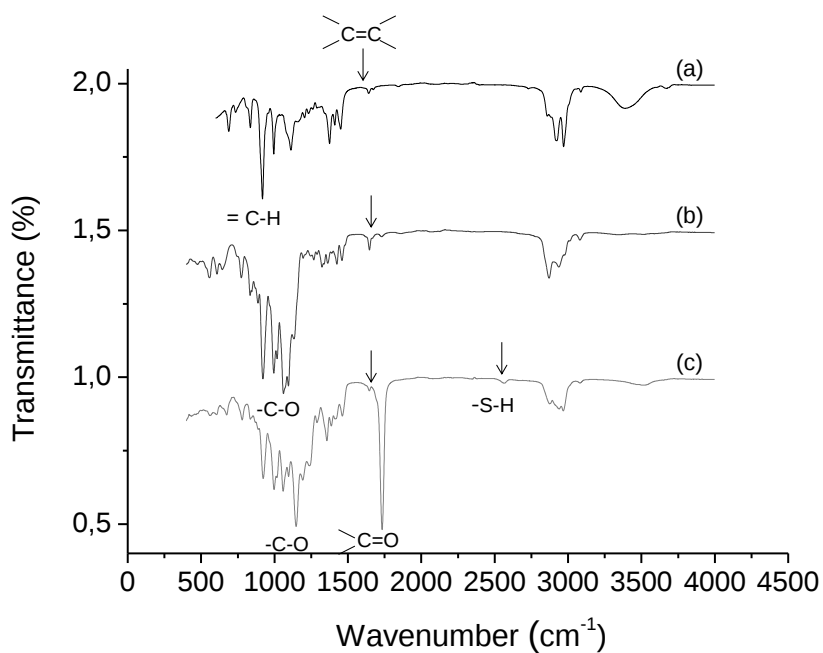


Figure 89: FTIR spectra of (a) linalool, (b) ISODIAL and (c) 70-30 ISODIAL-LINA in the presence of trithiol before irradiation.

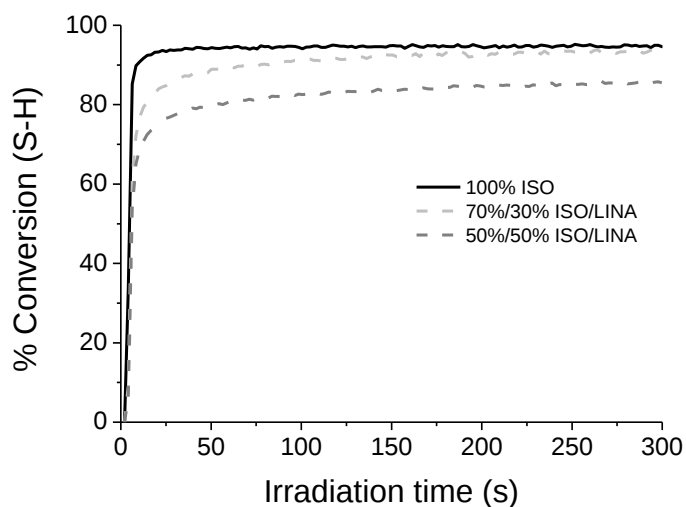


Figure 90: Real-time FTIR kinetic profiles of the formation of ISODIAL-LINA networks 100-0, 70-30 and 50-50 with DMPA in laminated conditions Xe-Hg lamp I=100%.

At the same time, Raman spectroscopy has been used to follow the cross-linking process of our systems. When tested, the FT-Raman spectra of the *ISODIAL-LINA* mixtures showed strong characteristic peaks for polarisable SH bonds and low characteristic peaks for the polar carbonyl groups (1700 cm^{-1}). It led to easier conversion measurements (**Figure 91**).

To assess the influence of the linalool content on the network properties, a series of photocured samples containing 0, 30, 50 and 100 % of linalool were prepared. All compositions produced homogeneous viscous solutions which were then introduced into a silicone mold and induced the formation of soft networks after UV irradiation. As illustrated in **Table 1**, the colourless status of crude linalool combines with its intrinsic properties as cyclic structure and chirality of isosorbide caused the transparency of the resulting isosorbide-diallylic-linalool bio-based networks. Furthermore, all the compositions with isosorbide produced transparent and soft networks, demonstrating the interest of the insertion of this rigid unit to process materials. The thickness of the samples increased from 0.29 mm to 0.44 mm with the ratio of linalool, which suggests a variation of the density of these networks. The 100% linalool formulation led to a very sticky network which can be removed from the silicon mold but which cannot be manipulated because of its stickiness.

As reported in **Table 1**, the conversion of SH bonds was lower than 80 % in comparison with the one measured in laminar conditions (90%). The lack of observed final conversion could be explained by the high viscosity. A larger amount of components decreases the mobility of reactive groups and consequently decreases the final conversion. Whatever the stoichiometry used, a total conversion was not achieved. However, the soluble fraction measured gravimetrically after extraction in appropriate solvent was lower than 5%, which indicates a high crosslinking density. These results are in agreement with the high conversion values. It can be assumed that the decreases in mobility at high final conversion restrict the accessibility of the reactive groups.

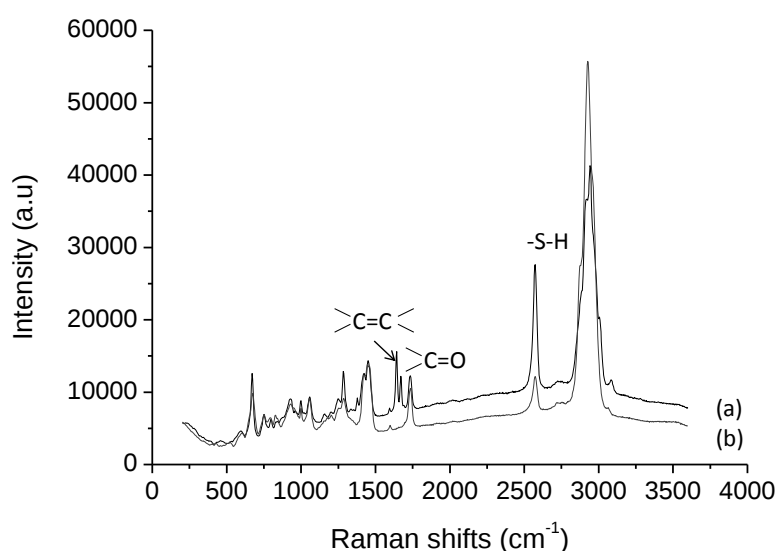
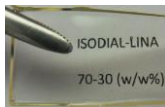


Figure 91: RAMAN spectra of ISODIAL-LINA 50-50 (a) before and (b) after 300 s of irradiation.

Table 1: Composition and Properties of the Networks

ISODIAL-LINA (w/w %)	100-0	70-30	50-50	0-100
Thickness (mm)	0.29 ± 0.07	0.44 ± 0.07	0.43 ± 0.09	nd
SH Conversion ^{a)} (%)	77	292	75	73
Soluble extract ^{b)} (%)	1	2	3	nd
				

^{a)}Determined by RAMAN, ^{b)}Determined by gravimetry

II.3.5.2 Characterization of ISODIAL-LINA Networks

Surface properties of the networks were examined by water contact angle measurements (**Table 2**). As it was expected, the water contact angle increased with linalool addition due to the presence of apolar linalool. Furthermore, the water sensitivity of networks from hygroscopic isosorbide was investigated by measuring the amount of water taken up by conventional Karl Fisher titration. After 18h exposition to an atmosphere with about 75% of relative humidity, the water uptakes remained lower than 5%, which indicates that samples were not sensitive to humidity. This information is important concerning the conservation of mechanical integrity when exposed to aqueous medium and also, for potential degradation reactions.

The thermal and mechanical properties investigated were reported in **Table 2**. The glass transition temperature is below 0°C, indicating that the structure is very flexible due to the formation of flexible thioether linkages as reported previously^{20,42,43}. The T_g values decrease from -2 °C to -25 °C which can be attributed to the chain flexibility afforded by the higher linalool fraction. Thermal degradation was calculated at temperature corresponding to 5% mass loss. The thermal degradation temperatures of *ISODIAL-LINA* networks were between those of linalool and *ISODIAL* networks. The presence of isosorbide units increases the thermal stability.

Results obtained from stress-strain curves are presented in **Figure 92** and listed in **Table 2**. The mechanical properties of the *ISODIAL-LINA* networks were tested to determine Young's modulus (E), the strain (ε) and tensile stress (σ_r). An increase in stiffness of the materials is observed thanks to the increase in crosslink density and rigid isosorbide amount which provides manipulable networks. In addition, similar trends were observed in the tensile properties of the materials, reflecting the interplay between the linear soft linalool units and the crosslink density.

The physical properties should be attuned with pre-synthesis of a polyfunctional resins combined with thiol cross-linkers and linalool as reported recently with limonene²⁰ [ENREF 9 ENREF 9 ENREF 9](#). However, the major focus of our present report is to demonstrate the potential benefit of the incorporation of linalool in the network formulation to inhibit the bacterial adhesion.

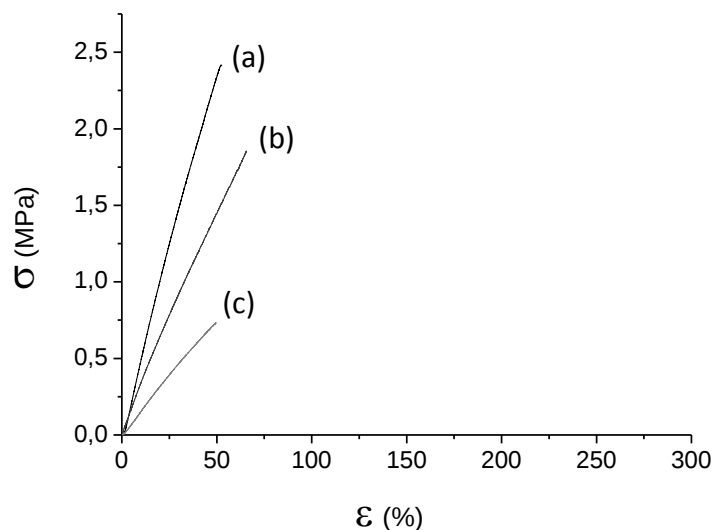


Figure 92: Tensile tests of (a) ISODIAL-LINA 100-0, (b) ISODIAL-LINA 70-30 and (c) ISODIAL-LINA 50-50.

Table 2: Characterization of ISODIAL-LINA Networks

ISODIAL-LINA (w/w %)	T _g ^{a)} (°C)	T _{5%} ^{b)} (°C)	Θ ^{c)} (°)	E ^{d)} (MPa)	σ _r ^{d)} (MPa)	ε _r ^{d)} (MPa)	Water uptake ^{e)} (%)
100/0	-2	315	54	5.4 ± 0.2	2.0 ± 0.4	43 ± 8	0.5
70/30	-8	292	94	3.0 ± 0.4	1.4 ± 0.2	52 ± 7	0.7
50/50	-12	277	94	1.7 ± 0.1	0.8 ± 0.1	59 ± 7	0.7
0/100	-25	274	94	nd	nd	nd	nd

^{a)}Determined by DSC, ^{b)}Determined by TGA: T_{5%}: temperature of 5% weight loss of the networks, ^{c)}Determined by water contact angle measurements, ^{d)}Determined by tensile measurements, ^{e)}Determined by coulometry after 18h of exposure

II.3.5.3 Bacterial Adherence

The adherence ability of each studied bacteria on active networks was measured after incubation within a bacterial suspension for 1 h. The number of viable bacteria adhering to the surface (CFU/cm²) was calculated by performing an ANOVA and a StatAdvisor post-test (**Figure 93**). First, it is worth noting that the results obtained with 100% linalool are delicate to analyze in comparison with the other composition because of the sticky feature of the surface. The bacterial adhesion measurements were enhanced by the fact that bacteria remained adhered. However, the influence of the chemical composition networks on bacterial adherence was different for both bacterial strains. *E.coli* was not affected by the presence of linalool since the percentage of adherence of *E. coli* was not significantly different when we compared the adherence assay performed on 100% Iso, 70/30 ISODIAL-LINA and 50/50 ISODIAL-LINA ($p > 0.05$). In the case of 100% linalool networks, the adherence of *E. coli* is significantly higher than these other ones ($p < 0.05$). These results could be explained in part by the sticky feature of linalool promoting the adhesion of cells on its surface. On the other hand, significant differences ($p < 0.05$) were observed with *S. aureus*. The adhesion of *S. aureus* depends on the quantity of linalool: a reduction of 45 to 85 % in the bacterial adhesion was observed with proportions of respectively 30 % and 50 % of linalool. The CFU/cm² values in the case of *E. coli* were systematically lower than those obtained with *S. aureus*. It indicates that the systems based on isosorbide alone or associated with linalool present intrinsic antifouling properties. The structure of the cell wall of *E. coli* is much more complicated than the one of the Gram-positive species. There is an outer membrane mainly made of phospholipids, proteins, and lipopolysaccharides (LPS)^{44,45}. One of the key functions of this outer membrane is to protect the bacteria from attacks by foreign substances such as antibacterial agents. In addition, the hydrophobicity of an antibacterial polymer agent containing long alkyl chains makes it difficult to eliminate *E. coli* because of the lower interactions between the bacteria and its outer membrane. It can also be assumed that the hydrophobicity of the surface is the main cause of the weaker attraction between *E. coli* and the surface of the network. In case of *S. aureus* which exhibits a preference for attachment on hydrophobic surfaces^{19,46}, the anti-adherence activity can be induced by the linalool. Our results agree with previous reports which incorporate essential oils into quince mucilage films¹⁷. The authors showed that their active packaging were more effective against Gram-positive bacteria than Gram-negative ones. Nevertheless, most of the results reported in the literature vary considerably according to the nature of the essential oils and the bacterial strains. Indeed, some essential oils containing linalool have exhibited antibacterial activity against both Gram-negative bacteria and Gram-positive bacteria^{9,47}. The

mechanism of action of essential oils has not been clearly identified but it seems to be related to the hydrophobic nature of the terpenes¹⁵. Furthermore, the numerous components of the oils could have synergic or additive effects on the bacterial activity^{47,48}. Our study presents the advantage of highlighting that the linalool crosslinking coatings represent a promising route to be more resistant to the colonization of microorganisms.

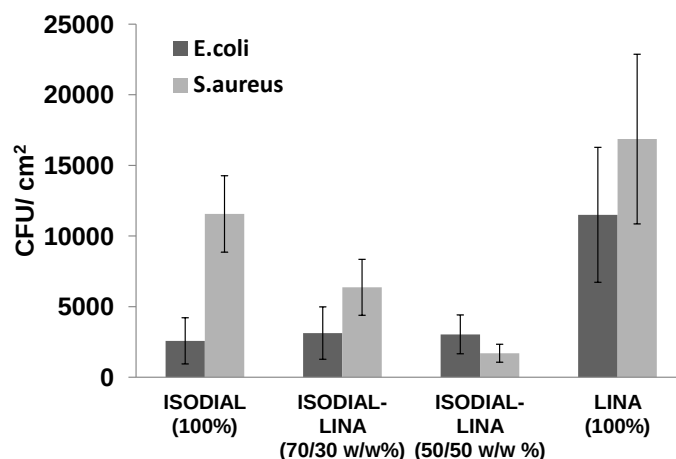


Figure 93: Antibacterial tests of ISODIAL-LINA networks.

II.3.6 Conclusion

In conclusion, the efficiency and abilities of thiol-ene reaction were used to prepare new bio-based antibacterial materials. This very fast and easily performed reaction occurs under room temperature conditions and is solvent free which is in line with green chemistry. New bio-based materials from sustainable isosorbide moieties and natural terpene were successfully engineered according to thiol-ene photoinitiated process. *ISODIAL-LINA* networks exhibit attractive thermal properties and furthermore the highest inhibition observed against *S. aureus*. Moreover, these new bio-based materials are not affected by water penetration under high moisture conditions. Using natural terpenes as crosslinking units represents a promising route for the preparation of new efficient bioactive materials. It will allow further investigations with varying terpenes units and rigid co-monomers in order to develop antifouling applications. However, in the future it may be appropriate to associate different terpenes to the combination to obtain synergic effects on various bacteria strains.

II.3.7 Conclusion du sous-chapitre

Dans cette première partie du chapitre II, des co-réseaux d'origine biosourcée à base d'isosorbide fonctionnalisé et de linalol ont été élaborés par réaction thiol-ène photoamorcée. Grâce aux propriétés de solvant du monoterpène, aucun solvant n'a été utilisé pour homogénéiser le mélange réactionnel initial ce qui s'inscrit parfaitement dans les principes de la chimie verte. Des matériaux souples et transparents, aux propriétés thermiques prometteuses (résistance thermique $>280^{\circ}\text{C}$) ont été obtenus après 300 s d'irradiation UV.

L'étude des propriétés antibactériennes de ces réseaux a permis de confirmer les propriétés antiadhésives intrinsèques du linalol et ce même lorsque celui-ci est lié de façon covalente au réseau. En effet, dans le cas de la souche *S. aureus*, l'introduction de 30% en masse de linalol dans les matériaux entraîne une réduction de 38% de l'adhésion des bactéries allant jusqu'à 83% lorsque le pourcentage massique du linalol atteint 50%. Dans le cas de la souche *E. coli*, tous les co-réseaux ont démontré une activité antibactérienne prometteuse même dans le cas des réseaux ne contenant pas de linalol ce qui peut s'expliquer par le caractère hydrophobe de la surface.

L'introduction d'une molécule cyclique a comme attendu augmenté la rigidité des réseaux qui, contrairement aux premiers essais sur les réseaux 100% linalol, sont manipulables. Il serait intéressant à présent d'étudier si la nature du cycle utilisé peut avoir une influence sur les propriétés thermo-mécaniques et biologiques des matériaux obtenus.

Références

- (1) EuropaBio | We promote an innovative and dynamic environment for the biotech industry in Europe <http://www.europabio.org/> (accessed Dec 2, 2016).
- (2) Pa, W.; Chu, F.; Tang, C. Progress in renewable polymers from natural terpenes, terpenoids, and rosin. *Macromol. Rapid Commun.* **2013**, *1* (34), 8–37.
- (3) Holmberg, A. L.; Reno, K. H.; Wool, R. P.; Epps, T. H. Biobased building blocks for the rational design of renewable block polymers. *Soft Matter* **2014**, *10* (38), 7405–7424.
- (4) Barros, M. T.; Petrova, K. T.; Ramos, A. M. Potentially biodegradable polymers based on α - or β -pinene and sugar derivatives or styrene, obtained under normal conditions and on microwave Irradiation. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, *2007* (8), 1357–1363.
- (5) Firdaus, M.; Meier, M. A. R.; Biermann, U.; Metzger, J. O. Renewable co-polymers derived from castor oil and limonene. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2014**, *116* (1), 31–36.
- (6) Singh, A.; Kamal, M. Synthesis and characterization of polylimonene: polymer of an optically active terpene. *J. Appl. Polym. Sci.* **2012**, *125* (2), 1456–1459.
- (7) Nostro, A.; Ribaltone, S.; D'Arrigo, M.; Botta, L.; Filucamo, A.; Antrazzoli, M.; Bisignano, G. Development and characterization of essential oil component-based polymer films: a potential approach to reduce bacterial biofilm. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2013**, *97* (21), 9515–9523.
- (8) Lang, G.; Buchbauer, G. A review on recent research results (2008-2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. *Flavour Fragrance J.* **2012**, *27* (1), 13–39.
- (9) Iacobellis, N. S.; Lo Cantore, P.; Capasso, F.; Senatore, F. Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53* (1), 57–61.
- (10) Kubo, I.; Fujita, K.-I.; Kubo, A.; Nihei, K.-I.; Ogura, T. Antibacterial activity of Coriander volatile compounds against *Salmonella Choleraesuis*. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52* (11), 3329–3332.
- (11) Shah, A. A.; Wang, C.; Chung, Y.-R.; Kim, J.-Y.; Choi, E.-S.; Kim, S.-W. Enhancement of geraniol resistance of *Escherichia coli* by MarA over expression. *J. Biosci. Bioeng.* **2013**, *115* (3), 253–258.
- (12) Arrieta, M. P.; Lopez, J.; Hernandez, A.; Rayon, E. Ternary PLA-PHB-Limonene blends intended for biodegradable food packaging applications. *Eur. Polym. J.* **2014**, *50* (1), 255–270.
- (13) Mourtzinou, I.; Kalogeropoulos, N.; Papadakis, S. E.; Konstantinou, K.; Karathanos, V. T. Encapsulation of nutraceutical monoterpenes in β -cyclodextrin and modified starch. *J. Food Sci.* **2008**, *73* (1), 89–94.
- (14) Robertson, M. L.; Paxton, J. M.; Hillmyer, M. A. Tough blends of polylactide and castor oil. *ASC Appl. Mater. Interfaces* **2011**, *3* (9), 3402–3410.
- (15) Sanchez-Gonzalez, L.; Chafer, M.; Hernandez, M.; Chiralt, A.; Gonzalez-Matinez, C. Antimicrobial activity of polysaccharide films containing essential oils. *Food Control* **2011**, *22* (8), 1302–1310.
- (16) Tackenberg, M. W.; Marmann, A.; Thommes, M.; Schuchmann, H. P.; Kleinebudde, P. Orange terpenes, carvacrol and α -tocopherol encapsulated in maltodextrin and sucrose matrices via batch mixing. *J. Food Eng.* **2014**, *135* (1), 44–52.
- (17) Jouki, M.; Yazdi, F. T.; Mortazavi, S. A.; Koocheki, A. Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocoll.* **2014**, *36* (1), 9–19.

- (18) Bolton, J. M.; Hillmyer, M. A.; Hoyer, T. R. Sustainable thermoplastic elastomers from terpene-derived monomers. *ASC Macro Lett.* **2014**, *3*, 717–720.
- (19) Bazaka, K.; Jacob, M. V.; Truong, V. K.; Crawford, R. J.; Ivanova, E. P. The effect of polyterpenol thin film surfaces on bacterial viability and adhesion. *Polymers* **2011**, *3* (1), 388–404.
- (20) Claudino, M.; Mathevet, J.-M.; Jonsson, M.; Johansson, M. Bringing D-limonene to the scene of bio-based thermoset coatings via free-radical thiol-ene chemistry: macromonomer synthesis, UV-curing and thermo-mechanical characterization. *Polym. Chem.* **2014**, *5* (9), 3245–3260.
- (21) Zygadlo, J. A.; Maestri, D. M.; Lamarque, A. L.; Guzmán, C. A.; Velasco Negueruela, A.; Pérez-Alonso, M. J.; García-Vallejos, M. C.; Grosso, N. R. Essential oil variability of *Minthostachys verticillata*. *Biochem. Syst. Ecol.* **1996**, *24* (4), 319–323.
- (22) Zygadlo, J. A.; Juliani, H. R. Bioactivity of essential oil components. *Curr. Top. Phytochem.* **2000**, *3* (1), 204–214.
- (23) Habibi, Z.; Yousefi, M.; Mohammadi, M.; Eftekhari, F.; Biniyaz, T.; Rustaiyan, A. Chemical composition and antibacterial activity of the volatile oils from *Artemisia turcomanica*. *Chem. Nat. Compd.* **2010**, *46* (5), 819–821.
- (24) Lo Cantore, P.; Iacobellis, N. S.; De Marco, A.; Capasso, F.; Senatore, F. Antibacterial activity of *Coriandrum sativum* L. and *Foeniculum vulgare* Miller Var. *vulgare* (Miller) essential oils. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52* (26), 7862–7866.
- (25) Park, S.-N.; Kyong Lim, Y.; Oliviera Freire, M.; Cho, E.; Jin, D.; Kook, J.-K. Antimicrobial effect of linalool and α -terpineol against periodontopathic and cariogenic bacteria. *Anaerobe* **2012**, *18* (3), 369–372.
- (26) Lecamp, L.; Houllier, F.; Youssef, B.; Bunel, C. Photoinitiated cross-linking of a thiol–methacrylate system. *Polymer* **2001**, *42* (7), 2727–2736.
- (27) Nilsson, C. *Genetic Studies of Psoriasis and Psoriatic Arthritis*; 2008.
- (28) Nilsson, C.; Malmström, E.; Johansson, M.; Trey, S. Dendrimers in thiol-ene crosslinked networks and the effect of subsequent generations on thermoset properties. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2009**, *47* (2), 589–601.
- (29) Nilsson, C.; Malmström, E.; Johansson, M.; Trey, S. M. Methacrylated dendrimers in thiol-methacrylate networks and the effect of conversion on the thermoset properties. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2009**, *47* (21), 5815–5826.
- (30) Stoss, P.; Hemmer, R. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*; 1991.
- (31) Thiem, J.; Lûders, H. Synthesis of polyterephthalates derived from dihydroxýtols. *Polym. Bull.* **1984**, *11* (3), 365–369.
- (32) Chatti, S.; Weidner, S.; Fildier, A. Copolyesters of isosorbide, succinic acid and isophthalic acid: biodegradable high Tg engineering plastics. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2013**, *51* (11), 2464–2471.
- (33) Kricheldorf, H. R. “Sugar diols” as building blocks of polycondensates. *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. Phys.* **1997**, *37* (7), 599–631.
- (34) Kricheldorf, H. R.; Behnken, G.; Sell, M. Influence of isosorbide on glass-transition temperature and crystallinity of poly(butylene terephthalate). *J. Macromol. Sci. Part Pure Appl. Chem.* **2007**, *44* (7), 679–684.
- (35) Chrysanthos, M.; Galy, J.; Pascault, J.-P. Preparation and properties of bio-based epoxy networks derived from isosorbide diglycidyl ether. *Polymer* **2011**, *52* (16), 3611–3620.
- (36) Lowe, A. B. Thiol-ene “click” reactions and recent applications in polymer and materials synthesis. *Polym. Chem.* **2010**, *48* (1), 17–36.
- (37) Jing, X.; Yue, J.; Li, X.; Mo, G.; Wang, R.; Huang, Y. Modular functionalization of amphiphilic block copolymers via radical-mediated thiol–ene reaction. *Macromolecules* **2010**, *43* (23), 9645–9654.

- (38) Feng, X.; East, A. J.; Hammond, W. .; Zhang, Y.; Jaffe, M. Overview of advances in sugar-based polymers. *Polym. Adv. Technol.* **2011**, 22, 139–150.
- (39) Lorenzini, C.; Versace, D. L.; Gaillet, C.; Lorthioir, C.; Boileau, S.; Renard, E.; Langlois, V. Hybrid networks derived from isosorbide by means of thiol-ene photoaddition and sol-gel chemistry. *Polymer* **2014**, 55 (17), 4432–4440.
- (40) Lorenzini, C.; Renard, E.; Bensemhoun, J.; Babinot, J.; Versace, D.-L.; Langlois, V. High glass transition temperature bio-based copolyesters from poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and isosorbide. *React. Funct. Polym.* **2013**, 73 (12), 1656–1661.
- (41) Meier, M. A. R.; Firdaus, M.; Montero de Espinosa, L. Terpene-based renewable monomers and polymers via thiol–ene additions. *Macromolecules* **2011**, 44 (18), 7253–7262.
- (42) Carlsson, I.; Harden, A.; Lundmark, S.; Manea, A.; Rehnberg, N.; Svensson, L.; Belfield, K. D.; Crivello, J. V. *Photoinitiated Polymerization*; 2003; Vol. 847.
- (43) Sangermano, M.; Colucci, G.; Fragale, M.; Rizza, G. Hybrid organic–inorganic coatings based on thiol-ene systems. *React. Funct. Polym.* **2009**, 69 (9), 719–723.
- (44) Franklin, T. J.; Snow, G. A. *Biochemistry of Antimicrobial Action*; Chapman & Hall LTD: London, 1981.
- (45) Sussman, M. *Escherichia Coli: Mechanisms of Virulence*; 1997.
- (46) James, N. R.; Jayakrishnan, A. Surface thiocyanation of plasticized poly(vinyl chloride) and its effect on bacterial adhesion. *Biomaterials* **2003**, 24 (13), 2205–2212.
- (47) Koutsoudaki, C. K., Martin and Rodger, Alison. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the Gum of Pistacia lentiscus Var. chia. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53 (20), 7681–7685.
- (48) Aiensaard, J.; Aiumlamai, S.; Aromdee, C.; Taweechaisupapong, S.; Khunkitti, W. The effect of lemongrass oil and its major components on clinical isolate mastitis pathogens and their mechanisms of action on Staphylococcus aureus DMST 4745. *Res. Vet. Sci.* **2011**, 91 (3), 31–37.

II.4 Synthèse de co-réseaux à base d'isosorbide fonctionnalisé et de linalol

II.4.1 Introduction du sous-chapitre

Comme nous l'avons montré dans la partie précédente, l'incorporation d'une molécule bicyclique dans un réseau permet d'augmenter ses propriétés mécaniques.

Dans cette deuxième partie, nous nous sommes intéressés à l'introduction d'un synthon aromatique, l'eugénol, qui constitue le composé phénolique majoritaire de l'huile essentielle de clou de girofle afin de l'associer au linalol. En effet, ce composé phénolique est particulièrement intéressant puisqu'il est facilement accessible en termes de coût et de disponibilité (<http://www.presidence.gov.mg/inauguration-de-lusine-natema-du-groupe-givaudan-con fiance-des-investisseurs-et-decentralisation-economique/>).

De plus, les propriétés biologiques de cette molécule sont depuis longtemps reconnues puisqu'elle est largement utilisée en dentisterie pour la préparation de résines dentaires (*Sticht, J. Dent.bRes.*, 6, 1971 ; *Laekeman, Phytoter. Res.*, 4, 1990 ; *Kaplan, Dent. Traumatol.*, 15, 1999; *Feng, Neuropharmacology*, 26, 1987).

Outre les propriétés antibactériennes de cette molécule, l'eugénol présente l'avantage d'être fonctionnalisé ce qui permet la synthèse d'un dérivé difonctionnel par réaction Williamson de type SN_2 . De plus, la présence d'une double liaison sur l'eugénol natif permet de l'associer au réseau tout en conservant la fonction phénol.

Cette partie sera par conséquent consacrée à la synthèse de co-réseaux à base d'eugénol fonctionnalisé et de linalol comme dans la première partie du sous-chapitre 2 en vue de comparer l'influence de la nature du composé cyclique sur les propriétés thermo-mécaniques et biologiques du matériau. De plus, des co-réseaux associant l'eugénol fonctionnalisé à l'eugénol natif ont également été élaborés afin d'introduire des fonctions phénol susceptibles d'exacerber les propriétés antibactériennes et antioxydantes des matériaux obtenus. Ces réactions ont permis l'obtention de matériaux souples et transparents dont les propriétés thermique et mécanique ont été caractérisées.

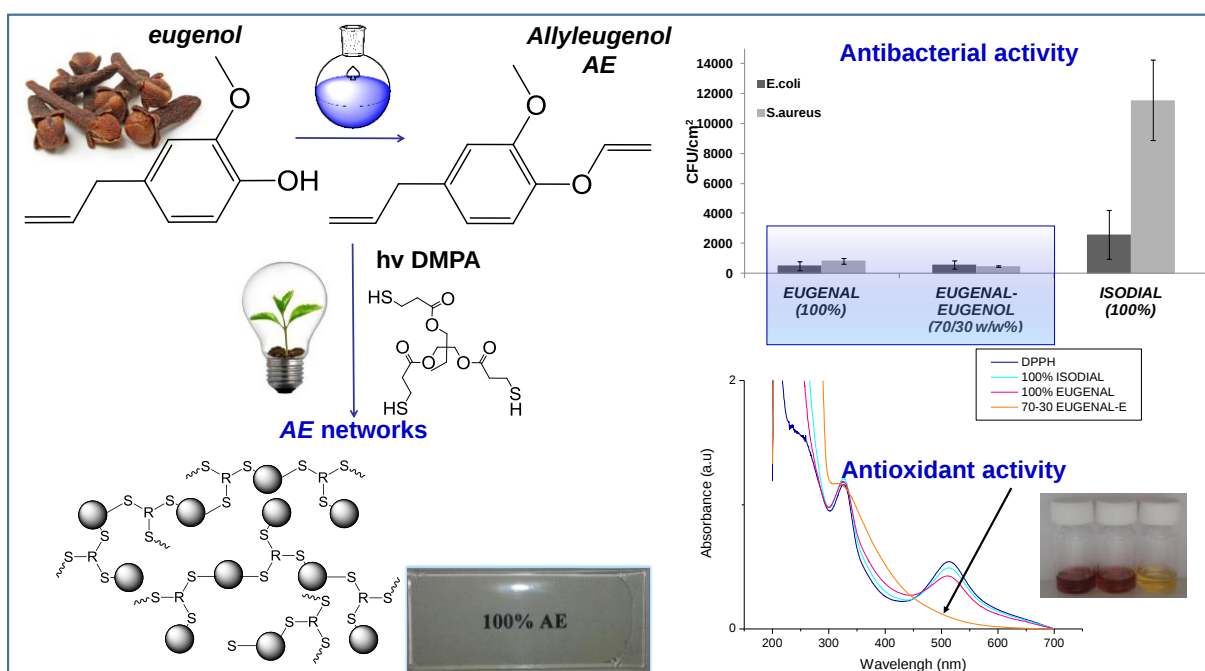
Les résultats de ces travaux seront présentés dans l'article intitulé : Antibacterial and antioxidant bio-based networks derived from eugenol using photo-activated thiol-ene reaction paru dans *Reactive and Functional Polymers* (101, 2016, 47-53).



Antibacterial and antioxidant bio-based networks derived from eugenol using photo-activated thiol-ene reaction

Reactive and Functional Polymers, 101, 2016, 47-53

Tina Modjinou, Davy-Louis Versace, Samir Abbad-Andaloussi, Nouredine Bousserrhine, Pierre Dubot, Valérie Langlois and Estelle Renard



II.4.2 Abstract

Bio-based networks derived from eugenol and linalool were prepared with an eco-friendly process by photoactivated thiol-ene reactions. Allyl derivative Eugenol, **AE**, prepared by a nucleophilic substitution was combined with linalool, **L**, a monoterpene presents in the lavender essential oil, well known to its antibacterial activity or with Eugenol, **E**, a sustainable antioxidant molecule major component of the essential oil of clove. The photoactivated thiol-ene reaction is a quick room temperature straightforward way to obtain renewable crosslinked networks. Two bacteria strains were used *in vitro* to evaluate the resistance to bacterial adhesion and the DPPH method was used to determine the antioxidant properties of the networks. As expected, the results showed a promising anti-adhesion activity against *S. aureus* and *E. coli* due to the presence of eugenol moieties. Moreover, the phenol groups of eugenol provide an antioxidant activity characterized by a radical scavenging activity of 90%.

II.4.3 Introduction

Nowadays, industrial chemicals and materials are mainly derived from fossil resources that are both less available and a major source of undesirable greenhouse gas emissions. The challenges of reducing the emissions of CO₂, and more generally, the impacts on the environment, weigh more and more in balance of the governments, industries and consumers. The share of renewable carbon in the products of the chemical industry should raise 15% in 2017 against 7% today¹. In the same way, American studies estimate that 90% of organic chemical products will come from renewable resources by 2090². Therefore, it is crucial to propose new renewable resources as an alternative of petrochemical products especially for the polymer industry. Various bio-based monomers derived from bio-sourced raw materials (starch, cellulose, vegetal oils...) are already used for the production of polymers³ but the sustainable bio-based monomers obtained by bio-refinery process are aliphatic or cycloaliphatic. Bio-based aromatic compounds can be extracted from the lignin or tannins but their industrial valorisation is limited by their structural complexity. Currently, only vanillin is industrially extracted from the lignin. A variety of high performance resins^{4,5} and polymers^{6,7} have been recently developed with the derivatives of vanillin. Furthermore, essential oils constitute another source of free mono-aromatic compounds with a large spectrum of chemical structures. Among them, Eugenol is a

very interesting phenolic compound extracted from the clove oil, readily available which can be considered as an inexpensive functional monomer. The presence of two functional groups, vinyl and phenol groups, allowed the preparation of polyacetylenes^{8,9}, aromatic copolyesters¹⁰ or multiblock copolymers¹¹. A variety of eugenol derivatives including bisphenol¹², bisepoxy¹³, allyl-etherified eugenol^{14,15} or methacrylic derivatives have also been used to prepare renewable resins¹⁶. The biological properties of eugenol have long been used in dentistry^{17–20} to prepare dental resins. The terpenes are also abundant and inexpensive bio-based molecules. Several recent publications report the incorporation of essential oils as additives to prepare active packaging^{21–24}. Linalool, **L**, is an oxygenated terpenoid, which also provides very attractive antibacterial properties^{25–29}.

In this context, we prepared UV-cured networks by using thiol-ene formulation with allyl eugenol, (**AE**), Eugenol (**E**) or Linalool (**L**) as shown in **Figure 94**. To overcome the problem of the disappearance of antibacterial molecules over time, it is therefore worth considering to covalently-link the active molecules to ensure a more sustainable antimicrobial property. The main challenge of our study is, on the one hand, to probe the preservation of the antibacterial property of the cross-linked eugenol and, on the other hand, to enhance the activity by using eugenol (**E**) and linalool (**L**). The covalent insertion of native eugenol in the network should upgrade the antibacterial adhesion and the antioxidant properties thanks to the presence of phenol groups. Moreover, the introduction of an intrinsically anti-bacterial acyclic monoterpene, linalool, should modulate the mechanical properties of the material. Thermomechanical properties of the resulted materials were investigated and the effects of the composition on these properties are discussed. Their antioxidant activity and bacterial adhesion against the both pathogenic mono-species, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* are studied.

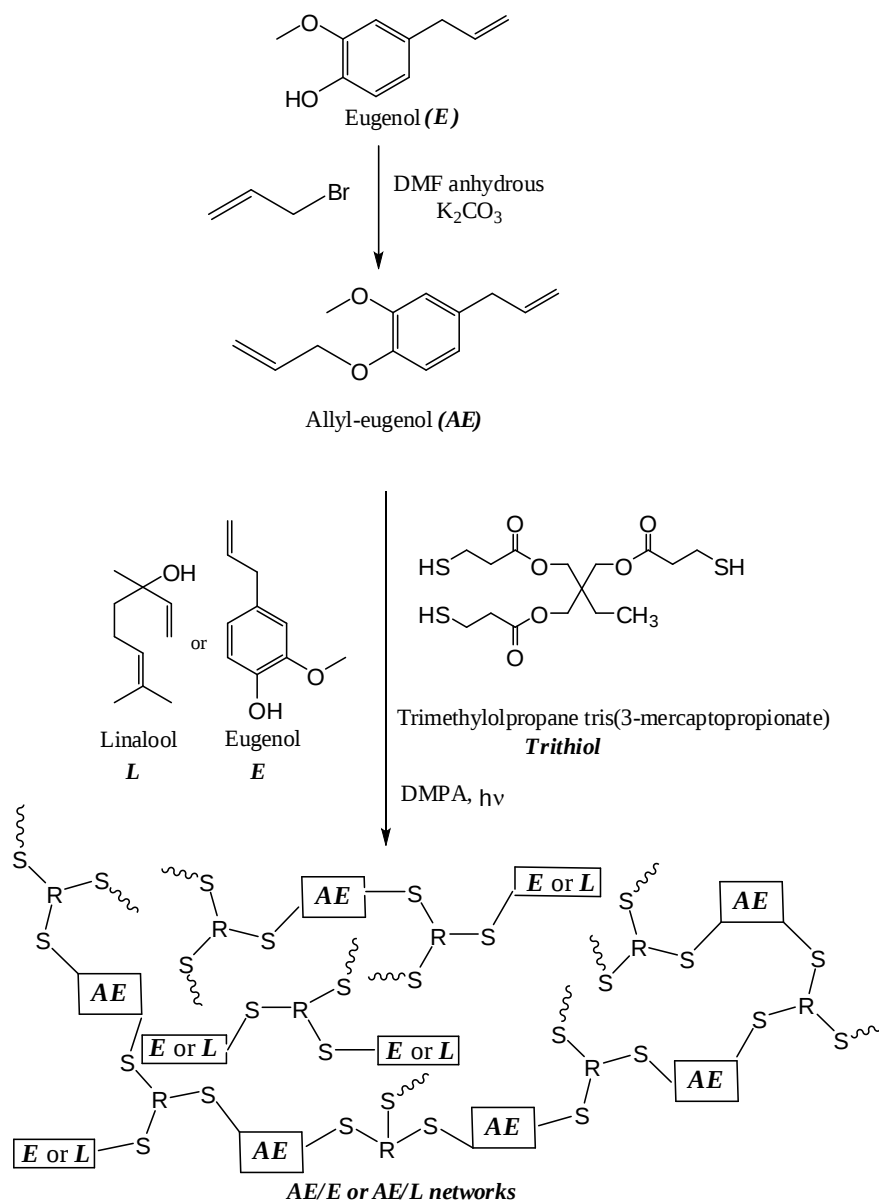


Figure 94: Synthesis of the allyl-eugenol AE and the formation of the allyl-eugenol /eugenol AE/E or allyl-eugenol /linalool AE/L networks by thiol-ene reaction.

II.4.4 Experimental Section

II.4.4.1 Materials

Trimethylolpropane tris(3-mercaptopropionate) $\geq 95\%$ (Trithiol), linalool (*L*) 97% and potassium carbonate (K_2CO_3) 99% were purchased from Aldrich. Eugenol (*E*) 99% and allyl bromide 99% stab. with 300-1000 ppm propylene oxide were obtained from Alfa Aesar. 2,2-

dimethoxy-1,2-diphenylethan-1-one (DMPA) was provided by BASF company. N,N-dimethylformamide anhydrous, methanol and ethyl acetate were purchased from Carlo Erba Reagents. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and Lysogeny Broth, Miller (LB medium) were purchased from Aldrich. Other chemicals for this study were analytic reagents obtained from Aldrich and used without purification.

II.4.4.2 Instrumentation

^1H NMR (400 MHz) spectra were recorded on a Bruker AV 400M in CDCl_3 at 25°C . FT-IR spectra were recorded on a Bruker Tensor 27 spectrometer with 32 scans equipped with an ATR apparatus. Measurements were performed on a Horiba Xplora confocal Raman microscope (Horiba Jobin Yvon) equipped with an external excitation source (638 nm He-Ne laser). The objective lenses used in the study were 50x long-working distance (Long Working Distance M Plan Semi-Apochromat, LMPLFL50x, Olympus) and 10x (M Plan Achromat, MPLN10x, Olympus), operating in air. Spectral acquisition was obtained using LabSpec software (Horiba Scientific, Edison, New Jersey). Raman spectra were recorded at a resolution of 1 cm^{-1} in the range between 4000 and 200 cm^{-1} . Repeated acquisitions using the highest magnification were accumulated to improve the signal-to-noise ratio. Spectra were calibrated using the 520.5 cm^{-1} line of a silicon wafer. Spectral details were as following; objective: $\times 50$, filter: 100 %, exposition: 10, slit: 50, hole: 500. Spectra were averaged from two to five accumulations, each with an acquisition time ranging from 15 s to 5 min. The conditions of measurement were adjusted depending on the type of the matrices to obtain a good signal-to-noise ratio.

X-ray photoelectron (XPS) measurements were made with a Thermo Scientific K-Alpha apparatus. Survey scans were done using a monochromatic Mg $\text{K}\alpha$ X-ray source (12 KeV, 2 mA) with a spot diameter of 25 mm^2 operated in a low power mode (24 W). A pass energy of 10 eV was used for the detailed XPS scans. XPS spectra were obtained with an energy step of 0.05 eV with a dwell time of 200 ms. Data acquisitions have mainly been focused on the C1s, O1s core level lines. The spectra obtained were treated by means of the “Avantage” software provided by ThermoFisher. The C1s and O1s envelopes were analyzed and peak-fitted using Gaussian line shapes. The binding energy scale was fixed by assigning a binding energy of 284.8 eV to the $-\text{CH}-$ carbon (1s) peak.

Water contact measurements were performed with the Drop Shape Analysis system Krüss Easy DROP Contact Angle measuring system apparatus controlled by the DSA software.

The thermal properties of the networks were measured by Differential Scanning Calorimetry (DSC). The measurements were conducted on Perkin Elmer Diamond DSC apparatus according to the following heating programs: heating from -60 to 170°C at $20^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$, cooling to -60°C at $200^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ holding at 60°C for 5 min and heating to 170°C at $20^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ to determine the glass transition temperatures. Thermogravimetric analyses (TGA) were performed on a Setaram Setsys Evolution 16 apparatus by heating from 20°C to 800°C at $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ under argon atmosphere. Mechanical properties were conducted at room temperature on an Instron 5965 apparatus equipped with a 20mN sensor at a crosshead displacement rate of $1\text{mm}.\text{min}^{-1}$.

II.4.4.3 Preparation and characterization of the samples

Synthesis of allyl-eugenol (AE)

Allyl-eugenol was synthesized by the Williamson reaction. Eugenol (2 g, $1.2.10^{-2}$ mol) was dissolved in 20 mL of N,N-dimethylformamide and 2 eq of K_2CO_3 were added. The mixture was cooled in an ice bath. The solution became yellow and turned green. Allylbromide (2 eq) were added dropwise by a funnel and the solution was stirred for 72h. Then, a large volume of water was added and the solution was stirred 30min. Finally, the solution was several extracted with ethyl acetate and the organic layer was washed with water, then dried under MgSO_4 and concentrated to give the final yellow liquid product with a yield of 90 %. The ^1H NMR spectrum (**Figure 95**) shows the appearance of new signals at 5.96, 5.39 and 5.26 ppm characteristic of unsaturated allyl groups derived from etherification reaction of eugenol which confirms the success of the reaction. The etherification reaction was quantitative as indicated by the ratios of both alkene groups.

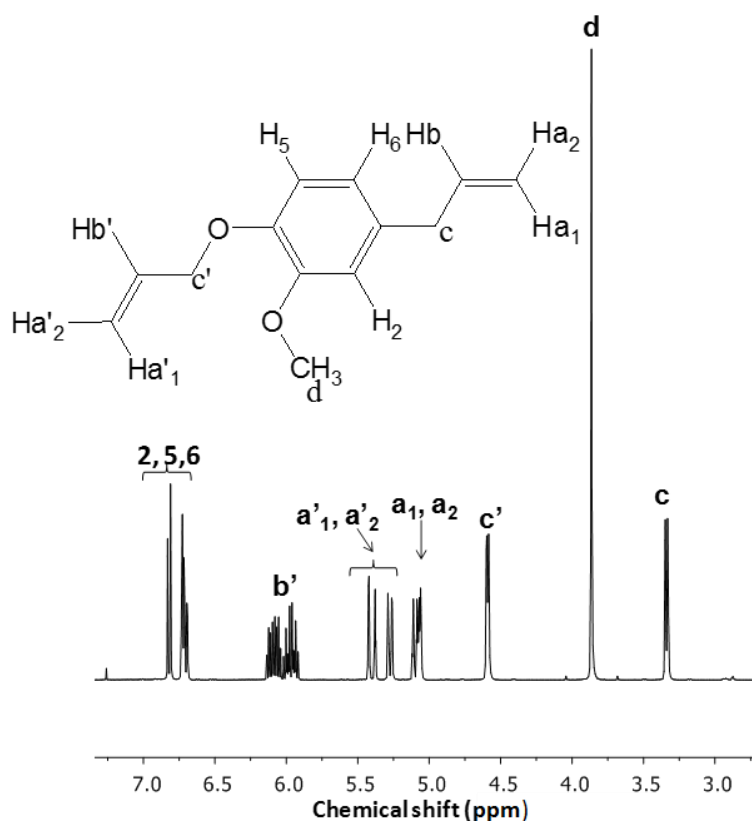


Figure 95: ^1H NMR spectrum of allyl-eugenol AE in CDCl_3 .

Allyl-eugenol/eugenol networks preparation, AE/E networks

As an example, the synthesis of 70-30 (w/w%) **AE/E** network ($\text{SH/C}=\text{C} = 1$) is described here. **E** (84 μL , 90 mg, $4.4 \cdot 10^{-4}$ mol) and DMPA (3% w/w) were dissolved in **AE** (210 mg, $1.3 \cdot 10^{-3}$ mol). Trithiol (429 mg, $1.1 \cdot 10^{-3}$ mol, 1eq. $\text{SH/C}=\text{C}$) were added to the solution. The formulation was poured into a silicone mould (1.8 x 4 cm) and heated at 60 $^\circ\text{C}$ during at least 1 h then irradiated 5 min at room temperature by Lightning LC8 (L8251) from Hamamatsu equipped with a mercury-xenon lamp (200W) coupled with a flexible light guide. The end of the guide was placed at 11cm of the sample to give the transparent and flexible resulted material. The maximum UV light intensity at the sample position was measured by radiometry (International Light Technologies ILT 393) to be 180 $\text{mW} \cdot \text{cm}^{-2}$ in the 250-450 nm. The extent of conversion was measured via FT-Raman spectroscopy from the band 2600 cm^{-1} corresponding to the SH bonds after the normalization of the spectrum to the ester carbonyl peak at 1735 cm^{-1} . The relative conversion α was calculated according to the **Equation 2**:

$$\alpha = \left(\frac{R_0 - R_t}{R_0} \right) \times 100$$

Equation 2

With $R_0 = \frac{I_{SH}}{I_{C=O}}$, before irradiation and $R_t = \frac{I_{SH}}{I_{C=O}}$, after irradiation

Water uptake determination

Prior to the water uptake measurements, the samples were dried under vacuum. They were placed in a conditioning closed chamber over a saturated solution of NaCl to obtain a water saturated atmosphere of 75% at room temperature. The percentage uptake of moisture into the material was measured by a coulometric method at $t = 0$ s and after 18 h. The 831 K F Coulometer Metrohm was equipped with a 728 Stirrer and an 860 KF Thermoprep Metrohm.

Soluble extract determination

The samples were treated with 10 mL of diethyl ether stirred in a flask during 3h at room temperature. The remaining residue and the film were weighed after the solvent evaporation under vacuum.

Real Time Fourier Spectroscopy kinetics of allyl eugenol AE conversion in network formed by photochemistry

Kinetics of the photo-addition reactions were followed by Real-Time Fourier Transform Infra Red Spectroscopy (RT-FTIR) using a Thermo-Nicolet 6700 instrument and 80 μ L of a liquid mixture composed of *AE*, *L* or *E* and trithiol. The photoinitiator (DMPA) was dissolved to a 3 % w/w dilution. This sample was applied to a BaF₂ chip by a calibrated wire-wound applicator. The thickness of the UV curable film was estimated to be 4 μ m. The RT-FTIR analyses were carried out under laminated conditions: a polypropylene film was deposited on the top of the photosensitive layer to prevent oxygen diffusion. Samples were simultaneously exposed for a few seconds to both the UV beam, which starts the photoreaction, and the IR beam which analyzes the extent of the photoreaction *in situ*. The mixture was irradiated at room temperature with the Hamamatsu lightening cure LC8 (L8251), equipped with a Mercury-Xenon lamp (200 W) coupled with a flexible light guide. The end of the guide was placed at a distance of 11 cm of the sample's surface. The light intensity on the surface of the sample was about 180 mW. cm⁻². The thiol-ene photo-addition was monitored by the disappearance of the C=C bonds of (*AE*) at 1647 cm⁻¹ and of the SH bonds of the trithiol at 2560 cm⁻¹.

Bacterial adhesion

The anti-adherence activity of the networks was evaluated using two pathogenic bacterial strains: *Staphylococcus aureus* ATCC6538 (Gram-positive) and *Escherichia coli* ATCC25922 (Gram-negative) which were grown aerobically at 37°C overnight on LB medium before the bacterial adhesion tests. The samples of *AE*-based networks were immersed 1h at 37°C and stirred in the bacterial suspension of the two different strains ($Ab_{S600nm} = 0.05$). The non-adherent bacteria were then removed from the network surface by several washes with a physiological saline buffer. The networks were then submitted to vortex and ultrasounds in a minimum volume of saline buffer to unhook fasten bacteria. Finally, 100 μ L of this resulting viable bacteria suspension were inoculated onto the surface of a PCA agar (Plate Count Agar) Petri dish. After 24 h of incubation at 37 °C in aerobic conditions, the antibacterial activity was measured by counting CFUs for the different strains. Each experiment was performed in six replicates. The software R was used to analyse the data. At least, six replicates of the experiments were conducted in order to allow a significant statistical analysis. The ANalysis Of the VAriance (ANOVA) statistical test was used and significant differences ($p < 0.05$) among antibacterial properties of the networks were detected thanks to the multiple range test of Duncan.

Antioxidant Activity

The antioxidant activity of the networks was determined according to the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method^{22,30–32}. About 100 mg of the network were immersed in 4 mL of 0.1 mM DPPH solution (in methanol). This solution was then left in the dark for 60 min at room temperature. The radical scavenging activity was measured by using a Varian Cary 50 Bio UV-Visible spectrophotometer controlled by the CaryWinUV software. The DPPH solution is well known to have a maximum absorption band at 517 nm. The antioxidant activity was therefore determined by monitoring the decrease of the absorbance at this wavelength. The radical scavenging activity was calculated according to the **Equation 3**:

$$\text{Radical scavenging activity (\%)} = \left(\frac{A_{ref} - A_s}{A_{ref}} \right) \times 100 \quad \text{Equation 3}$$

where A_{ref} corresponds to the absorbance of the 0.1 mM DPPH solution without network and A_s corresponds to the absorbance of the 0.1 mM solution of DPPH with the network at 517 nm.

II.4.5 Results and Discussion

II.4.5.1 Preparation of networks

This study entails the design of photoinduced thiol-ene networks based on allyl-eugenol (*AE*), eugenol (*E*) or linalool (*L*) in presence of DMPA (**Figure 94**). The first step consisted in the synthesis of allyl eugenol (*AE*) by reaction of eugenol with allyl bromide. The eugenol networks were prepared by thiol-ene reaction of unsaturated *AE* with the trithiol in presence of DMPA as photoinitiator under UV irradiation. This procedure is an easy and modular synthetic methodology for the preparation of networks with variable properties as it was previously described³³. For this study, materials containing different percentage of *AE*, from 50 to 100 %, were prepared. For all compositions studied, the initial stoichiometry C=C/SH was maintained to 1/1. **Figure 96** shows the FT-IR spectra of *E*, *AE* and *AE/E (70/30)* mixture before irradiation. The stretching band of C=C groups for both *AE* and *E* appears at 1647 cm⁻¹ and the absorption of the SH groups can be identified at 2560 cm⁻¹. The success of the reaction was confirmed by the decrease of the SH bond after irradiation. The kinetics profiles of the disappearance of the SH functions was determined (**Figure 97**). After 50 s of irradiation, high conversions (80-85%) of SH were obtained, confirming the efficacy and the speed of the reaction. Raman spectroscopy has been also used to follow the cross-linking process of our different compositions. **Figure 98** shows a characteristic peak at 1700 cm⁻¹ for the carbonyl group and a strong characteristic peak at 2570 cm⁻¹ for the SH group facilitating the calculation of the conversion in comparison with FTIR results. Different samples were prepared by varying the percentage of linalool from 0 to 100%.

In the case of the monofunctional eugenol, only 30% can be added since higher amounts led to insufficiently cross-linked materials. Nevertheless, the weight percent of linalool can increase 50% thanks to the presence of the two double bonds able to react by thiol-ene reaction. As reported in **Table 3**, the conversion of SH group, determined by Raman spectroscopy was higher than 90 % in comparison with the one measured in laminated conditions by FTIR (80-85 %). This difference can be explained by the difficulty to monitoring the SH band by Real-Time FTIR due to the weakness of the SH band. However, despite the stoichiometry, a total conversion was not achieved. By contrast, the study of the soluble extract (< 5%) highlighted a high cross-linking density. The non-quantitative conversion may due to the decrease of the molecules mobility at high conversion that diminishes the access to reactive groups.

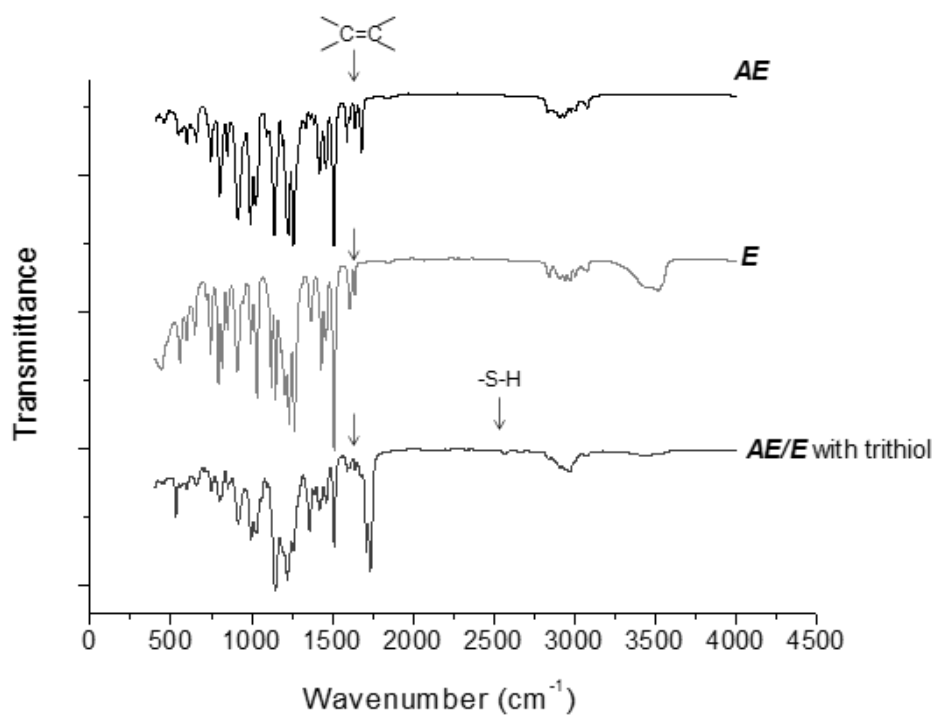


Figure 96: FTIR spectra of allyl-eugenol (AE), linalool (L) and allyl-eugenol/linalool (AE/L) (70/30) in presence of trithiol before irradiation.

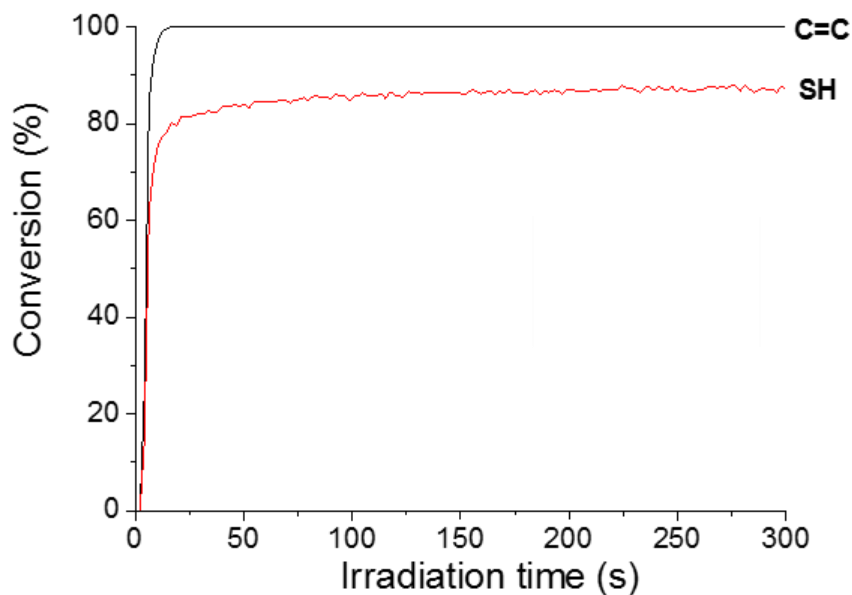


Figure 97: Real-time FTIR kinetic profiles of the formation of allyl-eugenol AE networks with trithiol in presence of DMPA(3wt%) in laminated conditions Xe-Hg lamp ($I=100\%$).

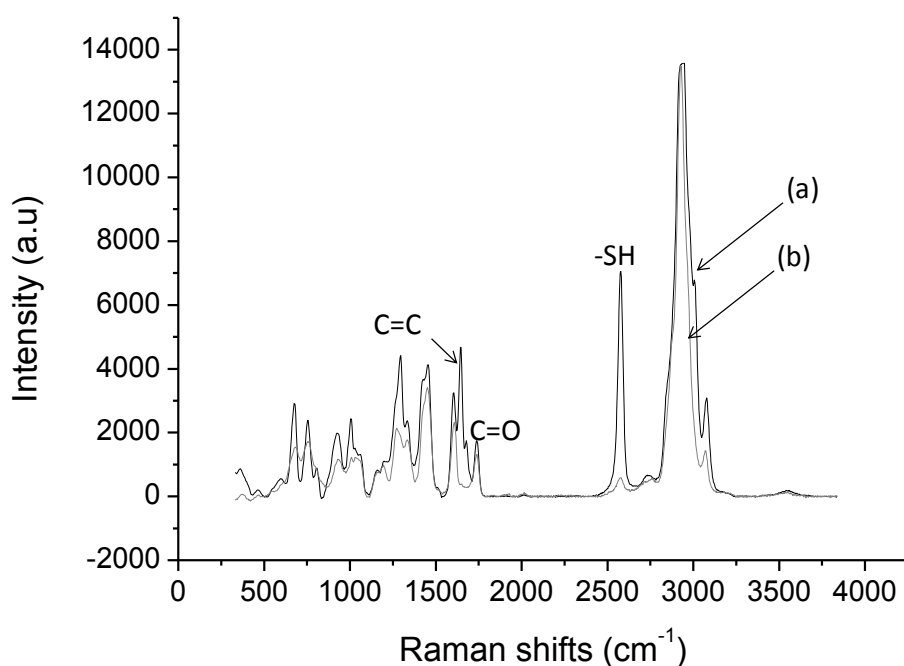


Figure 98: RAMAN spectra of AE/L (70/30) (a) before and (b) after 300s of irradiation.

Table 3: Characteristics of allyl-eugenol/eugenol AE/E or allyl-eugenol/linalool AE/L networks

Composition (w/w %)	<i>AE/L (100/0)</i>	<i>AE/L (70/30)</i>	<i>AE/E (70/30)</i>	<i>AE/L (50/50)</i>
Thickness (mm)	0.25 ± 0.01	0.43 ± 0.01	0.24 ± 0.03	0.34 ± 0.03
SH Conversion ^{a)} (%)	95	92	93	92
Soluble extract ^{b)} (%)	3	1	3	3

^{a)}Determined by RAMAN, ^{b)}Determined by gravimetry

II.4.5.2 Characterization of the networks

As expected, the water contact angle diminishes from 73° to 62° with the decrease of the aromatic moieties amount from 100 % to 50 % (**Table 4**). To investigate the presence of functional groups outsourced to the surface of the networks, XPS analyses were performed. The deconvolution of the C1s band (**Figure 99**) reveals that *AE/L (70/30)* and *50/50*) and *AE/E (70/30)* are composed of five peaks. **Table 5** presents the values of binding energy and relevant content of functional groups. Based on binding energy, the characteristics peaks at 284.3, 284.8,

285.7, 286.4 and 289.2 eV are attributed to C-C aromatic (A), C-C/C-H aliphatic (B), C-OH phenolic and aromatic ether (C), C-OH and aliphatic ether (D), and C=O (E) respectively. The assignments are in agreement with the literature^{34–37} and the C-S peak cannot be distinct in the spectra due to the overlap by the C-C peak³⁸. For 100% *AE*, an additional peak appears corresponding to π - π^* transitions in the aromatic carbon at 289.5 eV (F).

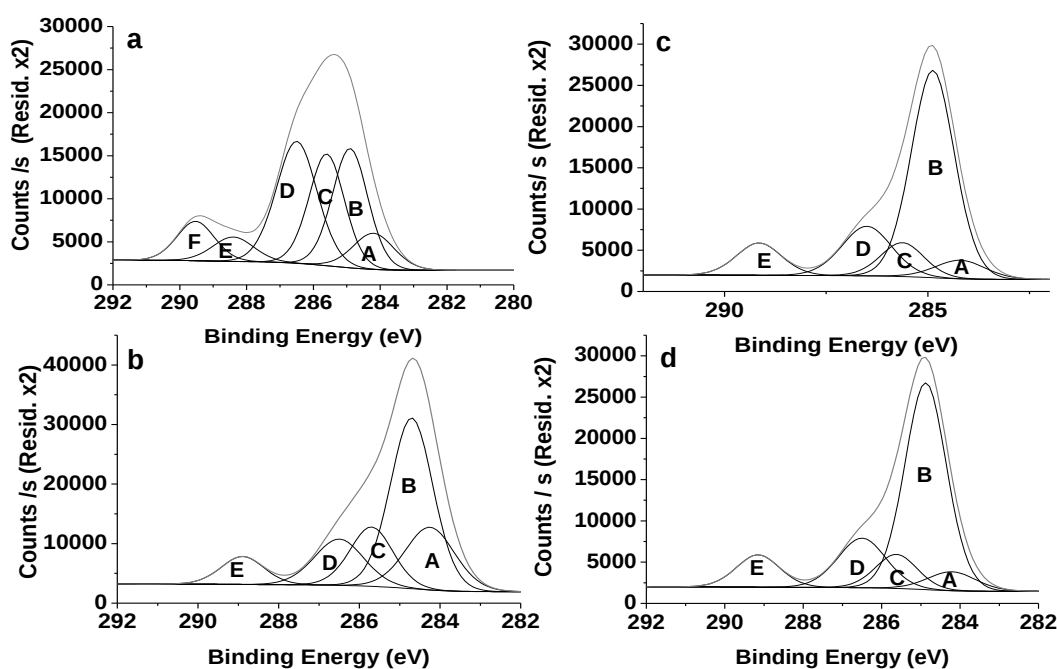


Figure 99: XPS spectra of (a) allyl-eugenol AE (100%), (b) allyl-eugenol/eugenol AE/E (70/30), (c) allyl-eugenol/linalool AE/L (70/30) and (d) allyl-eugenol/linalool AE/L (50/50) networks.

As reported in the **Table 5**, the intensities of the peaks C and D corresponding to both C-O (aromatic and aliphatic) are higher for *AE* network than these obtained in the case of the *AE/E* (70/30) network. This is in line with the chemical structure of *AE* that contains two types of $C_{\text{aromatic}}\text{-O-}C_{\text{aliphatic}}$ bonds. The C1s peaks of *AE/L* are quite similar to those of the *AE/E*, but the ratio D/C in *AE/L* networks is higher than those obtained in the *AE/E* material. This ratio increases slightly with the linalool content suggesting that the hydroxyl groups from linalool are located on the surface. In the same way, for an equal proportion of eugenol (**Figure 99 b et c**) the peak C is higher for the *AE/E* network in comparison with the *AE/L* meaning that phenol groups are present on the surface which should play a valuable role in the biological properties. Furthermore, the water sensitivity of the networks was investigated by measuring the amount of water taken up by conventional Karl Fisher titration. The water uptakes remained lower than 5 % after 18 h exposition to an atmosphere with about 75 % of relative humidity indicating that

the samples were not sensitive to water. These results can be explained by the presence of aromatic moieties deriving from the eugenol. Thus, the mechanical integrity will be preserved after being exposed to an aqueous medium and no degradation reactions will be occurred.

Mechanical and thermal properties were investigated and reported in **Table 4**. The formation of flexible thioether linkages induces low glass transition temperatures ($< 0^{\circ}\text{C}$) as reported previously^{39–41}. The T_g values do not vary significantly with the composition of the networks suggesting that the cross-linking density is similar. Thermal degradation was determined by TGA at the temperature corresponding to 5 % of mass loss. The thermal degradation temperatures of *AE/L* and *AE/E* networks were between those of linalool and *AE* networks. The presence of *AE* aromatic units increases the thermal stability. The determination of the Young's modulus (E), the strain (ϵ) and the tensile stress (σ_T) was performed. Mechanical results obtained from stress-strain curves are listed in **Table 4** and presented in **Figure 100**. Similar trends were observed in the strain and the tensile stress values of the materials, reflecting the interplay between the linear soft linalool units and the crosslink density. The introduction of the monofunctional eugenol in the formulation leads to a reduction in the mechanical properties due to a decrease of crosslinking.

Table 4: Characterization of AE-E or AE-L networks

Composition (w/w %)	T_g^{a)} (°C)	T_{5%}^{b)} (°C)	Θ^{c)} (°)	E^{d)} (MPa) ^{e)}	σ_R^{d)} (MPa)	ε_R^{d)} (%)	Water up take^{e)} (%)
<i>AE/E</i> (100/0)	-1	323	73	5.1 ± 0.4	2.1 ± 0.1	48 ± 4	0.2
<i>AE/L</i> (70/30)	-5	301	70	3.7 ± 0.3	2.7 ± 0.3	50 ± 6	0.4
<i>AE/L</i> (50/50)	-5	271	62	3.1 ± 0.2	2.3 ± 0.1	50 ± 3	0.5
<i>AE/E</i> (70/30)	-4	305	83	1.1 ± 0.1	0.7 ± 0.02	92 ± 10	0.3

^{a)}Determined by DSC, ^{b)}T_{5%} : temperature of 5% weight loss of the networks determined by TGA, ^{c)}Determined by water contact measurements, ^{d)}Determined by tensile measurements, ^{e)}Determined by coulometry after 18h of exposure

Table 5: C1s peaks assignments and surface concentration of C1s peaks fitting (at. %)

Peak	A	B	C	D	E	F
Composition	C=C 284.2 eV	C-C/C-H 284.8 eV	C-O/C-OH aromatic 285.7 eV	C-O/C-OH aliphatic 286.4 eV	C=O 288.5 eV	π - π^* 289.3 eV
<i>AE/E (100/0)</i>	8.6	24.7	23.1	29.1	5.8	8.6
<i>AE/E (70/30)</i>	17.1	46.5	16.2	12.6	7.6	
<i>AE/L (70/30)</i>	5.4	60.7	9.9	14.5	9.4	
<i>AE/L (50/50)</i>	6.2	58.5	9.6	16.2	9.4	

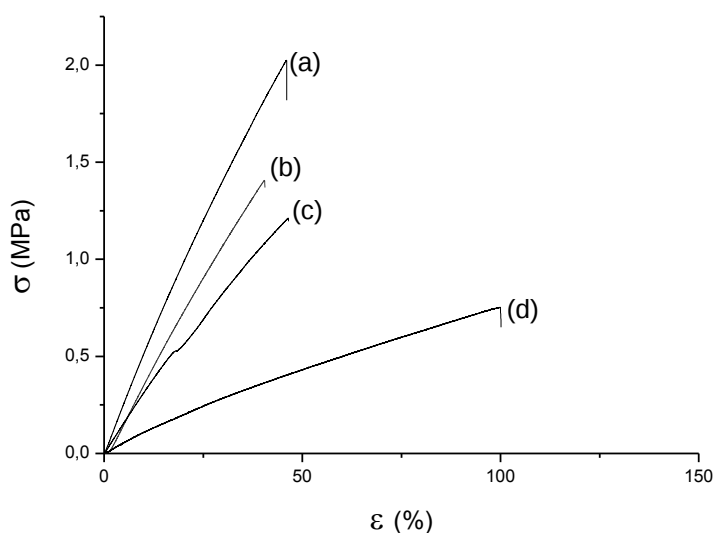


Figure 100: Tensile tests of (a) allyl-eugenol AE (100%) (b) allyl-eugenol/linalool AE /L (70/30) (c) allyl-eugenol/linalool AE /L (50/50) and (d) allyl-eugenol/eugenol AE /E (70/30) networks.

II.4.5.3 Anti-adhesion activity

The anti-adhesion properties of the networks were studied with the two strains of bacteria after 1h of incubation in the bacterial suspension. **Figure 101** shows the number of adhered bacteria (CFU/cm²) calculated by the ANOVA and StatAdvisor post-tests. The bacterial adhesion depends on the strains of the bacteria. The CFU/cm² values of *S. aureus* were systematically lower than those obtained with *E. coli*. These results indicate that the systems based on *AE* alone or associated with eugenol or linalool present intrinsic antifouling properties. Indeed, the adhesion is lower with eugenol derivatives, indicating that the presence of the aromatic moieties induces an increase of the antibacterial efficiency. It can be assumed that the decreasing of the

bacterial adhesion can be related to the higher hydrophobicity of the *AE* networks. The presence of linalool led to a lower efficiency towards the bacteria adherence. Presumably, these results are partly linked to the presence of the aromatic derivatives and are independent from the hydroxyl amounts. *S. aureus* exhibits a preference for the attachment on hydrophobic surfaces^{42,43} and, the anti-adherence activity showed here can be explained by the aromatic moieties of the eugenol. Furthermore, the phenol group in the *AE/E 70/30* networks showed an improving anti-adhesive property as it was reported in the case of free eugenol^{44,45}. The presence of 30 wt % of eugenol in the *AE* networks decreased the CFU/cm² values of 57 % for *S. aureus* strains but there was no statistically significant difference for *E. coli* according to the ANOVA statistical test since the *AE* networks exhibit a promising anti-adhesive property which was not significantly improved by introducing 30 wt % of eugenol (**Figure 101**).

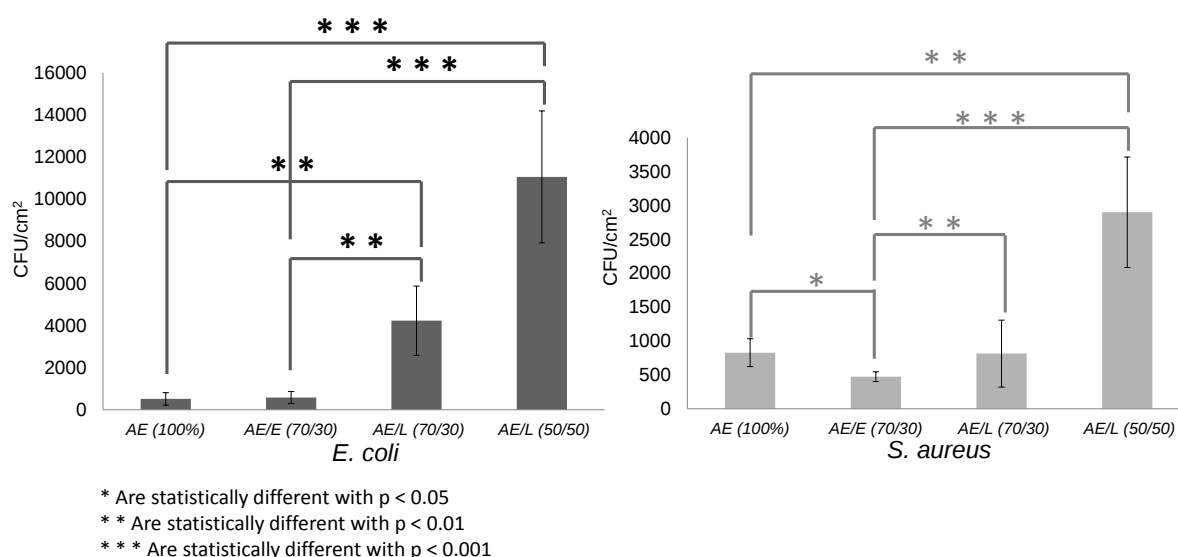


Figure 101: Antibacterial tests of allyl-eugenol/eugenol AE/E and allyl-eugenol/linalool AE/L networks.

II.4.5.4 Antioxidant activity

DPPH is a free radical widely used to determine the antioxidant activity of molecules^{22,30,31,46,47}. Indeed, when this radical having a maximum of absorption at 517 nm, reacts with an hydrogen donor such as antioxidant, the absorbance decreases⁴⁸ and consequently there is a discoloration of the solution from purple to pale yellow. The results of the antioxidant activity of the networks are shown in **Figure 102**. An increase in the presence of phenol groups in the networks led to an increase of the activity from 23 % to 90 % for the *AE* and *AE/E (70/30)* networks

respectively. These results were confirmed by the discoloration of the DPPH solution showing the importance of the presence of phenol group to keep an antioxidant activity.

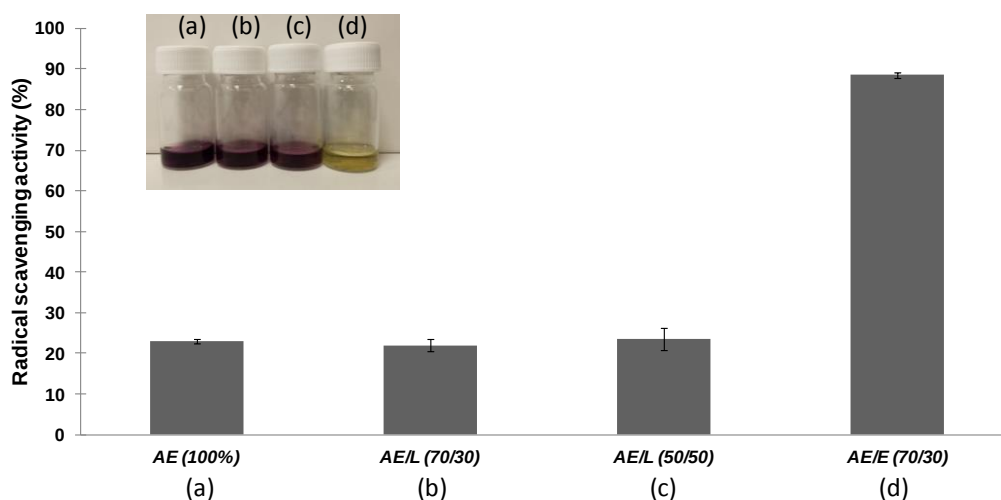


Figure 102: Antioxidant activity of the networks.

II.4.6 Conclusion

The powerful of thiol-ene addition was used to design solvent-free bio-based networks from eugenol and linalool. Transparent networks from sustainable compounds were successfully synthesized. The photoinitiated thiol-ene addition of allyl-eugenol *AE* and linalool *L* or eugenol *E* is a straightforward and efficient route to design renewable networks with a high crosslinking density. Moreover, the anti-adhesion properties against *S. aureus* and *E. coli* were particularly significant for the *AE/E* (70/30) network. The presence of 30 % of native eugenol with free phenol moieties promotes the anti-adhesion activity and leads to anti-oxidant properties. Finally, the new bio-based materials are not affected by water penetration under high moisture conditions. Eugenol represents a very promising compound for the elaboration of new bio-based networks. The intrinsic antibacterial and antioxidant properties of this compound could be very interesting in many fields such as food packaging

II.4.7 Conclusion du sous-chapitre

Dans cette deuxième sous-partie, l'étude des propriétés antibactériennes contre *E. coli* et *S. aureus* a démontré que les propriétés antiadhésives du linalol et de l'eugénol étaient conservées malgré les liaisons covalentes. Celle-ci a également mis en lumière l'efficacité de l'eugénol sur les deux souches par rapport à l'isosorbide puisqu'une diminution de l'adhérence des bactéries atteignant 93% dans le cas du staphylocoque doré et 80% dans le cas d'*Escherichia coli* est observée pour les réseaux 100% eugénol par rapport aux réseaux 100% isosorbide.

De plus, la fonctionnalisation du phénol de l'eugénol natif n'a pas entraîné de diminution des propriétés antiadhésives des réseaux. En effet, dans le cas de la souche *E. coli*, aucune différence significative des propriétés antiadhésives des réseaux n'a été observée en présence d'eugénol natif. En revanche, dans le cas de la souche *S. aureus*, la présence de 30% d'eugénol natif permet une diminution de 57% de l'adhérence des bactéries. Ainsi, ces deux premières parties du chapitre II ont démontrées l'importance de la présence des fonctions alcool ou phénol, à la surface des matériaux qui sont responsables de l'interaction avec les membranes des bactéries, dans l'activité biologique des matériaux.

Outre ses propriétés antibactériennes, l'eugénol natif possède une forte activité antioxydante. En effet, l'étude des propriétés antioxydantes des matériaux a démontré que la présence de 30% massique d'eugénol natif dans les matériaux permettait de piéger 90 % des radicaux.

De plus, cette étude a démontré que la nature du cycle (bicyclique dans le cas de l'isosorbide ou aromatique dans le cas de l'eugénol) n'avait pas d'influence majeure sur les propriétés thermo-mécaniques des matériaux obtenus par réaction thiol-ène photoamorcée. En effet, les réseaux 100% isosorbide ou 100% eugénol fonctionnalisés ont des propriétés mécaniques équivalentes. Néanmoins, la fonctionnalité du co-monomère (mono ou difonctionnelle) influe sur les propriétés mécaniques des co-réseaux obtenus. La comparaison entre les co-réseaux **AE/L (70/30)** et **AE/E (70/30)** montre que la présence d'un composé difonctionnel tel que le linalol permet une augmentation des propriétés alors que celle d'un composé monofonctionnel comme l'eugénol entraîne une diminution de la rigidité caractérisée par l'augmentation de l'allongement à la rupture (multiplié par 1,8) et une diminution du module d'Young (divisé par 3,3) et de la contrainte à la rupture (divisée par 4).

Même si les propriétés biologiques des matériaux ont été améliorées en substituant l'eugénol à l'isosorbide, les propriétés thermo-mécaniques des matériaux n'ont pas été significativement impactées par ce changement dans le cas des réseaux 100% eugénol. En revanche, la fonctionnalité du co-monomère entraîne des différences thermo-mécaniques significatives dans le cas des co-réseaux. Néanmoins, la nature du cycle utilisé dans la synthèse des matériaux ne semble pas jouer un rôle assez important pour pallier à la flexibilité élevée des réseaux due à la formation de liaisons thioéther particulièrement souples. Ainsi, il serait judicieux d'étudier si l'incorporation d'un renfort de type minéral pourrait induire une augmentation des propriétés thermo-mécaniques.

Références

- (1) EuropaBio | We promote an innovative and dynamic environment for the biotech industry in Europe <http://www.europabio.org/> (accessed Dec 2, 2016).
- (2) Eissen, M.; Metzger, J. O.; Schmidt, E.; Schneidewind, U. 10 years after Rio—concepts on the contribution of chemistry to a sustainable development. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41* (3), 414–436.
- (3) Berezina, N.; Martelli, S. M. Bio-based polymers and materials. In *Renewable Resources for Biorefineries*; Chemistry, R. G., Series Ed.; ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY, 2014; pp 1–28.
- (4) Aouf, C.; Benyahyab, S.; Esnoufa, A.; Caillolb, S.; Boutevinb, B.; Fulcranda, H. Tara tannins as phenolic precursors of thermosetting epoxy resins. *Eur. Polym. J.* **2014**, *55* (1), 186–198.
- (5) Aouf, C.; Durand, E.; Lecomte, J.; Figueroa-Espinoza, M.-C.; Dubreucq, E.; Fulcrand, H.; Villeneuve, P. The use of lipases as biocatalysts for the epoxidation of fatty acids and phenolic compounds. *Green Chem.* **2014**, *16* (4), 1740–1754.
- (6) Mialon, L.; Vanderhenst, R.; Pemba, A. G.; Miller, S. A. Polyalkylenehydroxybenzoates (PAHBs): biorenewable aromatic/aliphatic polyesters from lignin. *Macromol. Rapid Commun.* **2011**, *32* (17), 1386–1392.
- (7) Pion, F.; Reano, A. F.; Ducrot, P.-H.; Allais, F. Chemo-enzymatic preparation of new bio-based bis- and trisphenols: new versatile building blocks for polymer chemistry. *RSC Adv.* **2013**, *3* (23), 8988–8997.
- (8) Rahim, E. A.; Sanda, F.; Masuda, T. Synthesis and properties of optically active amino acid based polyacetylenes bearing eugenol and fluorene moieties. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2006**, *44* (2), 810–819.
- (9) Rahim, E. A.; Sanda, F.; Masuda, T. Synthesis and properties of a novel polyacetylene containing eugenol moieties. *J. Macromol. Sci. Part Pure Appl. Chem.* **2004**, *41* (2), 133–141.
- (10) Waghmare, P. B.; Idage, S. B.; Menon, S. K.; Idage, B. B. Synthesis and characterization of aromatic copolyesters containing siloxane linkages in the polymer backbone. *J. Appl. Polym. Sci.* **2006**, *100* (4), 3222–3228.
- (11) Majumdar, P.; Chernykh, A.; Bao, H.; Crowley, E.; Zhang, S.; Bahr, J.; Weisz, M.; Ulven, C.; Zhou, T.; Moore, R. B.; et al. Synthesis and characterization of perfectly alternating polycarbonate-polydimethylsiloxane multiblock copolymers possessing controlled block lengths. *Polym. Eng. Sci.* **2014**, *54* (7), 1648–1663.
- (12) Harvey, B. G.; Guenther, A. J.; Yandek, G. R.; Cambrea, L. R.; Meylemans, H. A.; Baldwin, L. C.; Reams, J. T. Synthesis and characterization of a renewable cyanate ester/polycarbonate network derived from eugenol. *Polymer* **2014**, *55* (20), 5073–5079.
- (13) Qin, H.; Liu, H.; Zhang, S.; Wolcott, M.; Zhang, S. Use of eugenol and rosin as feedstocks for biobased epoxy resins and study of curing and performance properties. *Polym. Int.* **2014**, *63* (4), 760–765.
- (14) Yoshimura, T.; Shimasaki, T.; Teramoto, N.; Shibata, M. Bio-based polymer networks by thiol–ene photopolymerizations of allyl-etherified eugenol derivatives. *Eur. Polym. J.* **2015**, *67* (1), 397–408.
- (15) Neda, M.; Okinaga, K.; Shibata, M. High-performance bio-based thermosetting resins based on bismaleimide and allyl-etherified eugenol derivatives. *Mater. Chem. Phys.* **2014**, *148* (1–2), 319–327.
- (16) Rojo, L.; Vazquez, B.; Parra, J.; Bravo, A. L.; Deb, S.; San Roman, J. From natural products to polymeric derivatives of “eugenol”: a new approach for preparation of dental composites and orthopedic bone cements. *Biomacromolecules* **2006**, *7* (10), 2751–2761.

- (17) Sticht, F. D.; Smith, R. M. Eugenol: some pharmacologic observations. *J. Dent. Res.* **1971**, 6 (50), 1531–1535.
- (18) Laekeman, G. M.; van Hoof, L.; Haemers, A.; Vanden Berghe, D. A.; Herman, A. G.; Vlietinck, A. J. Eugenol a valuable compound for in vitro experimental research and worthwhile for further in vivo investigation. *Phytother. Res.* **1990**, 4 (3), 90–96.
- (19) Kaplan, A. E.; Picca, M.; Gonzalez, M. I.; Macchi, R. L.; Molgatini, S. L. Antimicrobial effect of six endodontic sealers: an in vitro evaluation. *Dent. Traumatol.* **1999**, 15 (1), 42–45.
- (20) Feng, J.; Lipton, J. M. Eugenol: antipyretic activity in rabbits. *Neuropharmacology* **1987**, 26 (12), 1775–1778.
- (21) Robertson, M. L.; Paxton, J. M.; Hillmyer, M. A. Tough blends of polylactide and castor oil. *ASC Appl. Mater. Interfaces* **2011**, 3 (9), 3402–3410.
- (22) Jouki, M.; Yazdi, F. T.; Mortazavi, S. A.; Koocheki, A. Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxydant and antibacterial properties. *Food Hydrocoll.* **2014**, 36 (1), 9–19.
- (23) Arrieta, M. P.; Lopez, J.; Hernandez, A.; Rayon, E. Ternary PLA-PHB-Limonene blends intended for biodegradable food packaging applications. *Eur. Polym. J.* **2014**, 50 (1), 255–270.
- (24) Bolton, J. M.; Hillmyer, M. A.; Hoyer, T. R. Sustainable thermoplastic elastomers from terpene-derived monomers. *ASC Macro Lett.* **2014**, 3, 717–720.
- (25) Habibi, Z.; Yousefi, M.; Mohammadi, M.; Eftekhari, F.; Biniyaz, T.; Rustaiyan, A. Chemical composition and antibacterial activity of the volatile oils from *Artemisia turcomanica*. *Chem. Nat. Compd.* **2010**, 46 (5), 819–821.
- (26) Kubo, I.; Fujita, K.-I.; Kubo, A.; Nihei, K.-I.; Ogura, T. Antibacterial activity of Coriander volatile compounds against *Salmonella Choleraesuis*. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52 (11), 3329–3332.
- (27) Lo Cantore, P.; Iacobellis, N. S.; De Marco, A.; Capasso, F.; Senatore, F. Antibacterial activity of *Coriandrum sativum* L. and *Foeniculum vulgare* Miller Var. *vulgare* (Miller) essential oils. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52 (26), 7862–7866.
- (28) Park, S.-N.; Kyong Lim, Y.; Oliveira Freire, M.; Cho, E.; Jin, D.; Kook, J.-K. Antimicrobial effect of linalool and α -terpineol against periodontopathic and cariogenic bacteria. *Anaerobe* **2012**, 18 (3), 369–372.
- (29) Iacobellis, N. S.; Lo Cantore, P.; Capasso, F.; Senatore, F. Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53 (1), 57–61.
- (30) Zouari, S.; Ketata, M.; Boudhrioua, N.; Ammar, E. *Allium roseum* L. volatile compounds profile and antioxydant activity for chemotype discrimination- Case study of the wild plant of Sfax (Tunisia). *Ind. Crops Prod.* **2013**, 41 (1), 172–178.
- (31) Kirby, A. J.; Schmidt, R. J. The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs. *J. Ethnopharmacol.* **1997**, 56 (2), 103–108.
- (32) Youbi, A. E. H.; Bousta, D.; Jamoussi, B.; Greche, H.; Mansouri, L.; Benjilali, J.; Soidrou, S. H. Activités antioxydante, apoptotique et antiproliférative de *Tetraena gaetula* (Emb. & Maire) Beier & Thulin et de *Berberis hispanica* Boiss. & Reut. originaires du Maroc. *Phytothérapie* **2012**, 10 (3), 151–160.
- (33) Lorenzini, C.; Versace, D. L.; Gaillet, C.; Lorthioir, C.; Boileau, S.; Renard, E.; Langlois, V. Hybrid networks derived from isosorbide by means of thiol-ene photoaddition and sol-gel chemistry. *Polymer* **2014**, 55 (17), 4432–4440.
- (34) Downarowicz, D. Adsorption characteristics of propan-2-ol vapours on activated carbon Sorbonorit 4 in electrothermal temperature swing adsorption process. *Adsorption* **2015**, 21, 87–98.

- (35) Reiche, S.; Blume, R.; Zhao, X. C.; Su, D.; Kunkes, E.; Behrens, M.; Schlogl, R. Reactivity of mesoporous carbon against water – An in-situ XPS study. *Carbon* **2014**, 77, 175–183.
- (36) Yu, B.; Wang, X.; Xing, W.; Yang, H.; Wang, X.; Song, L.; Hu, Y.; Lo, S. Enhanced thermal and mechanical properties of functionalized graphene/thiol-ene systems by photopolymerization technology. *Chem. Eng. J.* **2013**, 228, 318–326.
- (37) Zhu, C.; Guo, S.; Fang, Y.; Dong, S. Reducing sugar: new functional molecules for the green synthesis of graphene nanosheets. *ACS Nano* **2010**, 4 (4), 2429–2437.
- (38) Huang, J.; Xu, W. Zwitterionic monomer graft copolymerization onto polyurethane surface through a PEG spacer. *Appl. Surf. Sci.* **2010**, 256 (12), 3921–3927.
- (39) Carlsson, I.; Harden, A.; Lundmark, S.; Manea, A.; Rehnberg, N.; Svensson, L. Allyl Ethers in the Thiol-ene Reaction. In *Photoinitiated Polymerization*; AB, P. S. C., Ed.; ACS Symposium Series, 2003; Vol. 847, pp 65–75.
- (40) Claudino, M.; Mathevet, J.-M.; Jonsson, M.; Johansson, M. Bringing D-limonene to the scene of bio-based thermoset coatings via free-radical thiol-ene chemistry: macromonomer synthesis, UV-curing and thermo-mechanical characterization. *Polym. Chem.* **2014**, 5 (9), 3245–3260.
- (41) Sangermano, M.; Colucci, G.; Fragale, M.; Rizza, G. Hybrid organic–inorganic coatings based on thiol-ene systems. *React. Funct. Polym.* **2009**, 69 (9), 719–723.
- (42) Bazaka, K.; Jacob, M. V.; Truong, V. K.; Crawford, R. J.; Ivanova, E. P. The effect of polyterpenol thin film surfaces on bacterial viability and adhesion. *Polymers* **2011**, 3 (1), 388–404.
- (43) James, N. R.; Jayakrishnan, A. Surface thiocyanation of plasticized poly(vinyl chloride) and its effect on bacterial adhesion. *Biomaterials* **2003**, 24 (13), 2205–2212.
- (44) Chen, F.; Shi, Z.; Neoh, K. G.; Kang, E. T. Antioxidant and antibacterial activities of eugenol and carvacrol-grafted chitosan nanoparticles. *Biotechnol. Bioeng.* **2009**, 104 (1), 30–39.
- (45) Burt, S. A. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods :a review. *Int. J. Food Microbiol.* **2004**, 94 (3), 223–253.
- (46) Sanchez-Moreno, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci. Technol. Int.* **2002**, 8, 121–137.
- (47) Hajji, M.; Masmoudi, O.; Souissi, N.; Triki, Y.; Kammoun, S.; Nasri, M. Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil from *Periploca laevis* root barks. *Food Chem.* **2010**, 121, 724–731.
- (48) Shimada, K.; Fujikawa, K.; Yahara, K.; Nakamura, T. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J. Agric. Food Chem.* **1992**, 40 (6), 945–948.

II.5 Réseaux hybrides à base d'eugénol fonctionnalisé et de nanoparticules de ZnO

II.5.1 Introduction

Dans la deuxième partie de ce chapitre, nous avons démontré que la nature du cycle (bicyclique ou aromatique) avait peu d'influence sur les propriétés mécanique et thermique des matériaux obtenus par réaction thiol-ène puisque les co-réseaux à base d'eugénol fonctionnalisé à partir du bromure d'allyle présentent des propriétés similaires aux réseaux à base d'isosorbide. Néanmoins la fonctionnalité du co-monomère joue un rôle important, et l'introduction d'un composé difonctionnel permet une augmentation de la résistance du matériau consécutif à l'augmentation de la densité de réticulation.

De plus, la présence de fonctions phénol améliore de manière significative les propriétés biologiques des matériaux obtenus. En effet une diminution de 57% de l'adhérence des bactéries ainsi qu'une forte activité antioxydante sont observées dans le cas des co-réseaux possédant 30% de fonctions phénol.

Diverses études ont démontré que certains composés inorganiques présentaient des propriétés antibactériennes (argent, cuivre, mercure, nickel ou zinc)^{1,2}. Parmi eux, l'oxyde de zinc (ZnO) peu coûteux, efficace même en très faible quantité (quelques milligrammes) et présentant une stabilité physique et chimique connaît un intérêt grandissant ces dernières années (*Corrales, Innovations in Food Packaging, ch.7, 2014 ; Eskandari, Phys. B, 406, 2011 ; Kairyte, J. Photochem. Photobiol., B, 128, 2013; Sharma, Ceram. Int., 41, 2015*).

Les complexes d'oxyde de zinc-eugénol sont depuis longtemps utilisés en dentisterie dans la fabrication de ciments dentaires antibactériens (*Cummins, J. Dent. Res., 71, 1992, 1439-1449 ; Cummins, J. Dent. Res., 68, 1989, 1702-1705*). Ainsi, certains auteurs ont étudié le mécanisme de formation de ces complexes (*Copeland, J. Res. Nat. Bureau of Standards, 55, 1955, 133-138*). Des analyses par diffraction des rayons X et microscopie électronique ont montré qu'il s'agissait d'une complexe chélaté de formule brute $(C_{10}H_{11}O_2)_2Zn$ (eugénolate de zinc) (**Figure 103**). Ce composé, est donc susceptible d'améliorer la dispersion des NPs de ZnO dans la matrice. Ainsi, nous avons choisi les systèmes à base d'eugénol pour cette étude (et non ceux à base d'isosorbide) afin d'y piéger des biocides.

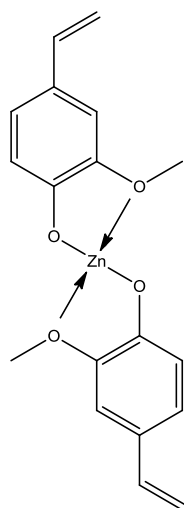


Figure 103: Structure du complexe chélaté d'eugénolate de zinc (Copeland, *J. Res. Nat. Bureau of Standards*, 55, 1955, 133-138)

Cette troisième partie portera donc sur le design de réseaux hybrides à base d'eugénol et de nanoparticules (NPs) de ZnO. Pour ce faire, les NPs seront dispersées dans la formulation allyl eugénol et trithiol avant la photoréticulation. Ces NPs de morphologie quasi-sphérique et de diamètre moyen égale à 12 nm ont été synthétisées par précipitation dans l'eau distillée activée par microondes (Rodriguez-Tobias, *J. Mater. Sci.*, 49, 2014, 8373-8385 ; Barreto, *J. Mater.*, 2013,2013, Article ID 478681). Leur analyse par diffraction des rayons X a démontré qu'elles possédaient une structure hexagonale de type zincite (Wang, Gao, *Inorganic Chemistry Communications*, 6, 2014, 877-881) (**Figure 104**).

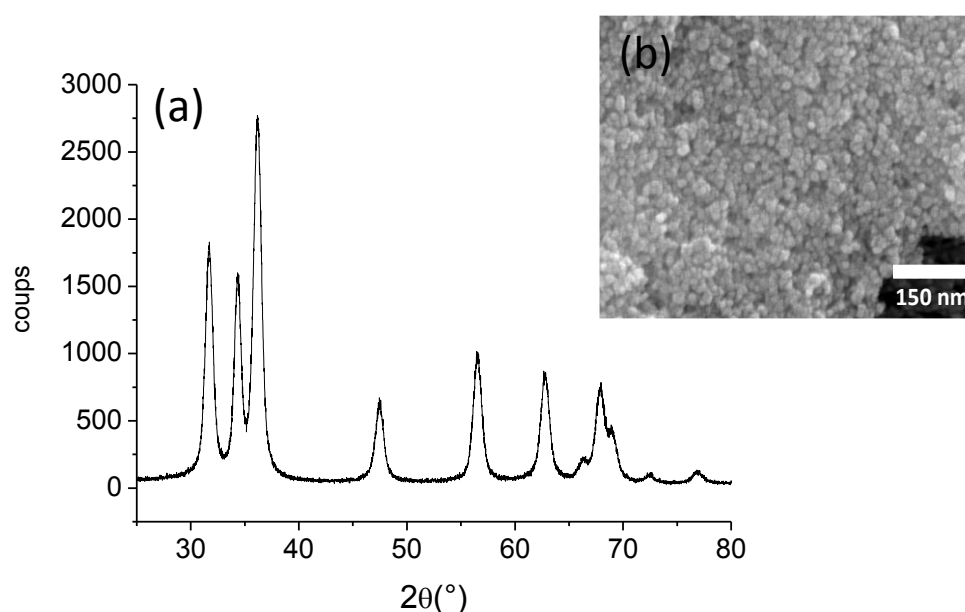


Figure 104: Spectre de diffraction des rayons X des NPs de ZnO(a) et image de microscopie électronique à balayage des NPs de ZnO (Rodriguez-Tobias, *J. Mater. Sci.*, 49, 2014, 8373-8385) (b).

L'impact de la présence de NPs dans le réseau sur les propriétés thermique et mécanique, sur la transparence des matériaux ainsi que sur l'activité antibactérienne contre les souches *E. coli* et *S. aureus* a été déterminé.

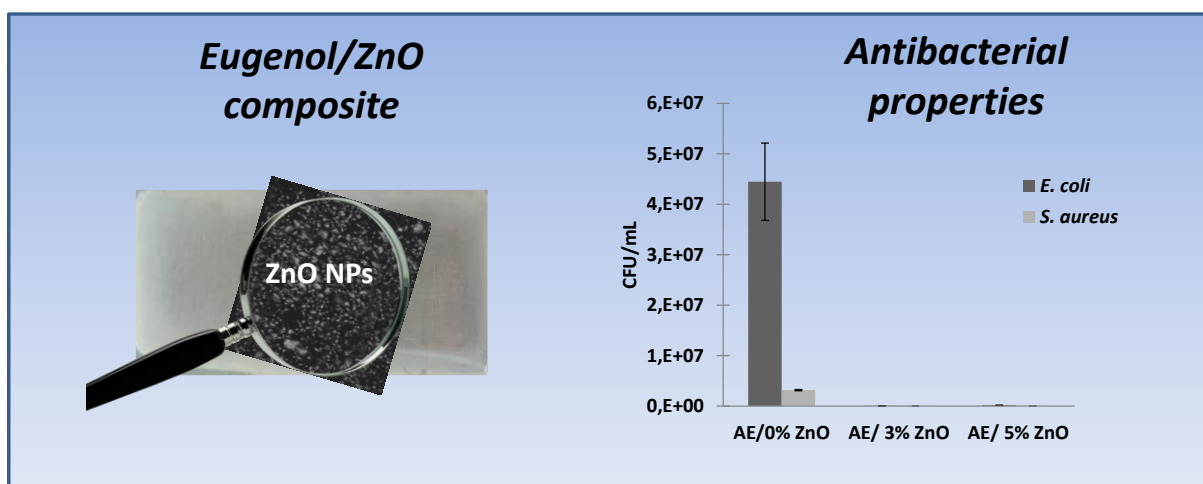
Les résultats de ces travaux seront présentés dans l'article UV-cured thiol-ene eugenol/ZnO composite materials with antibacterial properties publié dans le journal RSC Advances (6, 2016, 88135-88142).



UV-cured thiol-ene eugenol/ZnO composite materials with antibacterial properties

RSC Advances, 6, **2016**, 88135-88142

Tina Modjinou, Heriberto Rodriguez-Tobias, Graciela Morales, Davy-Louis Versace, Valérie Langlois, Daniel Grande and Estelle Renard



II.6.1 Abstract

New UV-cured allyl-eugenol networks have recently been developed as efficient antibacterial materials by using “click” chemistry. In recent years, multifunctional zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) have increasingly been used as effective antimicrobial inorganic compounds. The originality of this work lies in combining ZnO NPs with eugenol-based networks so as to enhance their antibacterial properties. This investigation highlights a straightforward one-step route to sustainable hybrid materials whose antibacterial properties against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* are improved without altering the network properties. These new hybrid materials with bioactive surface could be used for many biomedical applications.

II.6.2 Introduction

Nosocomial infections constitute a major healthcare issue. The bacteria *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* are the main microorganisms that are responsible for the largest part of these infections contracted in the hospital. Consequently, there is a need for the development of antibacterial materials meant for many applications, such as medical and hospital devices, health care products, water purification systems, dental surgery equipment as well as textiles or food packaging materials. Different technologies have been developed to prevent bacteria colonization on the materials surface through the use of specific modified polymer coatings, including hydrophilic polymers, zwitterionic polymers, super-hydrophobic polymers, and amphiphilic coatings^{3–5}. An alternative straightforward strategy consists in adding a chemical additive having antibacterial properties to a polymer matrix. There are two categories of antibacterial agents, *i.e.* organic vs. inorganic ones^{6,7}. Among inorganic components, zinc oxide (ZnO) appears very attractive due to its environmental friendliness, relative low cost and antimicrobial activity coupled to UV-blocking properties^{8–11}. The advantage of using inorganic oxides as antimicrobial agents is their strong antibacterial activity even when they are administered in small amounts¹². ZnO represents one of the multifunctional inorganic nanoparticles that has drawn increasing attention in recent years, thanks to its significant physical and chemical stability, high catalytic activity, effective antibacterial and bactericidal function, as well as intensive ultraviolet and infrared absorption¹³. Incorporating ZnO powder into formulation is currently used in the dentistry field, as filling, cement material⁵ or oral hygiene product^{14–16}. Several examples described antibacterial polymer coatings

combining ZnO with polymers, such as poly(vinyl pyrrolidone)¹⁷, poly(vinyl chloride) films¹⁸ or chitosan¹⁹. Such studies confirmed interest in ZnO polymer composite materials to achieve efficient antimicrobial surface for packaging or textile applications.

The main thrust of the present investigation is to combine ZnO nanoparticles (ZnO NPs) with bio-based networks to enhance their stability and antibacterial efficiency. Recently, we have developed UV-cured networks by using thiol-ene chemistry with allyl-eugenol derivatives²⁰. Eugenol extracted from clove oil is a very interesting phenolic compound, readily available, which may be considered as an inexpensive functional monomer. The reactivity of the phenol function provides the ability to obtain easily allylic derivatives, which can be used to prepare crosslinked materials by thiol-ene reaction. Thiol-ene crosslinking is a very attractive method to obtain high-density networks with good mechanical and physical properties^{21,22}.

Such crosslinked eugenol-based materials showed promising antiadhesive properties against *E. coli* and *S. Aureus*. Although the chemical process is very attractive because of its simple implementation and the low cost of precursors, there is some real challenge in enhancing the antimicrobial properties of the networks to reach a full bactericidal activity. To increase their antibacterial properties, it appears attractive to embed ZnO NPs within the networks derived from eugenol. Herein, we describe the preparation and characterization of thiol-ene crosslinked eugenol-based materials containing ZnO. The influence of ZnO on thiol-ene kinetics and network mechanical properties is carefully studied. The antibacterial activity of eugenol/ZnO composite networks is tested against one Gram-negative bacterium (*Escherichia coli*) and one Gram-positive bacterium (*Staphylococcus aureus*) commonly found in human pathogenesis.

II.6.3 Experimental Part

II.6.3.1 Materials

Trimethylolpropane tris(3-mercaptopropionate) $\geq 95\%$ (Trithiol) and tryptic soy broth (TBS: casein pepton (pancreatic) 17 g/L, dipotassium hydrogen phosphate 2.5 g/L, glucose 2.5 g/L, sodium chloride 5 g/L, soya peptone (papain digest) 3 g/L, pH = 7.3 $\pm$ 0.2) were purchased from Aldrich. 2,2-dimethoxy-1,2-diphenylethan-1-one (DMPA) was provided by BASF company. The other chemicals were analytical reagents obtained from Aldrich and used without purification.

ZnO nanoparticles were prepared according to a previous report²³. The nanoparticles had an average particle diameter of 12 nm. Their X-ray diffraction peaks exhibited a typical crystalline pattern with peaks corresponding to a hexagonal würtzite structure (results not shown).

II.6.3.2 Preparation of allyl-eugenol networks

Allyl-eugenol (**AE**) (300 mg, $1.47 \cdot 10^{-3}$ mol) that was synthesized according to a previous report²⁰, and DMPA (3wt%) were dissolved in Trithiol (391 mg, $1.09 \cdot 10^{-3}$ mol, 1eq. SH/C=C). The formulation was poured into a silicone mold (1.8 x 4 cm) and heated at 60°C during at least 1h, then it was irradiated for 5 min at room temperature with a Lightning LC8 (L8251) device from Hamamatsu equipped with a mercury-xenon lamp (200 W) coupled with a flexible light guide. The end of the guide was placed at 11 cm of the sample to give a transparent and flexible material. The maximum UV light intensity was measured by radiometry (International Light Technologies ILT 393) and was equal to $180 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$ in the 250-450 nm range. The extent of conversion was measured via Raman spectroscopy from the 2560 cm^{-1} band corresponding to the SH bonds after normalization of the spectra with the ester carbonyl band at 1735 cm^{-1} . The relative conversion α was calculated according to the **Equation 4**:

Equation 4

$$\alpha = \left(\frac{R_0 - R_t}{R_0} \right) \times 100$$

With $R_0 = \frac{I_{SH}}{I_{C=O}}$, before irradiation and $R_t = \frac{I_{SH}}{I_{C=O}}$, after irradiation

AE/ZnO hybrid networks were prepared in a similar way. For example, **AE**/5% ZnO was prepared by mixing 300 mg of **AE**, 391 mg of Trithiol, and 5 wt % ZnO nanoparticles as compared to the amount of **AE**. After ultrasonic treatment for 15 min at room temperature, the formulation was poured into a silicon mold (1.8 x 4 cm) and heated during at least 1h at 60°C. The sample was then irradiated for 5min at room temperature with a Lightning LC8 (L8251) device. The distance between the sample and the end of the guide was 11 cm.

II.6.3.3 Physico-chemical characterization of the networks

Spectroscopic analyses

FT-IR spectra were recorded on a Brucker Tensor 27 spectrometer between 4000 and 450 cm^{-1} using the ATR mode. For each spectrum, 32 scans with a resolution of 4 cm^{-1} were averaged. Raman spectra were recorded at a resolution of 1 cm^{-1} in the spectral range between 4000 and 200 cm^{-1} . Measurements were performed on a Horiba Xplora confocal Raman microscope (Horiba Jobin Yvon) equipped with an external excitation source (638 nm He-Ne laser). The objective lenses used in the study were 50x long-working distance (Long Working Distance M Plan Semi-Apochromat, LMPLFL50x, Olympus) and 10x (M Plan Achromat, MPLN10x, Olympus), operating in air. Spectral acquisition was obtained using LabSpec software (Horiba Scientific, Edison, New Jersey).

Repeated acquisitions using the highest magnification were accumulated to improve the signal-to-noise ratio. Spectra were calibrated using the 520.5 cm^{-1} line of a silicon wafer. Spectral details were as following; objective: $\times 50$, filter: 100 %, exposition: 10, slit: 50, hole: 500. Spectra were averaged from two to five accumulations, each with an acquisition time ranging from 15 s to 5 min.

Water contact angle measurements

Water contact angle measurements were performed with a Krüss goniometer using the Drop Shape Analysis system.

Water uptake determination

Prior to the water uptake measurements, the samples were dried under vacuum. They were placed in a conditioning closed chamber over a saturated solution of NaCl to obtain a water saturated atmosphere of 75% at room temperature. The percentage uptake of moisture into the material was measured by a coulometric method at $t = 0$ s and after 18 h. The 831 K F Coulometer Metrohm was equipped with a 728 Stirrer and an 860 KF Thermoprep Metrohm.

Soluble extractable determination

Crosslinked materials were cut in pieces with an approximate size of 1 cm x 0.5 cm corresponding to 30 mg and then soaked over 3h in 10 mL of diethyl ether. The film were washed with diethyl ether, then dried overnight under vacuum and weighed. Diethyl ether extraction solution was evaporated and weighed. The soluble extractable content was determined from both the weight loss of network material and the amount of organic extractable fraction.

Turbidity measurements

The turbidity of materials could be characterized by UV spectroscopy with a Varian Cary 50 Bio UV-Visible apparatus according to a method reported previously²⁴. The turbidity τ was calculated by the **Equation 2**:

$$\tau = \frac{A_{600}}{e}$$

where A_{600} is the absorbance at 600 nm and e is the film thickness (mm)

Thermal and mechanical analyses

The glass transition temperatures of the networks were measured by Differential Scanning Calorimetry (DSC). The measurements were conducted on a Perkin Elmer Diamond DSC apparatus according to the following heating programs: a heating from -60 to 170°C at 20°C.min⁻¹, a cooling to -60°C at 200°C.min⁻¹ holding at 60°C for 5 min and heating to 170°C at 20 °C.min⁻¹. Thermogravimetric analyses (TGA) were performed on a Setaram Setsys Evolution 16 thermobalance by heating the samples (10 mg) under argon atmosphere from 20°C to 800°C at 10°C.min⁻¹.

Dynamic mechanical analysis (DMA) was performed on a TA instrument Q800 analyzer in tension film mode equipped with a gas cooling accessory. Samples (length 2 cm, with 0.5 cm, thickness 0.5 mm) were clamped, and the strain applied was 0.04 % with an atmosphere of air, a frequency of 1 Hz and a heating of 5°C.min⁻¹ from -50 °C to 80 °C. The glass transition temperature was determined from the maximum value of the tan δ peak. The crosslink density

was estimated from the rubbery plateau storage modulus at $T_g + 40^\circ\text{C}$ according to the theory of rubber elasticity²⁵ :

$$\nu_c = \frac{E'}{3RT}$$

where E' is the rubbery plateau storage modulus at $T_g + 40^\circ\text{C}$, R is the gas constant, T is the temperature in K corresponding to storage modulus at $T_g + 40^\circ\text{C}$.

Tensile measurements (mechanical testing) were performed at room temperature using an Instron 5965 apparatus equipped with a 20 mN sensor at a crosshead displacement rate of 1 mm.min⁻¹.

Scanning electron microscopy (SEM)

The surface morphology of the networks and ZnO particles was examined using a LEO 1,530 SEM microscope equipped with an InLens detector with an accelerating voltage of 1 kV. Prior to analysis, the samples were coated with 4-nm layer of palladium/platinum alloy in a Cressington 208 HR sputter-coater for a better conductivity during the imaging. The surface elemental composition of the samples was also determined by energy-dispersive X-ray (EDX) spectroscopy with a 10 mm² germanium diode as an X-ray detector (lumix, Princeton Gamma-Tech) attached to the SEM equipment. EDX analyses were thus performed to detect the presence of zinc in the samples. Sample surfaces were analyzed for 5 min at 10 kV and a magnification of 1,000.

Transmission electron microscopy (TEM)

The size and morphology of ZnO nanoparticles (NPs) were determined from cryo-TEM images. The networks were deposited on a “quantifoil”® (Quantifoil Micro Tools GmbH, Germany) carbon membrane. Before evaporation, the excess of liquid on the membrane was blotted out thanks to a filter paper. Afterwards, a thin vitreous ice film was formed by quenching/freezing the membrane in liquid ethane. The samples were mounted in a Gatan 626 cryo-holder cooled with liquid nitrogen, and then transferred in the microscope so as to be observed at low temperature (-180 °C).

Inductively coupled plasma (ICP) analyses

Crosslinked materials were cut in pieces with an approximate size of 0.9 cm x 1.4 cm corresponding to 78 mg. The samples were treated with concentrated HCl during 48 h. The concentration of solubilized Zn^{2+} ions was probed by an inductively coupled plasma optical emission spectrometer (ICP-OES) (Varian Vista Pro) with a plasma temperature between 8000 and 9000°C. The detection limit was within the order of 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

II.6.3.4 Antibacterial activity against Escherichia coli and Staphylococcus aureus

The anti-adherence activity of the networks was evaluated using two pathogenic bacterial strains: *Staphylococcus aureus* ATCC29213 (Gram-positive) and *Escherichia coli* ATCC25922 (Gram-negative) which were grown aerobically at 37°C overnight on TSM as growth medium before the bacterial adhesion tests. The samples of **AE**-based networks were immersed in sterile vials containing 4 mL of the bacterial suspension of the two different strains (105 CFU/mL) and placed at 37°C for 24h. The cell counting was realized after the incubation following the norm ISO 22196. The software R was used to analyse the data. At least, six replicates of the experiments were conducted in order to allow a significant statistical analysis. The ANalysis Of the VAriance (ANOVA) statistical test was used and significant differences ($p < 0.05$) among antibacterial properties of the networks were detected thanks to the multiple range test of Duncan.

II.6.4 Results and Discussion

Based on recent results, we prepared eugenol-containing networks from allyl-eugenol derivative by “click” chemistry²⁰. As depicted in **Figure 105**, the eugenol networks were prepared by thiol-ene reaction of unsaturated eugenol (**AE**) with the trithiol crosslinker in the presence of DMPA as a photoinitiator under UV irradiation. This procedure was an easy one pot synthetic methodology. The challenge to prepare eugenol/ZnO hybrid networks lay in homogeneous dispersion of ZnO particles. ZnO NPs were dispersed in acetone in which the suspension was stable over 15 min. Then, the mixture of eugenol, trithiol, and ZnO was strongly dispersed under sonication.

In addition, the chemisorption of thiol groups on zinc oxide could improve the dispersion stability of ZnO and increase the interfacial adhesion throughout the crosslinked systems^{26,27}. The UV-cured thiol-ene reaction was extremely fast, which could prevent a strong agglomeration of inorganic particles. We first investigated the effect of ZnO on the kinetics of the thiol-ene reaction under laminar conditions.

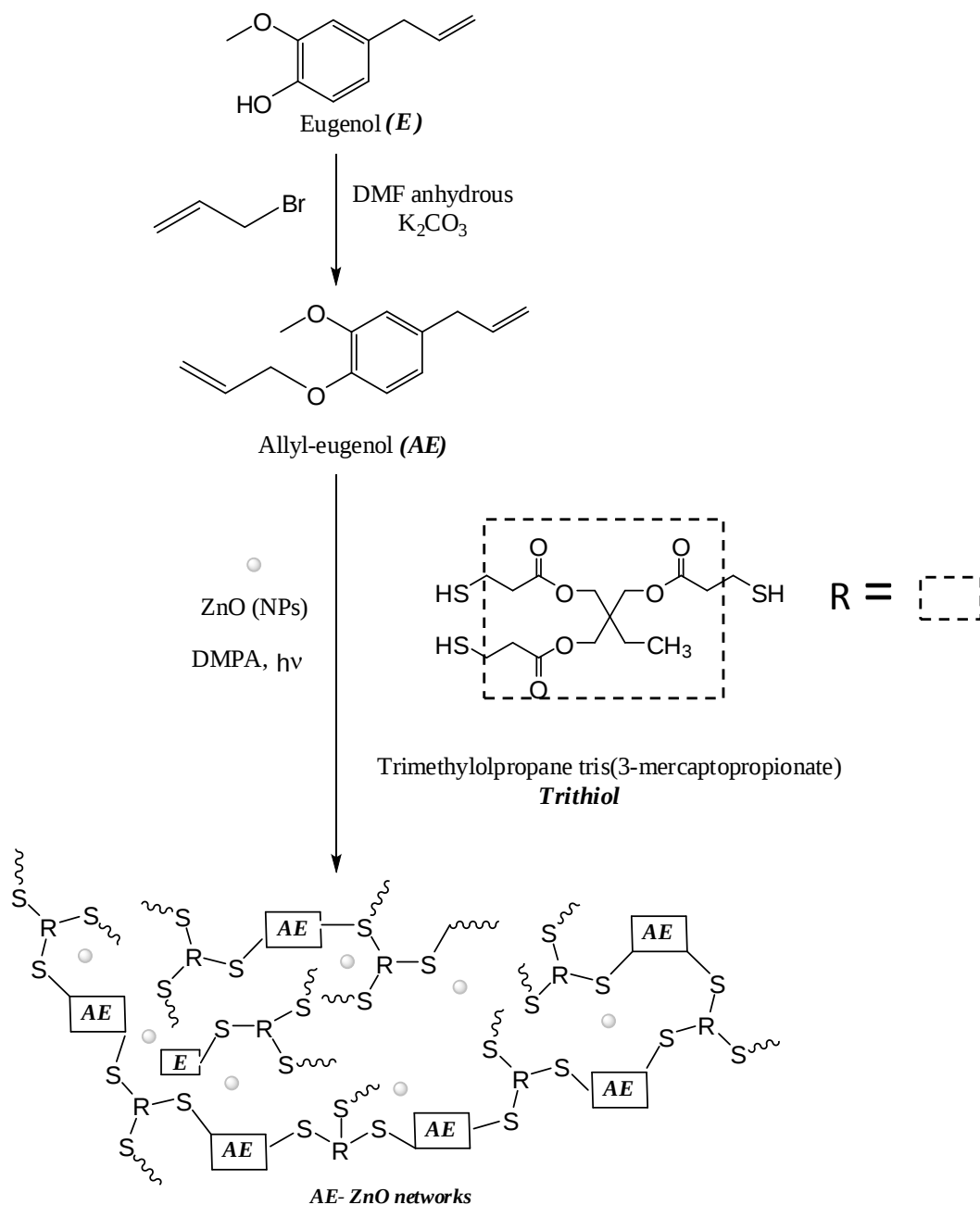


Figure 105: Formation of eugenol-based networks by thiol-ene reaction.

Figure 106 shows the real-time FTIR kinetic profiles associated with the **AE** single network and the **AE/5% ZnO** hybrid system. The conversion of both reactive groups (SH at 2560 cm^{-1}

and C=C at 1647 cm⁻¹) can be easily monitored. After 50 s of irradiation, high conversion values (90 %) of SH groups were obtained, confirming the efficiency and the high rate of the thiol-ene reaction. The final conversion of SH groups, and the reaction kinetics were not influenced by the presence of the photocatalytic ZnO NPs, probably due to their low content^{28,29}. Thicker films were prepared by irradiation of mixtures with identical compositions than those used for the kinetic study, leading to bulk photo-crosslinking. To calculate the conversion of SH groups, Raman spectroscopy provided a convenient alternative to FTIR, thanks to the occurrence of the highly sensitive marker of the S-H stretching vibration (**Figure 107**). In each case, the conversion was around 95 % in agreement with the FTIR results obtained in laminar conditions (**Table 6**). Furthermore, Raman analysis performed on several points of the film surface and on both film sides led to constant conversion values, thus indicating that homogeneous crosslinked systems were obtained.

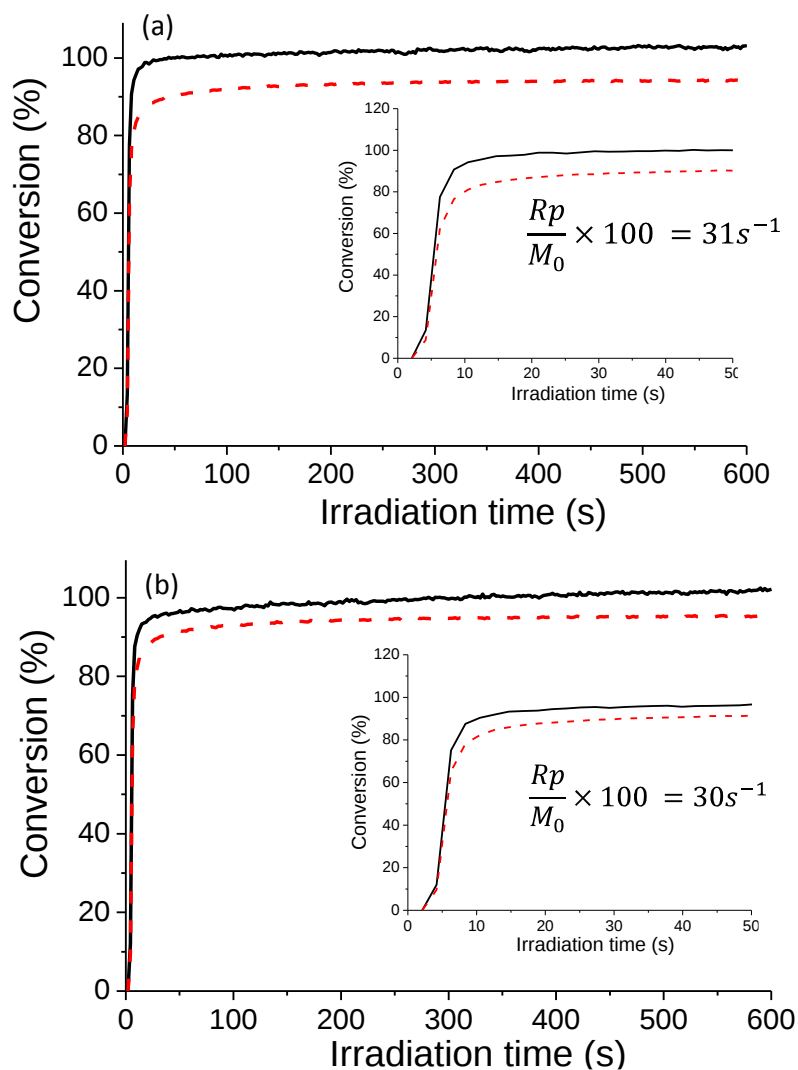


Figure 106: Real -time FTIR kinetic profiles of the formation of AE networks without ZnO (a) and with 5 wt% ZnO NPs (b) in laminated conditions (Xe-Hg lamp, 180 mW.cm⁻²); solid line: conversion of allyl functions; dash line: conversion of thiol functions.

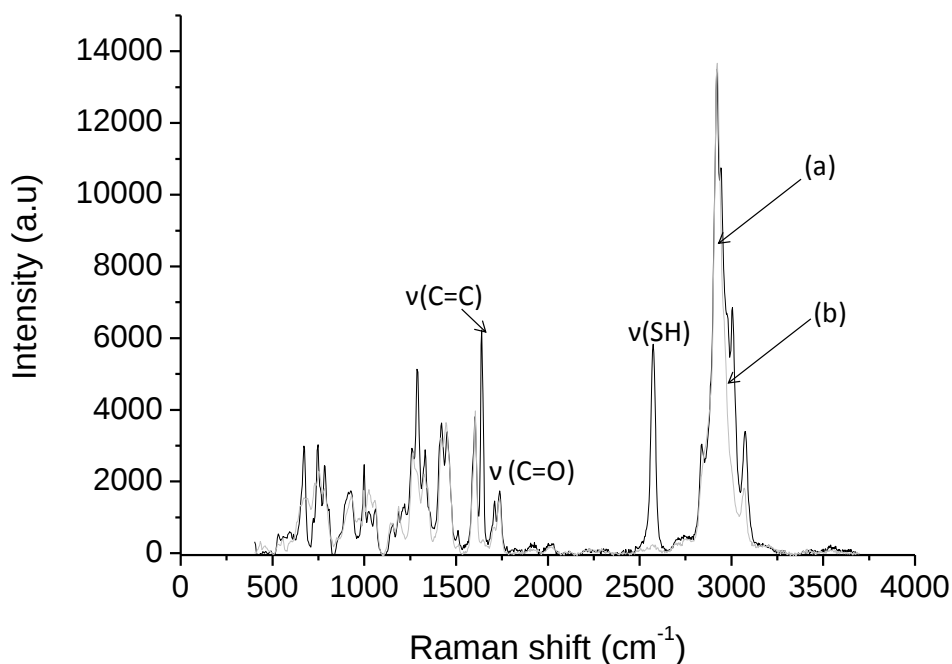


Figure 107: Raman spectra of AE/5% ZnO network (a) before and (b) after 300 s of irradiation.

Table 6: Characteristics of the AE networks

ZnO content (wt%)	Thickness (mm)	Turbidity (mm ⁻¹)	Extractable content ^{a)} (wt%)	Water uptake ^{b)} (%)	Θ ^{c)} (°)	SH Conversion ^{d)} (%)
0	0.29 ± 0.1	0.04 ± 0.02	2.9 ± 1.0	0.34 ± 0.15	83 ± 10	94
3	0.38 ± 0.11	0.26 ± 0.10	2.6 ± 1.0	0.17 ± 0.07	77 ± 10	95
5	0.33 ± 0.2	0.27 ± 0.06	2.5 ± 1.0	0.15 ± 0.04	83 ± 8	95

^{a)}Determined by gravimetry, ^{b)}Determined by coulometry after 24h of exposure at 37°C, ^{c)}Determined by water contact angle measurements, ^{d)}Determined by real-time FTIR in laminated conditions

The conversion values were consistent with soluble extractable contents lower than 5 % (**Table 6**). It could be assumed that all eugenol moieties were covalently linked but it remained a small fraction of bifunctional eugenol monomer, which reacted by only one alkene function. Interestingly, incorporating ZnO NPs did not affect the hydrophobicity of the materials (**Table 6**), which were not sensitive to water but might swell in organic solvents.

Only the turbidity of the materials was significantly affected by the presence of white particles of ZnO, which were distributed throughout the networks (**Figure 108**). However, the SEM images revealed that ZnO particles had tendency to agglomerate into larger aggregates regardless of their concentration, despite ultrasonic treatment, thus increasing the turbidity of the hybrid networks. Moreover, the EDX analysis of the hybrid materials detected the presence of Zn on the surface (**Figure 108**).

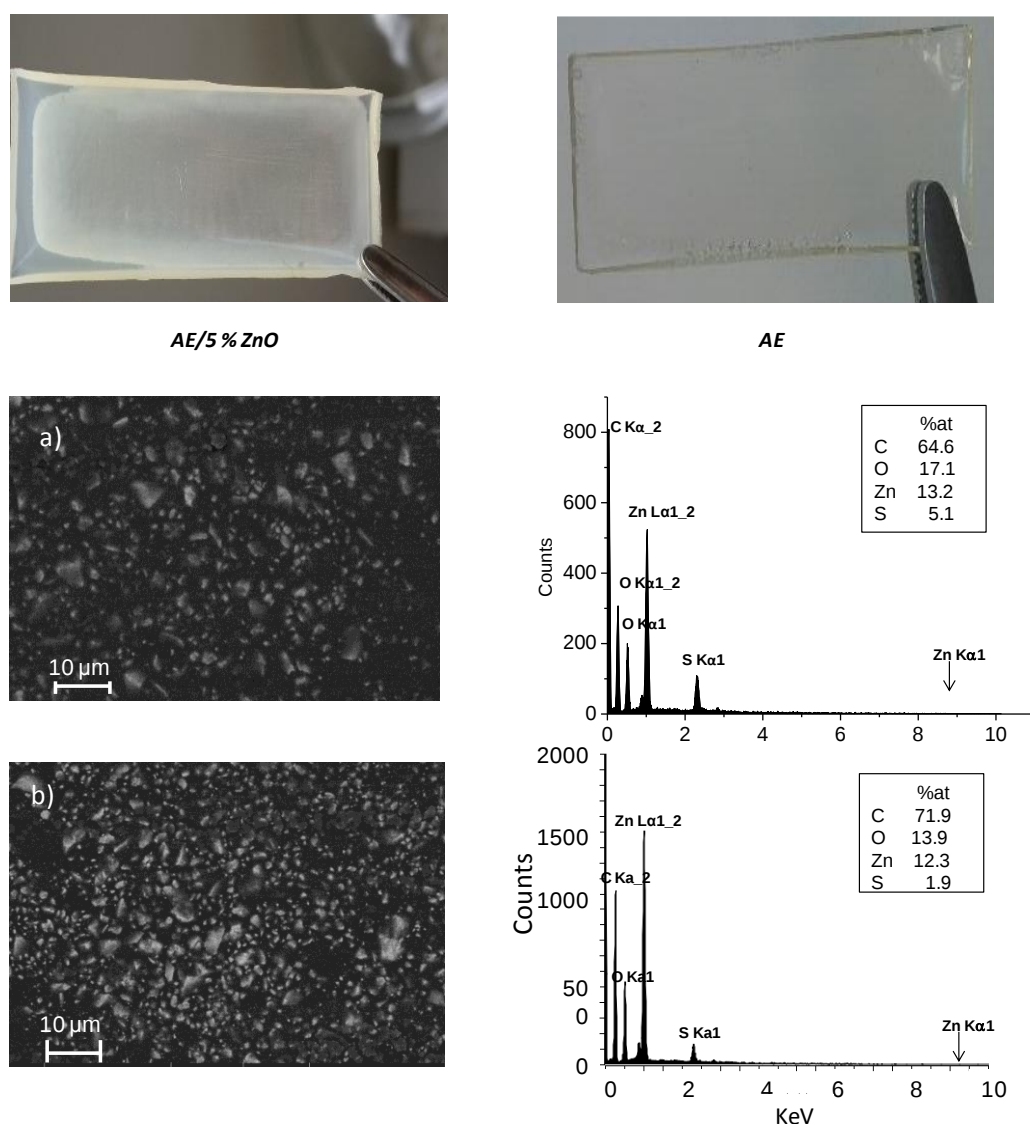


Figure 108: Photographs of UV-cured AE films containing 0 and 5% ZnO. SEM images and corresponding EDX spectra of AE/3% ZnO (a) and AE/5% ZnO networks (b).

The thermal properties of **AE** networks were investigated by DSC and TGA (**Table 7**). Taking into account that the ZnO nanoparticles are not chemically bound to the network but just dispersed within the material, and due the low content of nanoparticles, only the results obtained

for the two extreme concentrations (0 and 5 wt % ZnO) are shown in **Table 7** and in the following figures. Typical TGA thermograms are displayed in **Figure 109**. The evolution of the weight loss of **AE/ZnO** networks showed a single degradation step starting at a temperature slightly higher than that corresponding to the **AE** single network. Furthermore, there was a noticeable residue of about 5 wt %, which was consistent with the ZnO weight content in the initial formulation.

Table 7: Thermal and mechanical properties of AE networks

ZnO content (wt %)	0	5
T_g^a (°C)	-3	0
$T_{5\%}^b$ (°C)	326	338
$T_{50\%}^b$ (°C)	382	400
$\tan \delta^c$ (°C)	17.50 ± 1.00	20.60 ± 0.90
$L\alpha^c$ (°C)	14.60 ± 1.00	14.10 ± 0.90
η_c (mol.cm ⁻³) x 10 ⁻³	0.90 ± 1.14	1.09 ± 0.70
E^d (MPa)	6.99 ± 0.20	8.01 ± 0.90
σ_r^d (MPa)	1.53 ± 0.20	1.10 ± 0.10
ε_r^d (%)	29.00 ± 3.20	18.00 ± 2.70

^{a)}Determined by DSC; ^{b)} $T_{5\%}$ or $T_{50\%}$: temperature of 5% or 50% weight loss of the networks as determined by TGA, ^{c)} Determined by DMA, $L\alpha$: width at half height; ^{d)} Determined by tensile measurements

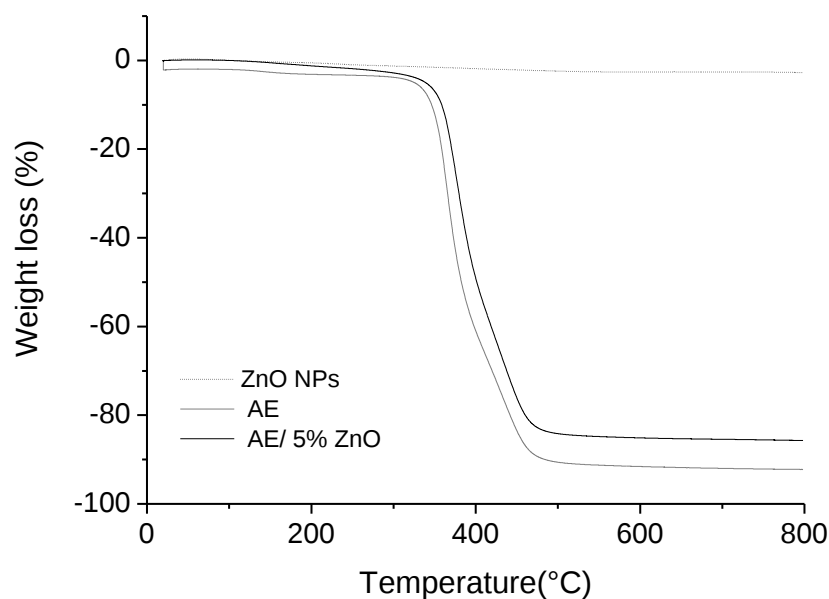


Figure 109: TGA thermograms of ZnO NPs (dotted), AE single network (black), and AE/5% ZnO composite network (light grey).

The T_g of the crosslinked materials was lower than room temperature, thus corresponding to flexible materials, due to the presence of thioether functions^{21,30,31}. The T_g and the thermal stability were slightly higher for the **AE**/ZnO hybrid networks that could be attributed to the presence of inorganic nanoparticles. The same trend was observed with the $\tan \delta$ peaks as determined by DMA (**Table 7** and

Figure 110). Moreover, the network crosslink density calculated according to the theory of rubber elasticity²⁵, the higher value of the storage modulus in the glassy state and the higher rubbery plateau of the **AE**/ZnO networks suggested that the incorporation of ZnO led to a slight increase in the crosslinking degree. These results confirm that the introduction of ZnO NPs plays the role of reinforcement by inorganic fillers. However, this finding cannot be interpreted as the result of a significant difference in the network structure because of the absence of chemical linkage between the organic network and ZnO nanoparticles, which is consistent with similar SH conversions (**Table 6**). Furthermore, the $\tan \delta$ peaks of **AE** networks with and without ZnO were monomodal and symmetrical, indicating the formation of homogeneous crosslinked materials^{32,33}. The half max widths of $\tan \delta$ peaks ($L\alpha$) were similar in both cases (0 and 5 wt % ZnO), thus indicating a comparable degree of homogeneity of the chains mobility in the two types of networks (*i.e.*, organic vs. hybrid). Finally, the lower height of the $\tan \delta$ peak of **AE**/ZnO hybrid networks indicated a decrease in the dissipation, due to the network reinforcement thanks to ZnO NPs. However, it could be assumed that ZnO particles were distributed throughout the network and cooperated to the rigidity of the crosslinked materials. A similar dispersion was observed regardless of the ZnO concentration (**Figure 108**), therefore it could be assumed that the mechanical properties were similar which would not be the case if the dispersion differed between the two concentrations. The mechanical properties of the networks were probed by tensile tests. The **AE**/ZnO networks exhibited a slightly higher tensile modulus (E) compared to the pure **AE** network, while slightly lower tensile strength (σ_r) and elongation (ϵ_r) at break (**Table 7**).

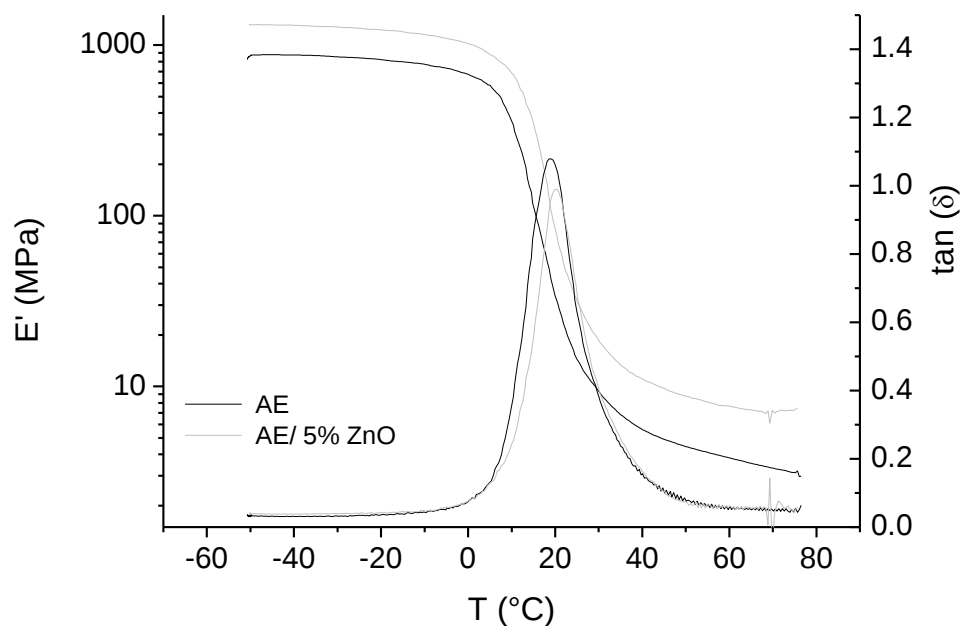


Figure 110: Storage modulus (E') and damping coefficient ($\tan(\delta)$) of AE (black) and AE/ 5% ZnO (light grey) networks.

The antibacterial efficiency of the eugenol-based networks was evaluated against two pathogenic bacteria species. The networks were immersed during 24 h in a culture broth comprising a cell content of (10^5 CFU/mL) for two strains of bacteria, *i.e.* Gram-negative bacteria *E. coli* and Gram-positive bacteria *S. aureus*. It is noteworthy that the pure **AE** network reached its maximum activity against *S. aureus*²⁰. Such a result was linked to the presence of the aromatic moieties within the eugenol derivatives, since *S. aureus* exhibits a preferential attachment on hydrophobic surfaces^{34,35}.

The incorporation of ZnO dramatically reduced the viabilities of both *S. aureus* and *E. coli* (**Figure 111**). Especially against *E. coli*, the **AE** composite networks prepared with 3 wt % and 5 wt % ZnO brought 99.9 % and 99.6 % reduction of bacteria viabilities, respectively, and 95.4 % and 96.6 % in the case of *S. aureus*, compared to neat **AE** networks. Interestingly, the different efficiency against *E. coli* in comparison to that against *S. aureus* could be attributed to the presence of ZnO. The effect on the Gram-negative bacterium *E. coli* was higher than that on the Gram-positive bacterium *S. aureus*. This fact supported previous reports using ZnO nanoparticles that also showed a much stronger antibacterial effect on Gram-negative bacteria³⁶.

However, this is in contrast to other results which exhibited a much stronger antibacterial effect on Gram-positive bacteria^{31,32,37}.

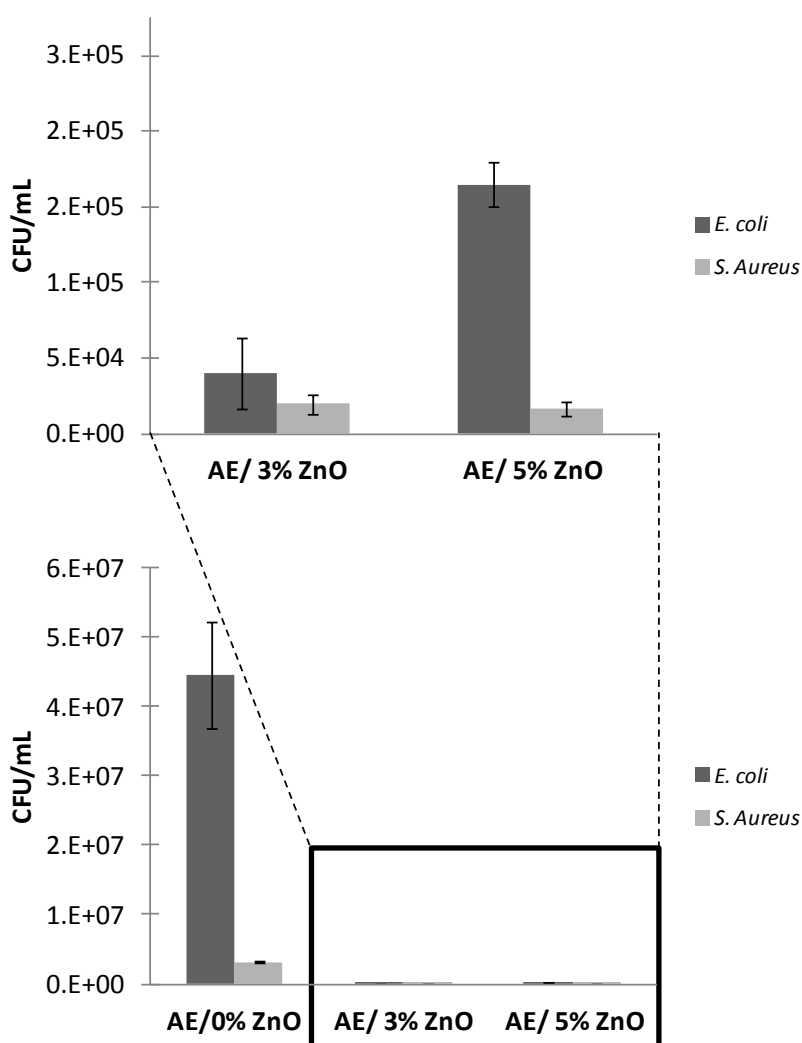


Figure 111: Antibacterial tests of AE networks.

These conflicting results about the sensitivity of ZnO toward the bacterium strains illustrate the strong complexity of the cellular response to ZnO exposure. The antibacterial activity mechanism of ZnO is still under discussion. Generally, the bactericidal effect is explained by releasing oxygen reactive species and/or Zn^{2+} ions. The first one is based on the photocatalytic properties of ZnO, which may occur even under normal lighting (ambient light). The hypothesis based on the activity of Zn (II) may be explained by the formation of Zn^{2+} ions in aqueous medium due to the dissolution of the nanoparticles surface. The concentration of Zn^{2+} ions was measured by ICP after 24 h of immersion in water. These conditions were identical to those of the antibacterial tests.

Assays achieved by ICP did not demonstrate Zn^{2+} ions in concentrations higher than 10 $\mu\text{g/L}$. According to the literature, a Zn (II) concentration lower than or equal to 25 mg/L has no effect on *E. coli* and *S. aureus*³⁸. Among the assumptions reported in the literature, the electrostatic forces between ZnO and bacteria¹³ could play a role in the antibacterial effect. The bactericidal action on *S. aureus* could be explained by the greater electronegative charge in comparison with *E. coli*³⁹. *S. aureus* was therefore drawn more strongly by ZnO. It could be assumed that the measured antibacterial activity was not due to the Zn (II) release or the action of reactive oxygen species, but rather resulted from the surface properties, as it was recently reported⁴⁰. Indeed, the accumulation of the nanoparticles (NPs) within the cytoplasm or on the surface of bacterium cells could lead to an inhibition of cell growth or even to bacterium killing. It was previously demonstrated that the antibacterial activity of ZnO NPs was inversely proportional to the size of NPs, in the case of the *S. aureus* strain⁴¹. Likewise, ZnO NPs were able to induce a disorganization of the *E. coli* membrane, since they led to an increase of the membrane permeability, and consequently to an accumulation of these NPs in the cytoplasm⁴². Some authors have shown that the size and concentration of ZnO NPs have a direct influence on the *E. coli* inhibition, which could account for the difference observed in our study between the two ZnO contents in AE/ZnO hybrid networks (**Figure 111**)⁴³. Indeed, Yamamoto demonstrated that the higher the concentration and the size of ZnO NPs, the lower the *E. coli* inhibition. As a matter of fact, we showed by TEM (**Figure 112**) that the dispersion of 3 wt % ZnO led to smaller sizes of aggregates, while the dispersion of 5 wt % ZnO led to a stronger aggregation of ZnO NPs that significantly decreased the antibacterial inhibition toward *E. coli* (**Figure 111**). These results were in agreement with the literature data, since the sensitivity of *E. coli* to the size of ZnO NPs resulted in a reduction of the antibacterial activity when the ZnO content increased.

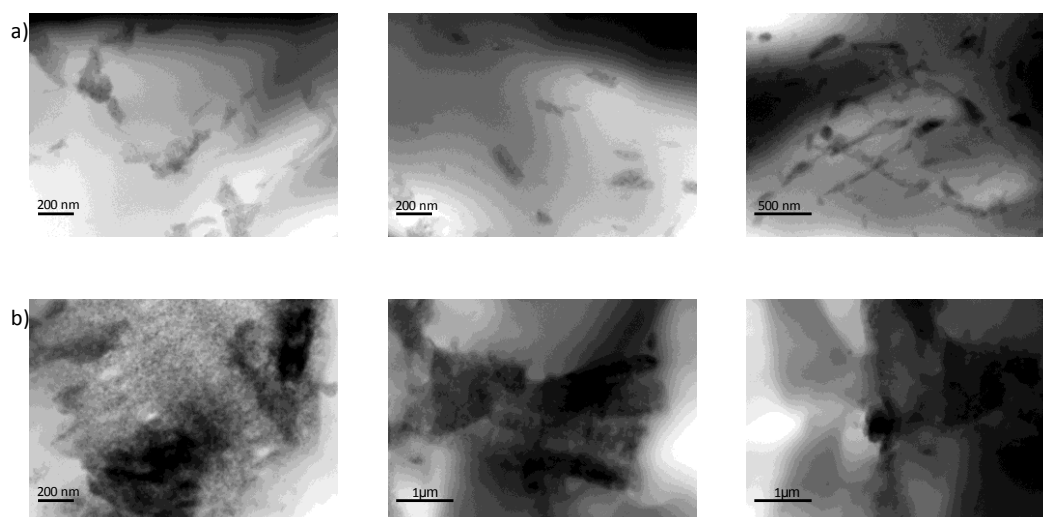


Figure 112: TEM images of AE/3% ZnO (a) and AE/5% ZnO (b) networks.

II.6.5 Conclusion

The present work highlights a one-step elaboration of new composite materials with antibacterial properties. Thiol-ene networks were synthesized through the photo-initiated reaction between allyl-eugenol and a trithiol, in the presence of ZnO nanoparticles. The presence of inorganic nanoparticles did not modify the conversion of both thiol and alkene functions. Moreover, the presence of ZnO did not alter the network properties. However, the presence of ZnO enhances significantly the antibacterial properties of the material. This fast and efficient thiol-ene reaction provides a feasible approach to elaborate bioactive surfaces, which could serve as suitable antibacterial surfaces for a wide range of applications, including medical and hospital devices.

II.6.6 Résultats complémentaires

Même si l'introduction de NPs de ZnO semble avoir un impact sur l'activité antibactérienne, celui-ci pourrait-être augmenté si les nanoparticules n'avaient pas tendance à s'agréger pour les matériaux contenant 5% de NPs.

II.6.6.1 Activité antibactérienne des réseaux contre la souche *Pseudomonas aeruginosa*

Nous avons cherché à évaluer l'activité antibactérienne contre une autre souche bactérienne. Cette étude a été réalisée par microscopie confocale à balayage laser sur des lames de 76 x 26 mm. La coloration des cellules par le mutant GFP (Green Fluorescent Protein gene) de la souche *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 permet l'observation de celles-ci puisque ce marqueur diffuse au travers des membranes cellulaires afin de se fixer sur les acides nucléiques tels que l'ADN et l'ARN. Après 3h d'adhésion, les lames sont rincées et recouvertes d'une lamelle de 60 x 24 mm. La longueur d'onde d'excitation du laser Helium/Neon est de 633nm et l'émission de fluorescence est collectée entre 650 et 750 nm. Après un traitement des images par le logiciel Image Tools, le pourcentage de recouvrement bactérien a pu être déterminé. Une réduction significative ($p < 0,05$ test statistique avec correction de Welch) de 57% du recouvrement bactérien a été obtenue avec l'incorporation de 5% massique de NPs de ZnO (**Figure 113**).

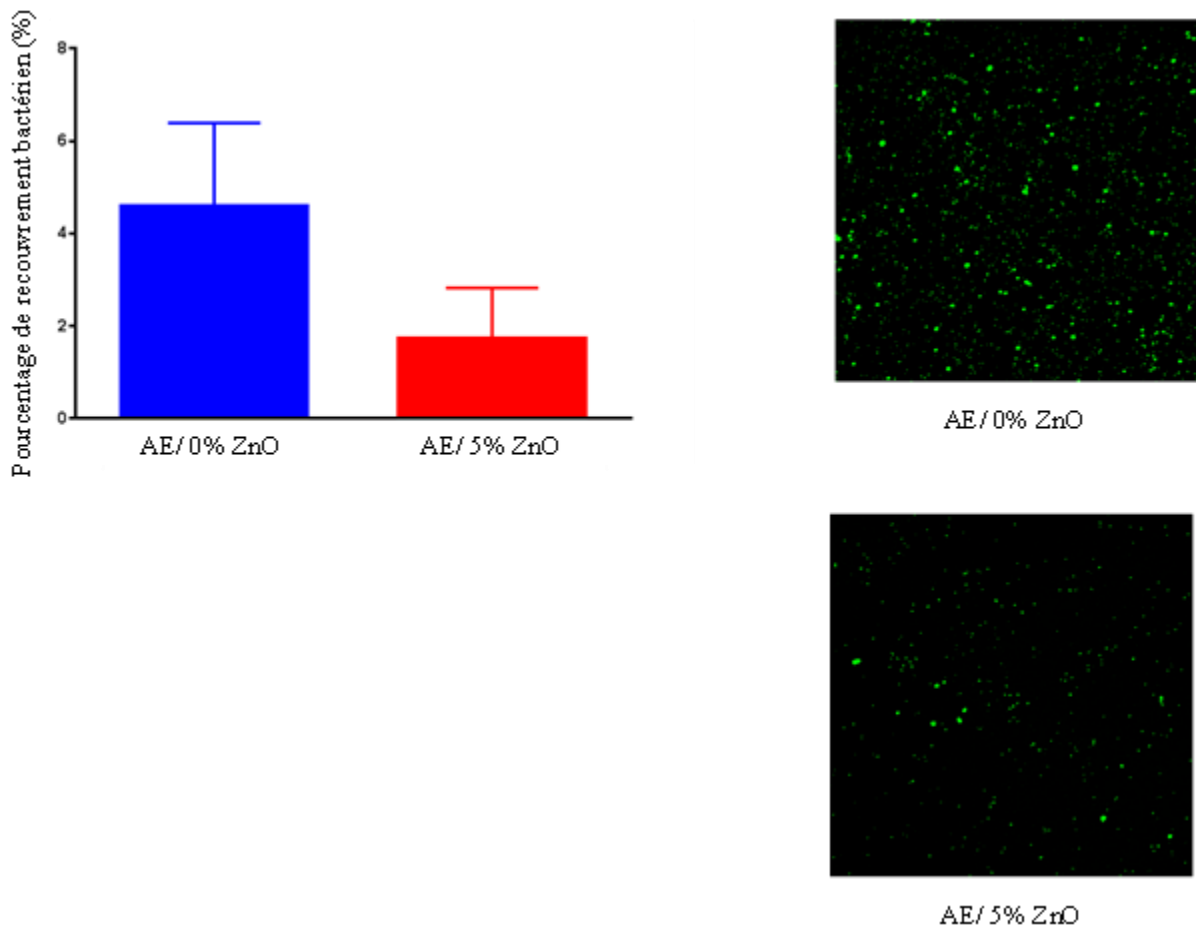


Figure 113: Test de recouvrement bactérien contre le mutant GFP de la souche *Pseudomonas aeruginosa* sur les réseaux AE/ 0% ZnO et AE/ % ZnO.

Cette étude réalisée au laboratoire LBCM de l'université de Lorient confirme :

- 1) l'activité antibactérienne des réseaux à base d'eugénol contre une autre souche bactérienne.
- 2) que les NPs piégées dans et à la surface du réseau permettent d'augmenter l'activité antibactérienne.

Même si l'activité antibactérienne des NPs de ZnO est depuis longtemps reconnue, le mécanisme d'action reste extrêmement complexe et soumis à diverses hypothèses. Certains auteurs ont démontré que la surface spécifique des particules était un critère important dans les propriétés antibactériennes et notamment dans le cas de la souche *E. coli* (Yamamoto, *Inter. J. Inorg. Mater.*, 3, 2001, 643-646). En effet, les bactéries de type Gram-négatif ont une membrane cellulaire constituée d'une couche de lipopolysaccharides liés à une couche de peptidoglycane

par des lipoprotéines alors que celles de type Gram-positif est constituée d'une couche plus épaisse de peptidoglycanes. Ainsi les souches de type Gram-négatif sont plus sensibles aux espèces réactives oxygénées. De même, il a été démontré que l'augmentation de la taille des particules de ZnO entraîne une diminution des propriétés d'inhibition bactérienne puisque qu'une particule de 1,2 μm (taille relativement élevée) induit une faible inhibition de la souche *E. coli* (40%) (Chaurasia, J. *Macromol. Sci. Part A : Pure and Applied Chem*, 47, 2010, 309-317). Certains ont démontré que l'activité n'était plus bactéricide mais bactériostatique lorsque le diamètre de la NPs était supérieur à 100 nm car celle-ci était alors moins active. C'est ce qui est observé dans le cas de nos matériaux dont le diamètre moyen des agrégats est de 2000 ± 810 nm pour les réseaux 70-30 AE-E/ 5% ZnO et de 2200 ± 1000 nm mais qui restent antibactériens.

Malgré le procédé d'ultrasonication, on constate que les NPs ne sont pas parfaitement dispersées dans la matrice réticulée mais ceci peut s'expliquer par la distribution de la taille des agrégats des NPs déjà présents lors de la solubilisation dans l'acétone et lors de la sédimentation pendant le prétraitement thermique (**Figure 114**).

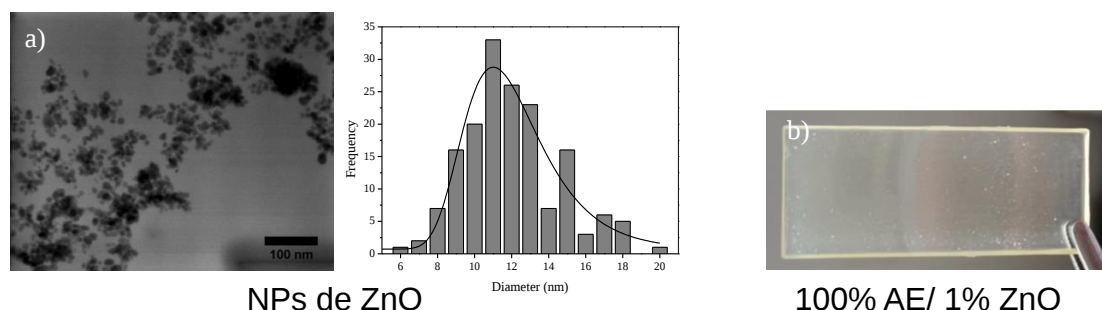


Figure 114: Images et distribution du diamètre des NPs de ZnO obtenues par microscopie électronique à transmission (Rodriguez-Tobias, J. *Mater. Sci.*, 49, 2014, 8373-8385) (a), photographie d'un réseau AE/ 1% ZnO (b).

De plus, nous avons constaté une différence entre les 2 faces du matériau. La face en contact du moule lors de l'irradiation apparaît plus mate que la face supérieure. Cette différence est d'autant plus prononcée que la teneur en NPs de ZnO augmente. L'analyse par microscopie apporte une interprétation à cette hétérogénéité. En effet, il apparaît clairement que les NPs se trouvent préférentiellement du côté de la face mate, correspondant à celle en contact du moule. Les NPs ont donc tendance à sédimenter ce qui explique cette différence. L'effet est d'autant

plus marqué que les matériaux sont épais (0,36 mm d'épaisseur). Le procédé de mise en œuvre impliquant une étape de prétraitement thermique à 60°C favorise la sédimentation des NPs (**Figure 115**).

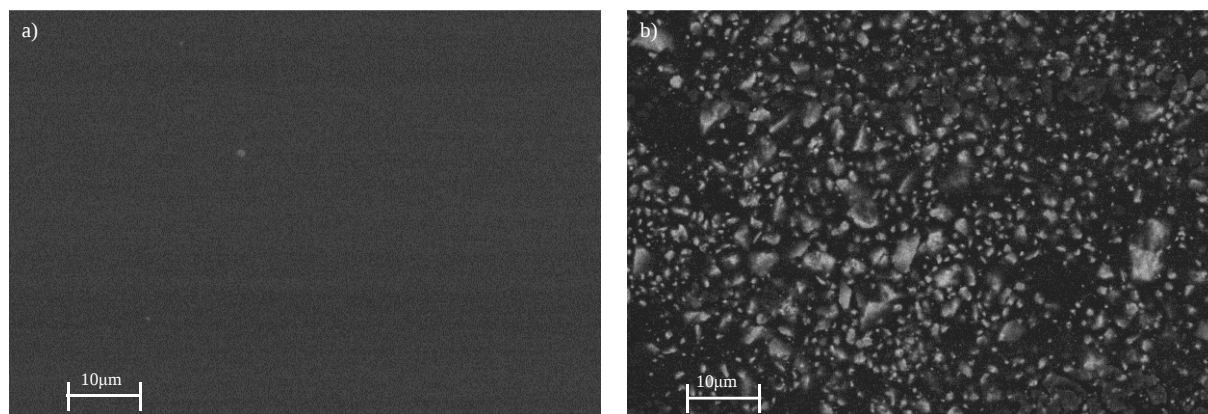


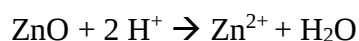
Figure 115: Image MEB de la surface des réseaux 70-30 AE-E/ 5% ZnO face brillante (a) et face mate (b).

D'autres auteurs ont supposé que l'action antibactérienne du ZnO était due à des forces électrostatiques d'attraction entre les bactéries et les oxydes métalliques (*McWinter, Colloids and Surfaces, B., Biointerfaces*, 26, 2002, 365-371 ; *Parikh, Langmuir*, 22, 2006, 8492-8500). Ainsi, il a été proposé que les NPs et les bactéries étaient soumises à une adhésion électrostatique entraînant la mort instantanée des bactéries suite à une rupture de leurs membranes cytoplasmiques (*Stoimenov, Langmuir*, 18, 2002, 6679-6686). Cette force étant d'autant plus grande que la différence de potentiel zéta entre les NPs (5 mV) et la souche bactérienne est élevée. Ainsi, l'effet sur la bactérie *S. aureus* de potentiel zéta supérieur à celui de la souche *E. coli* (7-20 mV) serait plus important. C'est ce que l'on observe pour nos matériaux.

D'autres travaux ont montré que l'action abrasive des NPs de ZnO était à l'origine de l'activité antibactérienne. Celle-ci induirait une désorganisation de la paroi bactérienne et de la membrane cytoplasmique (*Padmavathy, Sci. Technol. Adv. Mater.*, 9, 2008, 035004). L'hypothèse d'une internalisation et une accumulation des NPs en suspension dans l'eau dans le cytoplasme de certaines bactéries entraînant leur mort a également été émise (*Brayer, Nanomater. Let.*, 6, 2006, 866-880 ; *Huang, Langmuir*, 24, 2008, 1619-1625). Finalement, certains ont affirmé que l'internalisation était consécutif à la rupture de la membrane (*Neal, Ecotoxicology*, 17, 2008, 362-371 ; *Jiang, Environmental Pollution*, 157, 2009, 1619-1625).

Cette action abrasive des NPs pourrait être impliquée dans notre cas. Pour cela, il faudrait démontrer la rugosité du matériau et plus particulièrement celle de la face mate riche en NPs.

D'autres études mettent en avant l'action des ions Zn^{2+} dans l'activité antibactérienne. En effet, lorsque le ZnO est en suspension dans l'eau, il existe toujours des ions Zn^{2+} dissous (équation ci-dessous) formés à partir de la solvation du CO_2 atmosphérique conduisant à la formation d'acide carbonique (H_2CO_3).



En outre, il a été montré qu'une concentration de 25 mg.L^{-1} en Zn^{2+} n'avait aucun effet sur les souches *E. coli* ou *S. aureus* (Applerot, Adv. Funct. Mater., 19, 2009, 842-852). Ceci est en accord avec les résultats des analyses d'ICP qui ont montré que les quantités d'ions étaient relativement faibles ($< 10 \text{ mg. L}^{-1}$) et n'avaient donc un effet moindre sur l'activité antibactérienne.

Finalement, certains travaux ont montré que la production, grâce à l'action photoacatalytique du ZnO, d'espèces réactives de l'oxygène et notamment de radicaux hydroxyles HO $\cdot$ ou d'oxygène singulet $^1\text{O}_2$ suite à une irradiation UV était à l'origine de l'activité antibactérienne de ZnO due à un stress oxydatif létal pour les bactéries généré par ces espèces réactives (Daneshvar, Separation and Purification Technol., 58, 2007, 91-98 ; Applerot, Adv. Funct. Mater., 19, 2009, 842-852).

Dans l'hypothèse où la surface spécifique de la particule influe directement sur les propriétés antibactériennes, il est attendu qu'une meilleure dispersion de celle-ci à travers la matrice ou à sa surface permettrait d'augmenter les propriétés antibactériennes des matériaux finaux. De même celle-ci permettrait une meilleure dissolution des NPs et donc la formation d'une quantité plus importante d'ions Zn^{2+} permettant d'exacerber l'activité antibactérienne.

II.6.6.2 Optimisation du procédé de dispersion des NPs de ZnO dans la matrice

Nous avons donc tenté d'optimiser la dispersion en réalisant des réseaux par complexation avec les fonctions phénol de l'eugénol. En effet, comme nous l'avons vu dans l'introduction, le complexe cristallin chélaté de formule brute $(\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{O}_2)_2\text{Zn}$ (eugénolate de zinc) (**Figure 103**)

est susceptible d'améliorer la dispersion des NPs de ZnO. Des réseaux 70-30 *AE-E* ont donc été synthétisés en incorporant différents pourcentages massiques de NPs (0 à 5%).

L'observation de la surface des films *AE*/ 5% ZnO et 70-30 *AE-E*/ 5% ZnO par microscopie électronique à balayage (MEB) a permis de démontrer que la formation du complexe chélaté d'eugénolate de zinc grâce à la présence des fonctions phénol, diminue la taille des agrégats des NPs de ZnO au sein du réseau. En effet, pour les réseaux 70-30 *AE-E*/ 5% ZnO le diamètre moyen calculé à partir de la moyenne effectuée sur 10 agrégats est de 2000 ± 810 nm contre 2200 ± 1000 nm dans le cas des films 100% *AE*/ 5% ZnO (**Figure 116**).

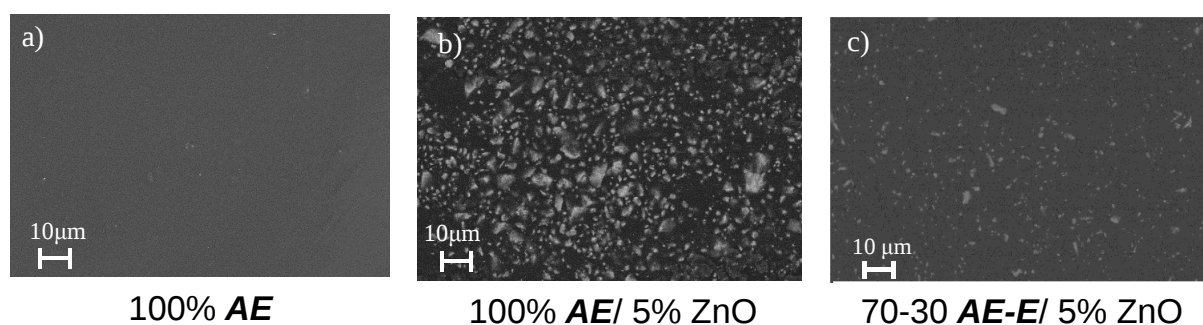


Figure 116: Image MEB de la surface des réseaux 100% *AE* (a) 100% *AE*/ 5% ZnO (b) et 70-30 *AE-E*/ 5% ZnO (c).

Si les NPs ont toujours tendance à sédimenter, l'analyse par microscopie électronique à balayage des coupes côté moule montre une meilleure dispersion des NPs au sein du matériau (**Figure 117**)

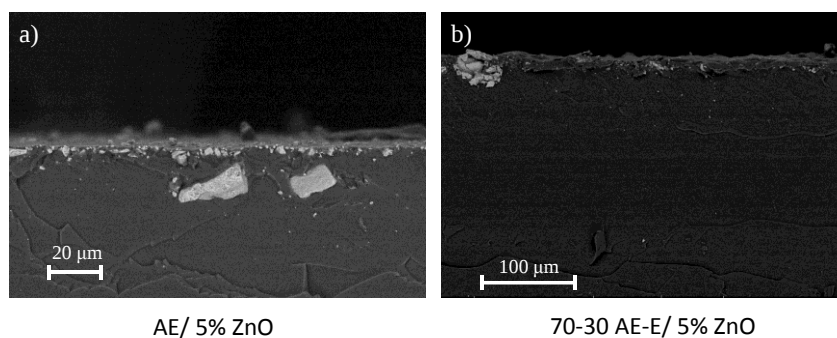


Figure 117: Images MEB des coupes des réseaux *AE*/ 5% ZnO (a) et 70-30 *AE-E*/ 5% ZnO (b) (observation de la surface côté moule).

II.6.6.3 Activité antioxydante des réseaux AE-E/ ZnO

La synthèse de réseaux 70-30 **AE-E** permet néanmoins l'introduction d'une activité antioxydante comme nous l'avons vue dans la partie II.3. de ce chapitre. Malgré les propriétés photocatalytiques du ZnO (*Raghupathi, Langmuir*, 27, 2011, 4020-4028) nous n'observons pas d'augmentation de cette activité lorsque le pourcentage massique de ZnO passe de 0 à 5% (**Figure 118**). L'efficacité des phénols apportée par l'introduction de 30% massique d'eugénol (**E**) est tellement importante qu'il est raisonnable de penser que l'influence des NPs de ZnO n'est pas visible ici.

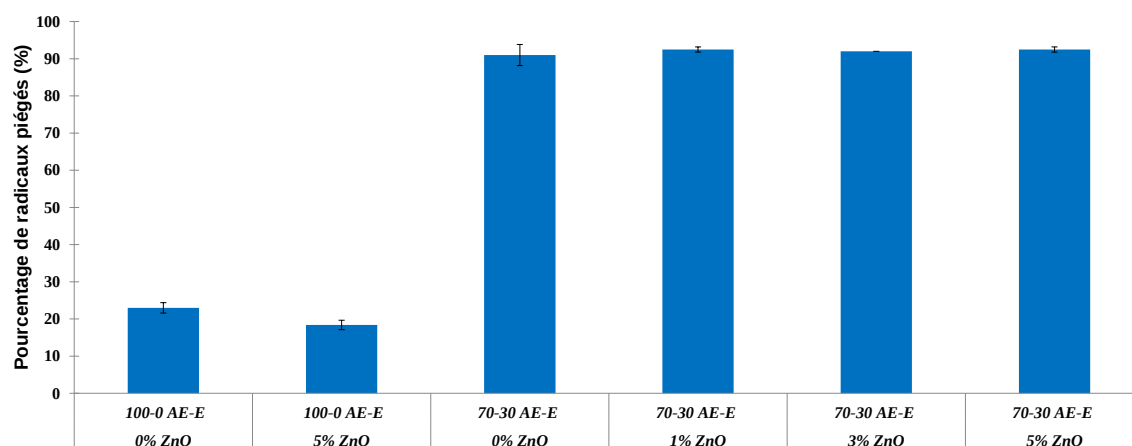


Figure 118: Activité antioxydante des réseaux AE-E/ ZnO.

II.6.7 Conclusion du sous-chapitre

Dans cette étude des NPs de ZnO ont été introduites au sein d'un réseau réticulé à base d'eugénol afin de moduler les propriétés thermo-mécaniques et/ou biologiques des matériaux. L'introduction de 5% massique de NPs de ZnO dans les réseaux augmente sensiblement les propriétés thermo-mécaniques. En effet, l'augmentation de la T_v et de la valeur de $\tan \delta$ démontrent que l'introduction des NPs entraîne un renfort puisque la hauteur du pic (h_a), caractéristique de la capacité du matériau à dissiper l'énergie, diminue avec l'introduction des NPs. De plus, la distribution monomodale du pic de $\tan \delta$, ainsi que le maintien de la valeur de L_a (largeur du pic $\tan \delta$ à mi-hauteur, caractéristique de l'homogénéité du matériau) indique que les NPs sont dispersées de façon homogène à l'intérieur du réseau même si les images de microscopie indiquent qu'elles ont tendance à s'agréger.

D'autre part, l'étude de l'activité antibactérienne des réseaux a démontré que la présence des NPs conduisait à une diminution de l'adhérence des bactéries en particulier avec *E. coli*. Ces résultats sont en accord avec la littérature puisqu'il a été démontré que les NPs de ZnO étaient plus efficaces sur les souches de type Gram-négatif (*Nair, J. Mater. Sci.*, 29, 2006). Il a également été prouvé que la taille des agrégats de NPs jouait un rôle dans l'activité antibactérienne, ainsi, l'augmentation de la proportion de NPs introduites dans la matrice de 3% à 5% entraîne une diminution de l'activité antibactérienne due à l'augmentation de la taille des agrégats dans le cas de la souche *E. coli* (*Yamamoto, Int. Inorg. Mater.*, 3, 2001).

Faute de temps, l'optimisation de la dispersion n'a pas pu être réalisée mais il serait intéressant à présent de voir si une meilleure dispersion des NPs par exemple par dépôt de vapeur ou encore par une fonctionnalisation de surface

- 1) améliorerait des propriétés mécaniques des matériaux.
- 2) augmenterait les propriétés biocides des matériaux.

Références

- (1) McLean, R. J.; Hussain, A. A.; Sayer, M.; Vincent, P. J.; Hughes, D. J.; Smith, T. J. Antibacterial activity of multilayer silver-copper surface films on catheter material. *Can. J. Microbiol.* **1993**, 39 (9), 895–899.
- (2) Wataha, J. c.; Lockwood, P. e.; Schedle, A. Effect of silver, copper, mercury, and nickel ions on cellular proliferation during extended, low-dose exposures. *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, 52 (2), 360–364.
- (3) Goli, K. K.; Rojas, O. J.; Genzer, J. Formation and Antifouling Properties of Amphiphilic Coatings on Polypropylene Fibers. *Biomacromolecules* **2012**, 13 (11), 3769–3779.
- (4) Lowe, A. B. Thiol-ene “click” reactions and recent applications in polymer and materials synthesis. *Polym. Chem.* **2010**, 48 (1), 17–36.
- (5) Wang, Z.; Shen, Y.; Haapasalo, M. Dental materials with antibiofilm properties. *Dent. Mater.* **2014**, 30 (2), 1–16.
- (6) Bazaka, K.; Jacob, M. V.; Truong, V. K.; Crawford, R. J.; Ivanova, E. P. The effect of polyterpenol thin film surfaces on bacterial viability and adhesion. *Polymers* **2011**, 3 (1), 388–404.
- (7) Campoccia, D.; Montanaro, L.; Arciola, C. R. A review of the biomaterials technologies for infection-resistant surfaces. *Biomaterials* **2013**, 34 (34), 8533–8554.
- (8) Corrales, M.; Fernández, A.; Han, J. H. Chapter 7 - Antimicrobial Packaging Systems. In *Innovations in Food Packaging (Second Edition)*; Academic Press: San Diego, 2014; pp 133–170.
- (9) Eskandari, M.; Haghighi, N.; Ahmadi, V.; Haghighi, F.; Mohammadi, S. Growth and investigation of antifungal properties of ZnO nanorod arrays on the glass. *Phys. B Condens. Matter* **2011**, 406 (1), 112–114.
- (10) Kairyte, K.; Kadys, A.; Luksiene, Z. Antibacterial and antifungal activity of photoactivated ZnO nanoparticles in suspension. *J. Photochem. Photobiol. B* **2013**, 128 (5), 78–84.
- (11) Sharma, R. K.; Ghose, R. Synthesis of zinc oxide nanoparticles by homogeneous precipitation method and its application in antifungal activity against *Candida albicans*. *Ceram. Int.* **2015**, 41 (1), 967–975.
- (12) Sawai, J.; Yoshikawa, T. Quantitative evaluation of antifungal activity of metallic oxide powders (MgO, CaO and ZnO) by an indirect conductimetric assay. *J. Appl. Microbiol.* **2004**, 96 (4), 803–809.
- (13) Stoimenov, P. K.; Klinger, R. L.; Marchin, G. L.; Klabunde, K. J. Metal Oxide Nanoparticles as Bactericidal Agents. *Langmuir* **2002**, 18 (17), 6679–6686.
- (14) Mahadlek, J.; Charoenteeraboon, J.; Phaechamud, T. Zinc Oxide Gels for Periodontitis Treatment. *J. Met. Mater. Miner.* **2010**, 20 (3), 159–163.
- (15) Cummins, D.; Creeth, J. E. Delivery of Antiplaque Agents from Dentifrices, Gels, and Mouthwashes. *J. Dent. Res.* **1992**, 71 (7), 1439–1449.
- (16) Cummins, D.; Watson, K. G. Computer model relating chemistry to biological activity of metal anti-plaque agents. *J. Dent. Res.* **1989**, 68 (12), 1702–1705.
- (17) Jin, T.; Sun, D.; Su, J. Y.; Zhang, H.; Sue, H. J. Antimicrobial Efficacy of Zinc Oxide Quantum Dots against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis*, and *Escherichia coli* O157:H7. *J. Food Sci.* **2009**, 74 (1), M46–M52.
- (18) Li, X.; Xing, Y.; Jiang, Y.; Ding, Y.; Li, W. Antimicrobial activities of ZnO powder-coated PVC film to inactivate food pathogens. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2009**, 44 (11), 2161–2168.

- (19) Wang, Y.; Zhang, Q.; Zhang, C.; Li, P. Characterisation and cooperative antimicrobial properties of chitosan/nano-ZnO composite nanofibrous membranes. *Food Chem.* **2012**, *132* (1), 419–427.
- (20) Modjinou, T.; Versace, D.-L.; Abbad-Andallousi, S.; Bousserhine, N.; Dubot, P.; Langlois, V.; Renard, E. Antibacterial and antioxidant bio-based networks derived from eugenol using photo-activated thiol-ene reaction. *React. Funct. Polym.* **2016**, *101* (1), 47–53.
- (21) Claudino, M.; Mathevet, J.-M.; Jonsson, M.; Johansson, M. Bringing D-limonene to the scene of bio-based thermoset coatings via free-radical thiol-ene chemistry: macromonomer synthesis, UV-curing and thermo-mechanical characterization. *Polym. Chem.* **2014**, *5* (9), 3245–3260.
- (22) Hoyle, C. E.; Lee, T. Y.; Roper, T. Thiol-enes: Chemistry of the past with promise for the future. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2004**, *42* (21), 5301–5338.
- (23) Rodríguez-Tobías, H.; Morales, G.; Ledezma, A.; Romero, J.; Grande, D. Novel antibacterial electrospun mats based on poly (d, l-lactide) nanofibers and zinc oxide nanoparticles. *J. Mater. Sci.* **2014**, *49* (24), 8373–8385.
- (24) Wu, J.; Liu, H.; Ge, S.; Wang, S.; Qin, Z.; Chen, L.; Zheng, Q.; Liu, Q.; Zhang, Q. The preparation, characterization, antimicrobial stability and in vitro release evaluation of fish gelatin films incorporated with cinnamon essential oil nanoliposomes. *Food Hydrocoll.* **2015**, *43* (1), 427–435.
- (25) Flory, P. J. Jabtonna Conference on Polymer NetworksMolecular theory of rubber elasticity. *Polymer* **1979**, *20* (11), 1317–1320.
- (26) Sadik, P. W.; Pearton, S. J.; Norton, D. P.; Lambers, E.; Ren, F. Functionalizing Zn- and O-terminated ZnO with thiols. *J. Appl. Phys.* **2007**, *101* (10), 104514.
- (27) Singh, J.; Im, J.; Whitten, J. E.; Soares, J. W.; Meehan, A. M.; Steeves, D. M. Adsorption of mercaptosilanes on nanocrystalline and single crystal zinc oxide surfaces; 2008; Vol. 7030, p 70300T–70300T–8.
- (28) Kamat, P. V.; Huehn, R.; Nicolaescu, R. A “Sense and Shoot” Approach for Photocatalytic Degradation of Organic Contaminants in Water. *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106* (4), 788–794.
- (29) Villaseñor, J.; Reyes, P.; Pecchi, G. Photodegradation of pentachlorophenol on ZnO. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **1998**, *72* (2), 105–110.
- (30) Carlsson, I.; Harden, A.; Lundmark, S.; Manea, A.; Rehnberg, N.; Svensson, L. Allyl Ethers in the Thiol-ene Reaction. In *Photoinitiated Polymerization*; AB, P. S. C., Ed.; ACS Symposium Series, 2003; Vol. 847, pp 65–75.
- (31) Sangermano, M.; Colucci, G.; Fragale, M.; Rizza, G. Hybrid organic–inorganic coatings based on thiol-ene systems. *React. Funct. Polym.* **2009**, *69* (9), 719–723.
- (32) Claudino, M.; Van der Meulen, I.; Trey, S.; Jonsson, M.; Heise, A.; Johansson, M. Photoinduced Thiol-ene crosslinking of globalide/e-caprolactone copolymers: curing performance and resulting thermset properties. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2012**, *50* (1), 16–24.
- (33) Park, J.-G.; Ye, Q.; Topp, E. M.; Lee, C. H.; Kostoryz, E. L.; Misra, A.; Spencer, P. Dynamic mechanical analysis and esterase degradation of dentin adhesives containing a branched methacrylate. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* **2009**, *91B* (1), 61–70.
- (34) Bazaka, K.; Jacob, M. V.; Chrzanowski, W.; Ostrikov, K. Anti-bacterial surfaces: natural agents, mechanisms of action, and plasma surface modification. *RSC Adv.* **2015**, *5* (60), 48739–48759.
- (35) James, N. R.; Jayakrishnan, A. Surface thiocyanation of plasticized poly(vinyl chloride) and its effect on bacterial adhesion. *Biomaterials* **2003**, *24* (13), 2205–2212.

- (36) Nair, S.; Sasidharan, A.; Divya Rani, V. V.; Menon, D.; Manzoor, K.; Raina, S. Role of size scale of ZnO nanoparticles and microparticles on toxicity toward bacteria and osteoblast cancer cells. *J Mater Sci Mater Med* **2009**, 20 (1), 235–241.
- (37) Yadav, A.; Prasad, V.; Kathe, A. A.; Raj, S.; Yadav, D.; Sundaramoorthy, C.; Vigneshwaran, N. Functional finishing in cotton fabrics using zinc oxide nanoparticles. *Bull. Mater. Sci.* **2006**, 29 (6), 641–645.
- (38) Applerot, G.; Lipovsky, A.; Dror, R.; Perkas, N.; Nitzan, Y.; Lubart, R.; Gedanken, A. Enhanced Antibacterial Activity of Nanocrystalline ZnO Due to Increased ROS-Mediated Cell Injury. *Adv. Funct. Mater.* **2009**, 19 (6), 842–852.
- (39) Sonohara, R.; Muramatsu, N.; Ohshima, H.; Kondo, T. Difference in surface properties between *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* as revealed by electrophoretic mobility measurements. *Biophys. Chem.* **1995**, 55 (3), 273–277.
- (40) Svetlichnyi, V.; Shabalina, A.; Lapin, I.; Goncharova, D.; Nemoykina, A. ZnO nanoparticles obtained by pulsed laser ablation and their composite with cotton fabric: Preparation and study of antibacterial activity. *Appl. Surf. Sci.* **2016**, 372, 20–29.
- (41) Raghupathi, K. R.; Koodali, R. T.; Manna, A. C. Size-Dependent Bacterial Growth Inhibition and Mechanism of Antibacterial Activity of Zinc Oxide Nanoparticles. *Langmuir* **2011**, 27 (7), 4020–4028.
- (42) Brayner, R.; Ferrari-Iliou, R.; Brivois, N.; Djediat, S.; Benedetti, M. F.; Fiévet, F. Toxicological Impact Studies Based on *Escherichia coli* Bacteria in Ultrafine ZnO Nanoparticles Colloidal Medium. *Nano Lett.* **2006**, 6 (4), 866–870.
- (43) Yamamoto, O. Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. *Int. J. Inorg. Mater.* **2001**, 3 (7), 643–646.

II.7 Réseaux à base d'eugénol fonctionnalisé : système réservoir de carvacrol ou d'acide tannique

II.7.1 Introduction

Dans ce chapitre, nous présenterons la synthèse de réseaux à base d'eugénol fonctionnalisé en tant que système réservoir intégrant du carvacrol ou de l'acide tannique. Ces composés ne possédant aucune double liaison, vont donc simplement être piégés dans la matrice lors de la formation du réseau et vont pouvoir diffuser à travers celui-ci. En effet, la souplesse intrinsèque du réseau devrait permettre la diffusion des molécules phénoliques. En outre, le carvacrol est une molécule organo-soluble de petite taille se présentant sous la forme d'un liquide jaune orangé alors que l'acide tannique est une macromolécule solide et hydrosoluble (solubilité dans l'eau de 1g/0,35 mL). Ainsi, ces molécules phénoliques différant de par leur taille et leurs propriétés physico-chimiques, il est attendu que leurs profils de diffusion à travers la matrice soient différents.

Le **carvacrol**, monoterpénoïde phénolique présent dans l'huile essentielle de thym ou d'origan (Guarda, *Int. J. Food. Microbiol.*, 146, 2011 ; Keawchaoon, *Colloids Surf. B*, 84, 2011 ; Lopez, *J. Agric. Food Chem.*, 55, 2007) et l'**acide tannique** (**Figure 119**) (Liu, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 53, 2014 ; Pranantyo, *Biomacromolecules*, 16, 2015 ; Narayanan, *Polymer*, 76, 2015 ; Shibata, *J. Polym. Sci., Part B : Polym. Phys.*, 48, 2010 ; Shutava, *Macromolecules*, 38, 2005), composé polyphénolique extrait des tannins présentant les avantages d'être biosourcés, disponibles en grande quantité et peu coûteux, non toxiques et antibactériens, devraient exacerber les propriétés antibactériennes de ces nouveaux matériaux.

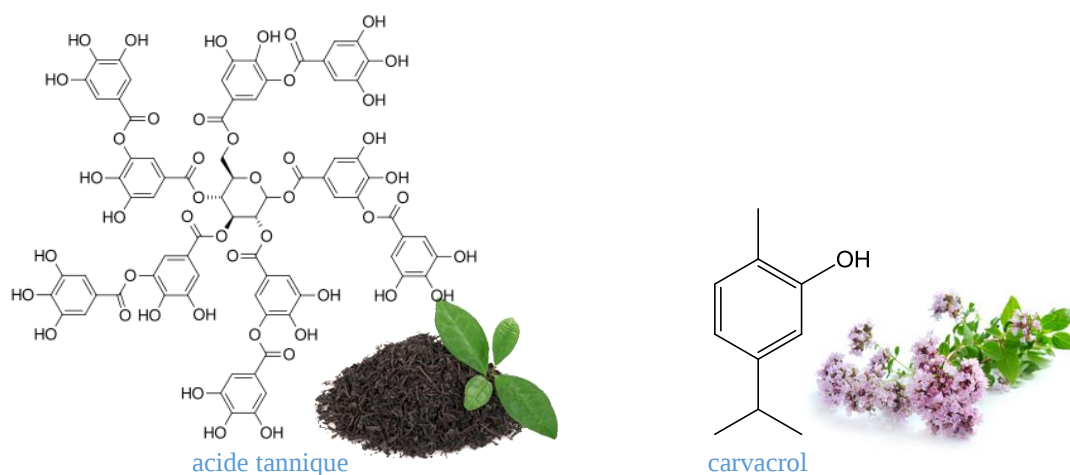


Figure 119: Structures chimiques de l'acide tannique et du carvacrol

Outre l'influence sur l'activité antibactérienne et antioxydante des matériaux, nous étudierons l'influence de la présence de ces molécules non covalentement liées dans la matrice réticulée. L'état physique différent des deux composés sélectionnés est susceptible d'impacter fortement le comportement des matériaux puisque le carvacrol pourrait jouer le rôle de plastifiant alors que l'acide tannique, insoluble dans la matrice pourrait jouer le rôle de renfort mécanique. Ces charges auraient alors un double effet, d'une part sur les propriétés antibactériennes et d'autre part sur les propriétés mécaniques.

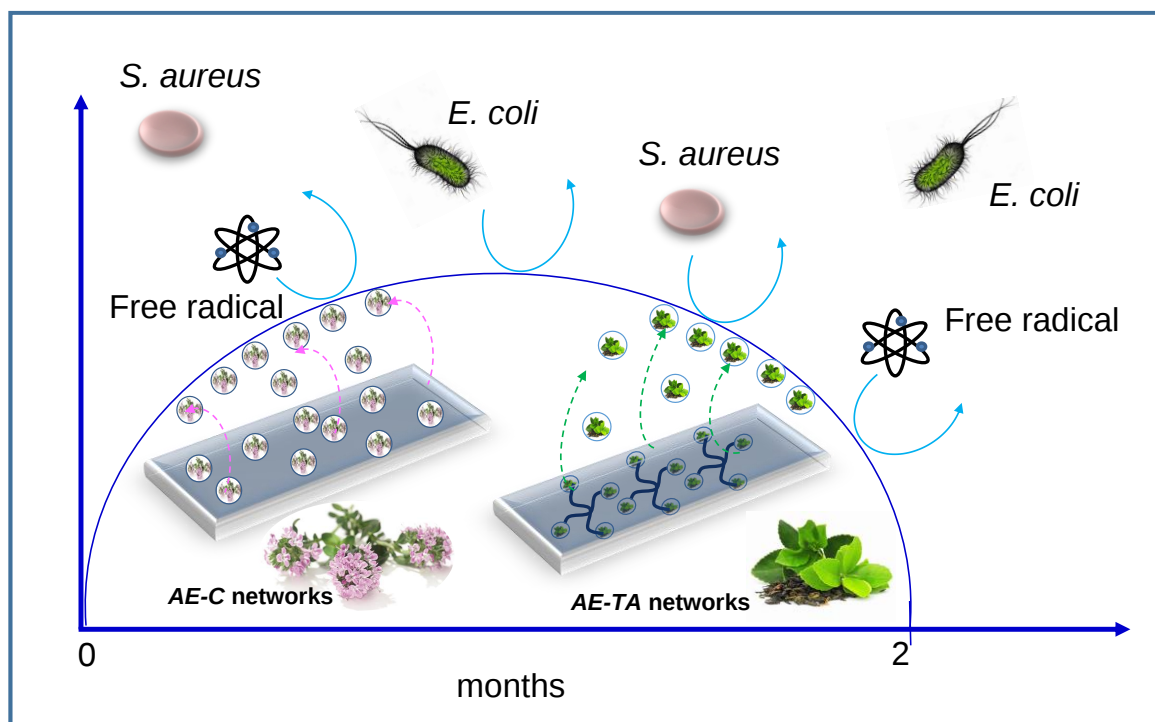
Différents matériaux de proportions massiques variables en acide tannique ou carvacrol ont donc été élaborés à partir des réseaux à base d'eugénol fonctionnalisé et leurs propriétés thermomécaniques ont par la suite été étudiées. De plus, leurs activités antibactériennes (contre *E. coli* et *S. aureus*) ainsi que leurs propriétés antioxydantes ont été déterminées. Enfin, le profil de diffusion du carvacrol et de l'acide tannique a été évalué.

Les résultats de ces travaux sont regroupés dans l'article suivant: Design of Antibacterial and Sustainable Antioxidant Networks based on Plant Phenolic Derivatives Used as Delivery System of Carvacrol or Tannic Acid paru dans ACS Sustainable Chemistry & Engineering (5, 2017, 2320-2329).

Design of antibacterial and sustainable antioxidant networks based on plant phenolic derivatives used as delivery system of carvacrol or tannic acid

ACS Sustainable Chemistry and Engineering, 5, 2017, 2320-2329

Aline-Sarah Glaive, Tina Modjinou, Davy-Louis Versace, Samir Abbad-Andaloussi, Pierre Dubot, Valérie Langlois and Estelle Renard



II.7.2 Abstract

Bio-based release networks embedding active phenolic moieties were prepared by photo-induced thiol-ene reaction. The originality of this work is to design UV-cured materials as delivery system of two phenolic compounds *i.e.* carvacrol (presents in thyme essential oil) and tannic acid (plants extracted). The key point of this study is to elaborate the crosslinked network and, in the same step, trapping the active phenolic molecules thanks to a rapid photo-induced process at room temperature, preserving active natural compounds. Photo-activated thiol-ene reaction was chosen to synthesize different eugenol-based networks since this process is nowadays mainly well known as a fast and straightforward tool to prepare crosslinked materials by green chemistry. The mechanical and thermal properties of the networks were determined and their antibacterial and antioxidant properties were investigated against two bacteria strains: *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Escherichia coli* (*E. coli*). The system based on 20 wt. % of carvacrol worked as an effective diffusion controlled system since it allowed a complete inhibition of the bacteria growth and a reduction in bacterial adhesion of 100% and 98.4 % for *E. coli* and *S. aureus* respectively. The introduction of 10 wt. % of tannic acid in the eugenol-based network led to a reduction of 77.9% of the bacteria adhesion of the Gram negative bacterium (*E. coli*) and there was no bacterium adhesion of Gram-positive bacteria (*S. aureus*). Moreover, these phenolic compounds provided a promising strong antioxidant activity as a radical scavenging activity of 88% and 92% for 20 wt. % introducing of carvacrol and 10 wt.% of tannic acid respectively were determined. Finally, these new active networks are particularly interesting since after 2 months, the antioxidant property of the carvacrol still remains equal at 68% and is fully preserve for the tannic acid thus, they could be used as sustained antibacterial and antioxidant phenolic delivery systems for packaging applications. The long time activity of the networks containing tannic acid is due to a physical entrapping induced by an oxidative coupling reaction between the molecules of tannic acid.

II.7.3 Introduction

In recent years, the improvement of bio-based molecules has attracted attention since these molecules can advantageously substitute petroleum resources, which are less available, and a major source of environmental pollution. The current researches are in perfect agreement with

the challenge of reducing the pollution, greenhouse gas emissions and more generally, the impacts on the environment^{1,2}. Recent reports indicate that new renewable resources are increasingly used in the polymer industry. Various monomers derived from bio-sourced materials (starch, cellulose, vegetal oils...) are already used for the production of polymers³ but the monomers obtained by bio-refinery process are restricted to aliphatic or cycloaliphatic compounds. The industrial valorization of bio-based aromatic compounds from the lignin or tannins is limited by their structural complexity. Essential oils constitute a source of aromatic molecules with a large spectrum of chemical structures. Eugenol extracted from the clove oil, is a very interesting phenolic compound and can be considered as a reactive functional monomer. The presence of a phenol group allowed especially the preparation of allyl-etherified eugenol.^{3,4} This allyl derivative eugenol (**AE**) was interesting for the preparation of photo-induced crosslinked materials. The advantage of crosslink materials prepared by thiol-ene reaction is that they exhibit improved physical properties such as flexibility and good adhesion to various substrates, which are ideal for coating applications.^{5,6} We have previously reported the great potential of these UV-photo-initiated system to elaborate flexible antibacterial materials.⁷ The aim of the present work is to entrap free active phenolic compounds inside eugenol networks to induce antioxidant properties and enhance the antibacterial activity. These molecules, free of carbon double bonds, are selected such that they are not chemically bound into the crosslinked network but simply embedded. Furthermore, the choice of the photo-curable thiol-ene process is particularly suitable since the reaction occurs at room temperature reducing the evaporation of volatile organic components, thereby preserving the integrity of these active molecules. It was demonstrated that monomers or polymers containing phenol functional groups are antimicrobial agents that act against the bacteria membrane.^{8,9} Phenolic compounds interact with the surface of the cell and cause the disintegration of the cell membrane and release of intracellular constituents leading to cell death. This death or inhibition of cell growth can be caused by intracellular coagulation of cytoplasmic constituents.¹⁰ Among these phenolic compounds, carvacrol and tannic acid are particularly interesting because of their bio-based origin, their non-toxicity and their antibacterial activity. Some authors demonstrated that carvacrol is nontoxic¹¹ and can be used in food industry. Indeed, carvacrol is a safe additive used as a flavoring agent in different products such as sweets or baked food.^{12,13} Moreover, it has been demonstrated that below the MIC value, this compound can be added to food products to reduce the risk of toxin production by *B. cereus* which is in perfect line with the use in food packaging since it allows to an increase of the safety of the products.¹⁴

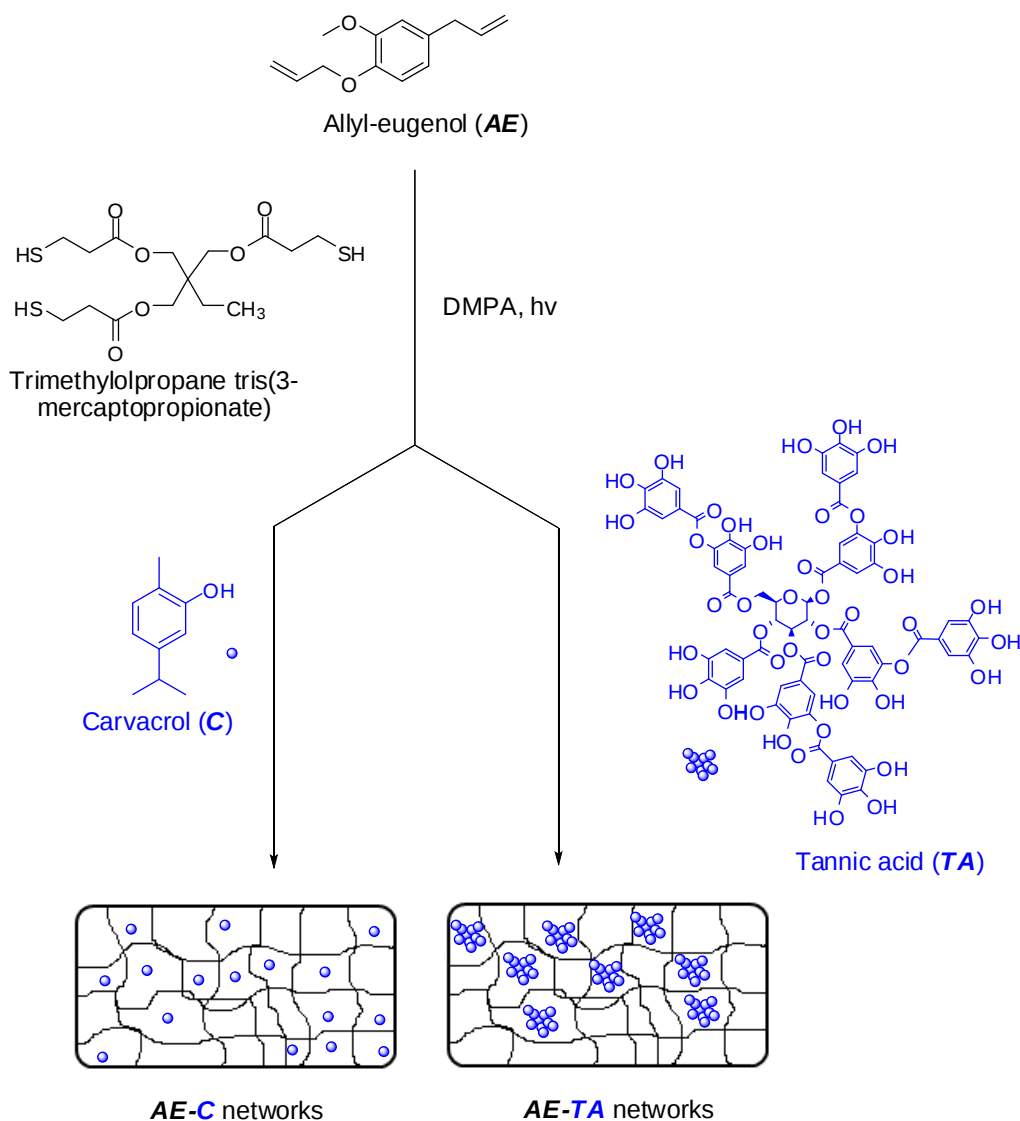
In the case of tannic acid, this compound is naturally present in many foods such as grapes, which contain a high concentration of tannins, certain berries, green tea, coffee, chocolate etc. so it is nontoxic too.

However, these two molecules exhibit different physical characteristics. Carvacrol is a phenolic and organo-soluble molecule, while tannic acid is a polyphenol, which is soluble in water or in acetone. Thus, two different systems will be developed since, in one case, a small volatile phenolic molecule will be entrapped and, in the other case, a solid polyphenol will be embedded. Both systems are likely to offer a best-suited response to the considered application. Among the phenolic compounds, the 2-methyl-5-(propan-2-yl)phenol (carvacrol) extracted from thyme and oregano essential oils,^{15,16} appears particularly attractive due to its broad spectrum of antimicrobial activity including Gram-positive and negative bacteria, fungi, moulds and yeasts.^{17–19} Carvacrol (**C**) has been incorporated into polymer films to enhance their antimicrobial or antioxidant properties.^{20,21} However, incorporating the carvacrol into polymeric films presents several difficulties because of its strong hydrophobicity and volatility. A partial loss by evaporation during the film casting is inevitable.²² In order to overcome these drawbacks, we propose to trap carvacrol within a network using an extremely rapid curing process. Furthermore, the complete solubilisation of carvacrol into monomers mixture without added solvent should provide a good dispersion of carvacrol through the network.

Another phenolic compound, tannic acid (**TA**), has also been studied in this work. Tannic acid is mostly extracted from plants including tea, wood, Chinese galls, and microorganisms.^{23,24} It contains a central carbohydrate (glucose) core, which is esterified by phenols (Gallic acid). Tannic acid is water-soluble and belongs to the group of high molecular weight polyphenolic compounds. This molecule has many attractive properties as binding to proteins²⁵ or being antibacterial, antimutagenic and antioxidant.^{26–30}

In the present study, carvacrol (**C**) or tannic acid (**TA**) were trapped in Allyl-Eugenol (**AE**)-based networks (**Scheme 1**). To keep consistent with an eco-friendly system, UV-initiated thiol-ene chemistry was chosen. This chemical process is now widely considered as a green chemistry way since it is solvent free, without metal catalyst and conducted at room temperature.³¹ The both phenolic compounds without alkene groups should not be linked to the thiol-ene network and should be able to diffuse outside the active material. The influence of the nature and the amount of the entrapped compounds on the final properties of the resulting

material was compared to **AE** networks. The antioxidant and antibacterial properties were then evaluated to determine their potential use for active packaging.



Scheme 1: Synthesis of the allyl-eugenol (**AE**) and the formation of the allyl-eugenol-Carvacrol (**AE-C**) or allyl-eugenol-Tannic acid (**AE-TA**) networks by thiol-ene reaction.

II.7.4 Experimental Part

II.7.4.1 Materials

Trimethylolpropane tris (3-mercaptopropionate) (TriSH) ($\geq 95\%$) and potassium carbonate (K_2CO_3) (99 %) were purchased from Aldrich. Eugenol (**E**) (99 %) and allyl bromide (99 % stab. with 300-1000 ppm of propylene oxide) were obtained from Alfa Aesar. Carvacrol (**C**) (99 %) and tannic acid (**TA**) ($\geq 99\%$) were provided by Sigma-Aldrich. 2,2-Dimethoxy-1,2-

diphenylethan-1-one (DMPA) was provided by BASF company. N,N-dimethylformamide and ethyl acetate were obtained from Carlo Erba Reagents. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and Lysogeny Broth, Miller (LB medium) were purchased from Aldrich. PBS buffer was prepared with 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄ and 1.76 mM KH₂PO₄ 99% adjusted at pH 7.4 on according to Cold Spring Harbor.³² Other chemicals for this study were analytic reagents obtained from Aldrich and used without purification.

II.7.4.2 Allyl-eugenol Networks Preparation, AE Networks

Allyl-eugenol (**AE**) was synthesized according to a previous report.⁷ The synthesis of 100% **AE** network is briefly described below. DMPA (3% w/w) and triSH (391 mg, $0.98 \cdot 10^{-3}$ mol, 1 eq. SH/C=C) were dissolved in **AE** (300 mg, $1.47 \cdot 10^{-3}$ mol). Formulation was poured into a silicone mold (4.7 x 2.5 cm) and heated at 60°C during at least 30 min then irradiated 5 min on each side at room temperature by Lightningcure LC8 (L8251) from Hamamatsu equipped with a mercury-xenon lamp (200 W) coupled with a flexible light guide. The end of the guide was placed at 11 cm of the sample to give the transparent and flexible resulted material. The maximum UV light intensity at the sample position was measured by radiometry (International Light Technologies ILT 393) to be 180 mW.cm⁻² in the 250-450 nm.

II.7.4.3 Allyl-eugenol - Carvacrol or Tannic Acid Networks Preparation, AE-C or AE-TA Networks

As an example, the synthesis of 100% **AE** with 10 wt% **C** (**AE-C**) is described here. **C** (69.1 mg) and triSH (391 mg, $0.98 \cdot 10^{-3}$ mol, 1 eq. SH/C=C) were dissolved in **AE** (300 mg, $1.47 \cdot 10^{-3}$ mol). DMPA (3% w/w, 208 μ L) was added to the mixture. The entire formulation was deposited into a silicone mold (4.7 x 2.5 cm), heated at 60°C during at least 30 min, and then irradiated. The synthesis followed the same procedure that the synthesis of 100% **AE** network. In the case of **TA**, the solid was previously dissolved in acetone (0.21 mL for 10 wt% **TA**) before to be added in the 100% **AE** mixture.

II.7.4.4 Characterization

Fourier transform infrared (FTIR) spectra were recorded on a Bruker Tensor 27 spectrometer with 32 scans equipped with an ATR apparatus.

Raman spectra were performed on a Horiba Xplora confocal Raman microscope (Horiba Jobin Yvon) equipped with an external excitation source (638 nm He-Ne laser). The objective lenses used in the study were 50x long-working distance (Long Working Distance M Plan Semi-Apochromat, LMPLFL50x, Olympus) and 10x (M Plan Achromat, MPLN10x, Olympus),

operating in air. Spectral acquisition was obtained using LabSpec software (Horiba Scientific, Edison, New Jersey). Raman spectra were recorded at a resolution of 1 cm^{-1} in the range between 4000 and 200 cm^{-1} . Repeated acquisitions using the highest magnification were accumulated to improve the signal-to-noise ratio. Spectra were calibrated using the 520.5 cm^{-1} line of a silicon wafer. Spectral details were as following; objective: x50, filter: 100% exposition: 10, slit: 50, hole: 500. Spectra were averaged from two to five accumulations, each with an acquisition time ranging from 15 s to 5 min. The conditions of measurement were adjusted depending on the type of the matrices to obtain a good signal-to-noise ratio. The extent of conversion was measured via FT-Raman spectroscopy from the band 2570 cm^{-1} corresponding to the SH bonds after the normalization of the spectrum to the ester carbonyl peak at 1735 cm^{-1} . The relative conversion α was calculated according to the **Equation 5**:

Equation 5

$$\alpha = \left(\frac{R_o - R_t}{R_o} \right) \times 100$$

with $R_o = \frac{I_{SH}}{I_{C=O}}$, before irradiation and $R_t = \frac{I_{SH}}{I_{C=O}}$, after irradiation.

X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS) analyzes were made with a Thermo Scientific K-Alpha XPS. Survey scans were done using a monochromatic Mg K α X-ray source (12 KeV, 2 mA) with a spot diameter of 25 mm^2 operated in a low power mode (24 W). A pass energy of 10 eV was used for the detailed XPS scans. XPS spectra were obtained with an energy step of 0.05 eV with a dwell time of 200 ms. Data acquisitions have mainly been focused on the C1s, O1s core level lines. The spectra obtained were treated by means of the “Avantage” software provided by ThermoFisher. The C1s envelope was analyzed and peak-fitted using Gaussian line shapes. The binding energy scale was fixed by assigning a binding energy of 284.8 eV to the –CH– carbon (1s) peak.

The thermal properties of the networks were measured by Differential Scanning Calorimetry (DSC). The measurements were conducted on Perkin Elmer Diamond DSC apparatus according to the following heating programs: heating from -80 to 200°C at $20^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$, cooling to -80°C at $200^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$ holding at -80°C for 5 min and heating to 200°C at $20^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$ to determine the glass transition temperatures.

Thermo gravimetric analyses (TGA) were performed on a Setaram Setsys Evolution 16 apparatus by heating from 20°C to 800°C at 10°C.min⁻¹ under argon atmosphere.

Mechanical testing was performed at room temperature using an Instron 5965 apparatus equipped with a 20 mN sensor at a crosshead displacement rate of 1 mm.min⁻¹.

Dynamic mechanical analyses (DMA) were performed on a TA Instrument Q800 analyzer in tension film mode equipped with a gas-cooling accessory. The characterization was carried out on samples having dimensions of 20 mm length, 5-8 mm width and a thickness of 0.2 mm. Samples were clamped and a strain of 0.04 % was applied with a frequency of 1 Hz. They were firstly equilibrated at -5 °C for 5 min then heated up to 80°C with a ramp of 3°C.min⁻¹. Finally, they were hold at 80°C for 10 min and cooled down to 20 °C. All tests were done under air. Water contact measurements were performed with a drop shape analysis system Krüss Easy Drop contact angle measuring system apparatus controlled by DSA software. The number average molecular weight between cross-links³³ (M_c) of the networks was determined thanks to the **Equation 6**:

Equation 6

$$M_c = \frac{2(1+\nu)\rho RT}{E'}$$

Where ν is the Poisson coefficient (equal to 0.35 before T_g for cross-linked materials), ρ is the density of the material determined by gravimetry, R is the gas constant, T is the temperature corresponding to E' and E' is the storage modulus before T_g .

II.7.4.5 Soluble extract determination

The samples (4.7 x 2.5 cm) were treated with 10 mL of ethyl acetate stirred in a flask during 3 h at room temperature. The films were washed with ethyl acetate, then dried overnight under vacuum and weighed. The soluble extract was determined from weight loss material and from the amount of organic extract fraction after the solvent evaporation under vacuum.

II.7.4.6 Swelling determination

The entire network was immersed at room temperature in 50mL of the solvent. The film was weighed and measured after 24h.

II.7.4.7 Turbidity measurements

Light transmission of **AE**-based networks against UV and visible light were measured using the CaryWinUV software according to the method of J. Wu and *al.*³⁴ Each film was tested and the results were expressed as percentage transmittance. The turbidity (τ) was calculated by the

Equation 7:

Equation 7

$$\tau = \frac{\text{Abs } 600}{e}$$

where Abs₆₀₀ is the absorbance at 600 nm and e is the film thickness (mm).

II.7.4.8 Bacterial adhesion

The anti-adherence activity of the networks was studied using two pathogenic bacterial strains: *E. coli* ATCC25922 (Gram-negative) and *S. aureus* ATCC6538 (Gram-positive) which were grown aerobically at 37°C overnight on LB medium before the bacterial adhesion tests. The films of **AE**-based networks were immersed 1 h at 37°C and stirred (130 rpm) in the bacterial suspension of the two different strains in LB medium (Abs_{600nm}=0.05). The non-adherent bacteria were then removed from the network surface by several washes with a physiological saline buffer. The networks were then submitted to vortex and ultrasounds in a minimum volume of physiological saline buffer to unhook fasten bacteria. Finally, 200µL of this resulting viable bacteria suspension were inoculated onto the surface of a PCA agar (Plate Count Agar) Petri dish. After 24h of incubation at 37°C in aerobic condition, the antibacterial activity was measured by counting the overall number of bacteria (CFU-Colony Forming Units) for the different strains. Each experiment was performed in four replicates. The software R was used to analyse the data. At least, four replicates of the experiments were conducted in order to allow a significant statistical analysis. The Analysis Of the Variance (ANOVA) statistic test was used and significant differences among antibacterial properties of the networks were detected thanks to the multiple range test of Duncan.

II.7.4.9 Microbial growth inhibition

The networks were immersed at 37°C and stirred (130 rpm) in the bacterial suspension of *E. coli* or *S. aureus* ($OD_{600nm} = 0.05$). 100 μ L of samples are taken to measure the absorbance at 600 nm every 30 min for 6h. Experiments were conducted in four replicates.

II.7.4.10 Release of carvacrol and tannic acid in PBS buffer

The amount of carvacrol and tannic acid released was quantified by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) using a C18 R reverse phase column, 150 mm x 4 mm, particle size 5 μ m. The HPLC consisted of Ultimate 3000 pump from Dionex linked to the spectra 100 UV-Vis detector from Spectra-Physics Analytical and UCI-50 Universal Chromatography Interfaces from Dionex. The HPLC-UV system was controlled by Chromeleon software. The flow rate of the mobile phase was 1mL/min. The mobile phase compositions were (A) methanol/water (70/30) and (B) methanol/water pH= 2.5 prepared with aqueous KH_2PO_4 99% 50mM and 1% of formic acid.

The samples were immersed (4.7 x 2.5 cm) at 37°C and stirred (130 rpm) in 45mL and 30mL PBS (respectively 20 wt.% **C** and 10wt % **TA**) in order to act as simulated LB medium. All 30 min 300 μ L of the solutions were withdrawn and the amount of carvacrol or tannic acid released from the films was evaluated by HPLC for 24h. The mobile phase was composed of (A) methanol/water (70/30) for **AE-C** and (B) methanol/50 mM KH_2PO_4 with 1% of formic acid at pH 2.5 (55/45) for **TA**. The absorbance was monitored at $\lambda = 274$ nm.

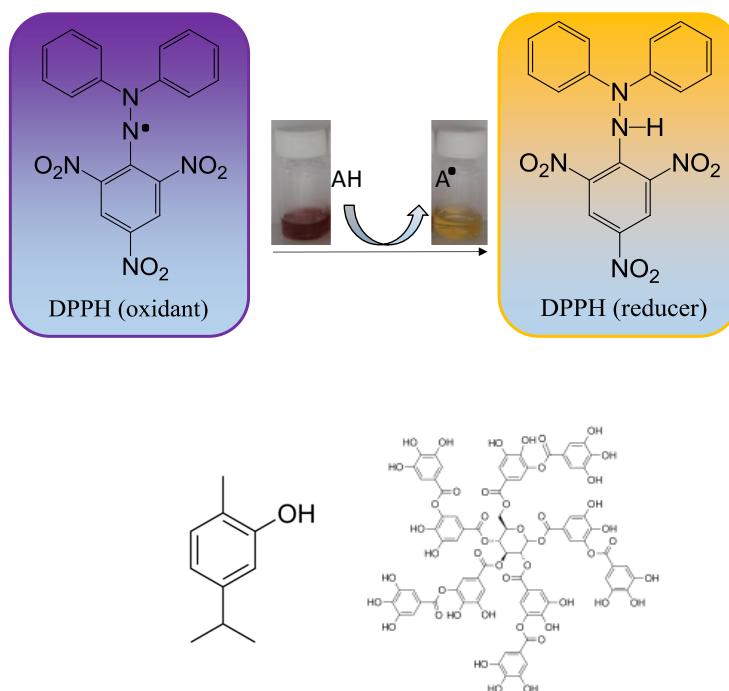
II.7.4.11 Antioxidant activity

The antioxidant activity of the networks was treated according to the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method^{35–37} (**Scheme 2**). 30 mg of the network were immersed in 3 mL of 0.1 mM of DPPH solution (in methanol). This solution was then left in the dark for 1h at room temperature. The radical scavenging activity was measured by using the CaryWinUV software. The DPPH solution is known to have a maximum of absorption at 517 nm. The antioxidant activity was therefore determined by monitoring the decrease of the absorbance at this wavelength. The radical scavenging activity was calculated according to the **Equation 8**:

Equation 8

$$\text{Radical scavenging activity (\%)} = \left(\frac{A_{\text{ref}} - A_s}{A_{\text{ref}}} \right) \times 100$$

where “ A_{ref} ” corresponds to the absorbance of the 0.1 mM of DPPH solution without network and “ A_s ” corresponds to the absorbance of the 0.1 mM of DPPH solution with network at 517 nm.



Scheme 2: Mechanism of DPPH scavenging.

II.7.5 Results and Discussion

II.7.5.1 Preparation of the Networks

The synthesis of photo-induced thiol-ene networks based on allyl- eugenol (**AE**) with trapped carvacrol (**C**) or tannic acid (**TA**) in the presence of DMPA was showed in the **Scheme 1**. These networks were prepared by thiol-ene reaction of unsaturated AE with the triSH in presence of DMPA as photoinitiator under UV irradiation. For all compositions studied, the initial stoichiometry C=C/SH was maintained to 1/1. The weight fraction of carvacrol may not exceed 30 wt. %. Thus, higher values led to an insufficient crosslinking due to the dilution of the monomer mixture, which decreases the conversion yield. Consequently, the material became sticky. In the case of the solid tannic acid, it is necessary to previously dissolve **TA** in a minimum volume of acetone. The volume required to dilute a **TA** quantity exceeding 10 wt. %

increases the dilution of the initial mixture that prevented the total crosslinking. The cross-linking process was followed by Raman spectroscopy. **Figure 120** shows the carbonyl group characteristic peak at 1735 cm^{-1} and at 2570 cm^{-1} , the strong characteristic peak of the thiol group. The success of the reaction was confirmed by the decrease of the SH band after irradiation. The conversion yield is determined by comparison of the intensities of these peaks. The results are reported in the **Table 8**.

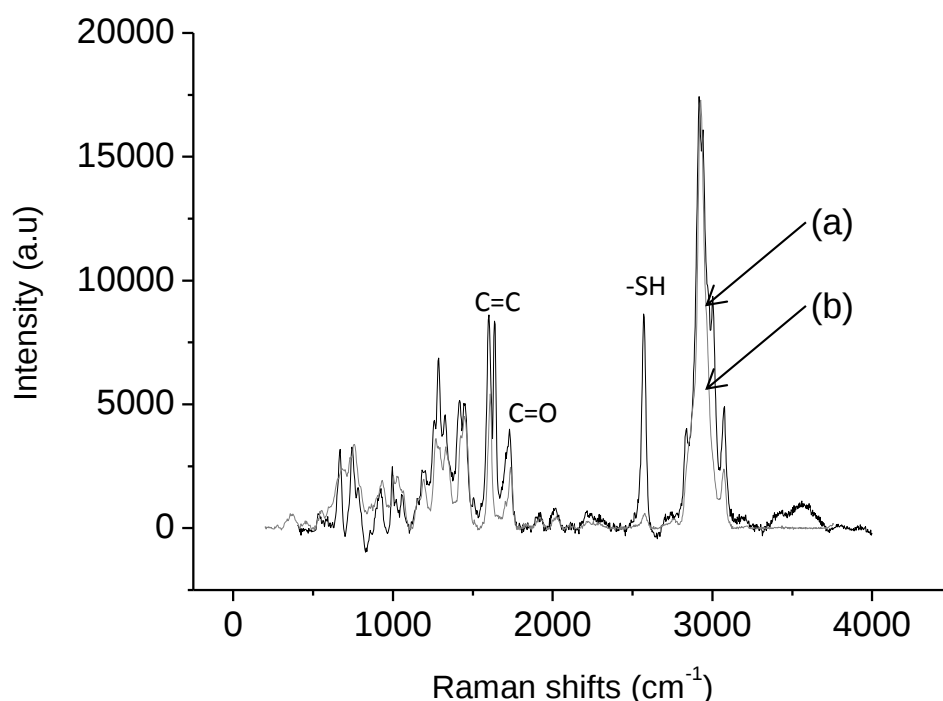


Figure 120: RAMAN spectra of AE-TA (10) network before (a) and after (b) 300 s of irradiation.

Table 8: Characteristics of AE, AE-C (20) and AE-TA (10) networks

Composition (w/w %)	AE	AE-C (20)	AE-TA (10)
Thickness (mm)	0.21 ± 0.03	0.20 ± 0.04	0.20 ± 0.06
Θ^a (°)	76.60 ± 3.80	76.90 ± 1.03	80.00 ± 1.00
SH conversion^b (%)	94.70 ± 0.03	90.25 ± 0.35	91.50 ± 0.71
Soluble extract^c (%)	2.70 ± 1.40	17.30 ± 0.60	4.70 ± 0.70

^aDetermined by water contact measurements, ^bDetermined by Raman spectroscopy, ^cDetermined by gravimetric analysis after extraction in ethyl acetate

A yield higher than 90% was achieved but a total conversion was not reached in spite of the functions stoichiometry. The swelling ratio of the **AE** networks in different solvents was shown in **Table 9**. As expected, **AE** networks swell in moderately polar solvents, but do not swell in polar solvents such as water or ethanol. Since in ethyl acetate, the swelling ratio reaches 23%, the extraction of the **AE** was conducted in this solvent. The soluble extract amount of **AE** networks, lower than 3% indicates that all monomers are covalently linked (**Table 8**). The non-complete conversion may be due to the decrease of the molecules mobility at high conversion that reduces the access to reactive groups.

Table 9: Swelling ratio of the AE networks

Solvent	H ₂ O	EtOH	Ethyl acetate
Swelling rate ^{a)} (%)	0.30 ± 0.42	4.80 ± 2.55	23.21 ± 0.36
Surface increase (%)	0	0.2	1.34
Thickness (cm)	0.21	0.21	0.25

^{a)}Determined by gravimetric analysis

II.7.5.2 Characterization of the Networks

As expected, the introduction of tannic acid, a solid compound, led to an increase of the turbidity of the networks but materials keeps translucent (**Figure 121**). The treatment of 100% **AE** films in solvents showed that despite the high degree of crosslinking (SH conversion greater than 90% (**Table 8**)) non-polar solvents can penetrate into the film (**Table 9**). As attempt, the introduction of carvacrol (hydrophobic molecule) did not affect the value of the contact angle whereas a slight increase was observed in the case of tannic acid in agreement with the polarity of this compound (**Table 8**). The soluble extract from **AE-C** films close to the expected value confirms that carvacrol molecules are not linked to the network and can diffuse out of the network. The soluble extract values of **AE-TA** films are lower than the initial fraction suggesting that **TA** seems physically entrapped in the networks. The incomplete extraction of tannic acid could be explained by the steric hindrance. Indeed, it can be assumed that the tannic acid molecules could linked together by oxidative coupling reactions as it was reported in the

literature for phenolic compounds.³⁸ Enzymes, such as peroxidases and laccases, using hydrogen peroxide or oxygen, respectively, as oxidant generating phenoxy radicals, generally catalyse these reactions. It can be expected that in presence of DMPA, under UV irradiation, similar reaction may occur leading to an oligomerization of tannic acid. To confirm this hypothesis, experiments were achieved. A tannic acid solution in acetone, with or without DMPA was irradiated for 300 seconds. In presence of DMPA and under UV irradiation, the tannic acid solution led to a film formation (**Figure 123**) which is insoluble in water but poorly soluble in ethyl acetate. It can be assumed that **TA** molecules are linked to each other through an oxidative process leading to the formation of oligomers, which are not water-soluble. Thus, these macro-monomers are physically trapped inside the network and cannot be easily extracted with a solvent. To demonstrate this assumption, TGA analyses of the tannic acid and the irradiated tannic acid in presence of DMPA were performed (**Figure 123**). An increase of the $T_{5\%}$ value from 240°C for **TA** to 250°C for irradiated **TA** in presence of DMPA was observed. It can be assumed that the increase of the thermal stability is due to the formation of a macro-monomer of **TA** by oxidative process.

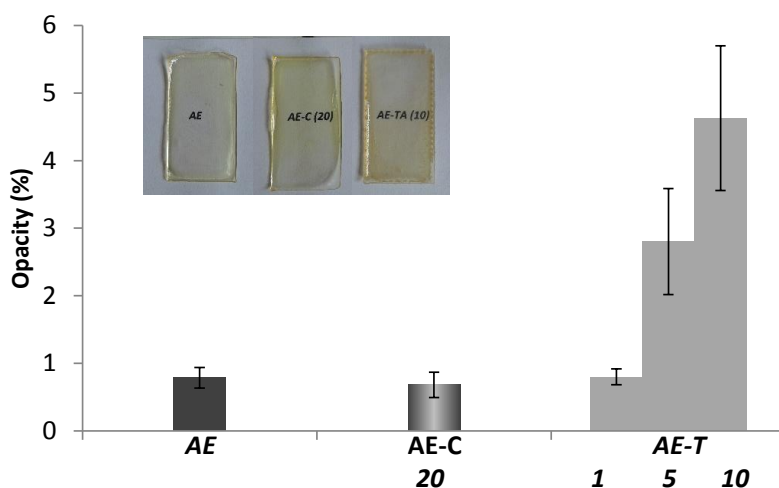


Figure 121: Opacity and photographs of the AE, AE-C (20) and AE-TA (10) networks.

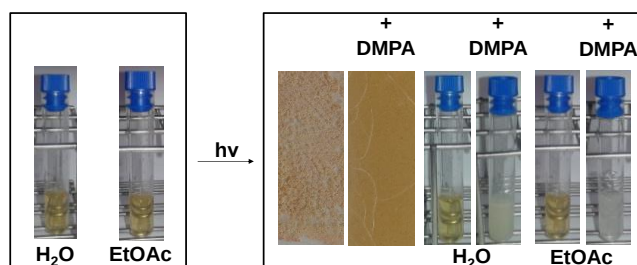


Figure 122: Photographs of the TA acetone solutions with or without DMPA before and after irradiation and resulting products.

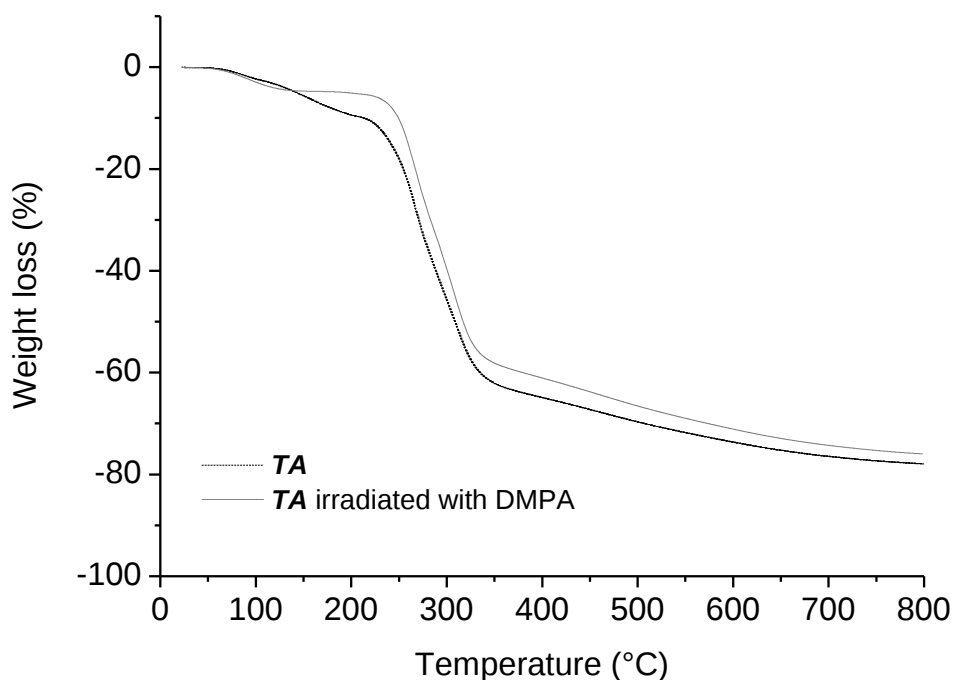


Figure 123: TGA thermograms of TA (black dotted) and irradiated TA in presence of DMPA (grey).

SEM images of *AE* networks demonstrate smooth surface and homogeneous material (**Figure 124 a** and **c**). In the opposite, the surface of *AE-TA* material shows roughness marks (**Figure 124 b** and **d**) that are induced by the solid filler concentration and are facilitated by the flexibility of the C-S linkages³⁹⁻⁴¹. Furthermore, the presence of *TA* oligomers inevitably increases the constraints during crosslink process.

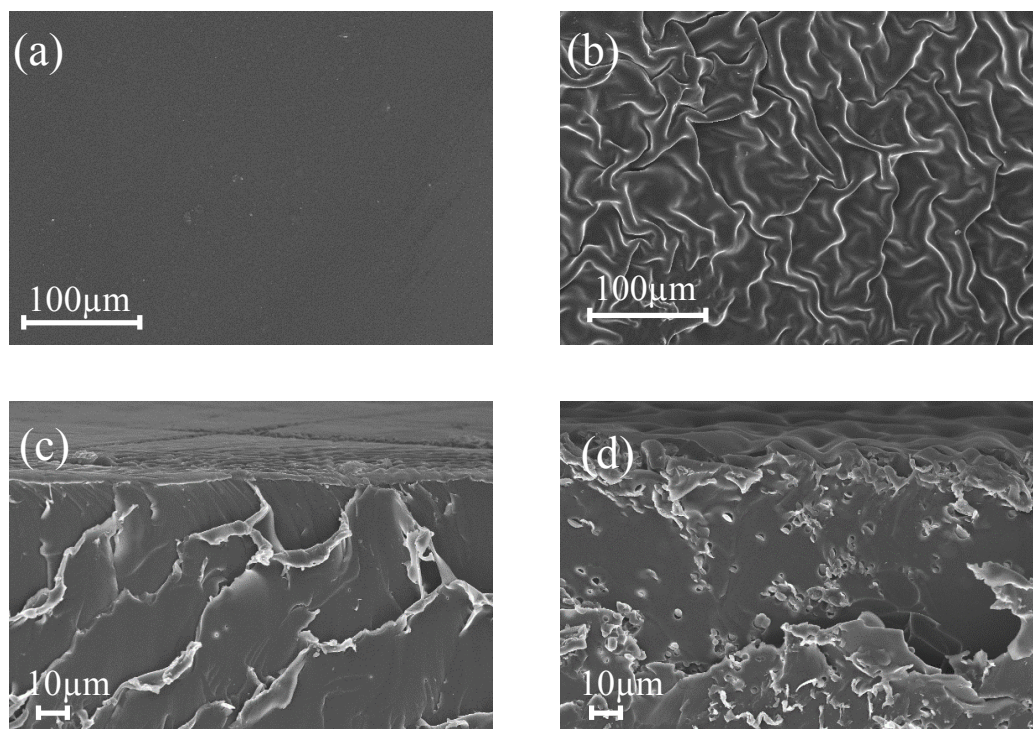


Figure 124: SEM images of surfaces on the top and fracture surface at the bottom of AE (a, c) and AE-TA (10) (b, d) networks.

The surface chemical components structure of *AE-TA* networks was analysed by XPS. The O/C atomic ratio were similar for all compositions ($\approx 0.37 \pm 0.2$). However, there are some differences in the XPS C1s high resolutions scans. As shown in **Figure 125**, the *AE* networks can be divided into six peaks, corresponding to the carbon atoms in different functional groups. The assignments are in agreement with literature^{42–45}. The incorporation of *TA* in the networks induces the appearance of a supplemental peak at 287.4 eV (peak E, **Figure 125 b** and **c**), attributed to the ester group between two aromatic ring, contributing to 7.9% of the total carbon content (**Table 10**). This particular position of the ester group in *TA* molecules induces delocalization effects responsible of the shift of the O-C=O signal toward a lower energy.^{42,46,47} This C1s peak intensity increased after the extraction of the cross-linked material in ethyl acetate due to the increase of the ester groups content on the surface (**Figure 125c**). It can be assumed that the extraction has caused the migration of tannic acid oligomers toward the surface. This result has been confirmed by FTIR analysis by a bond at 3500 cm^{-1} corresponding to OH phenol groups (result no shown).

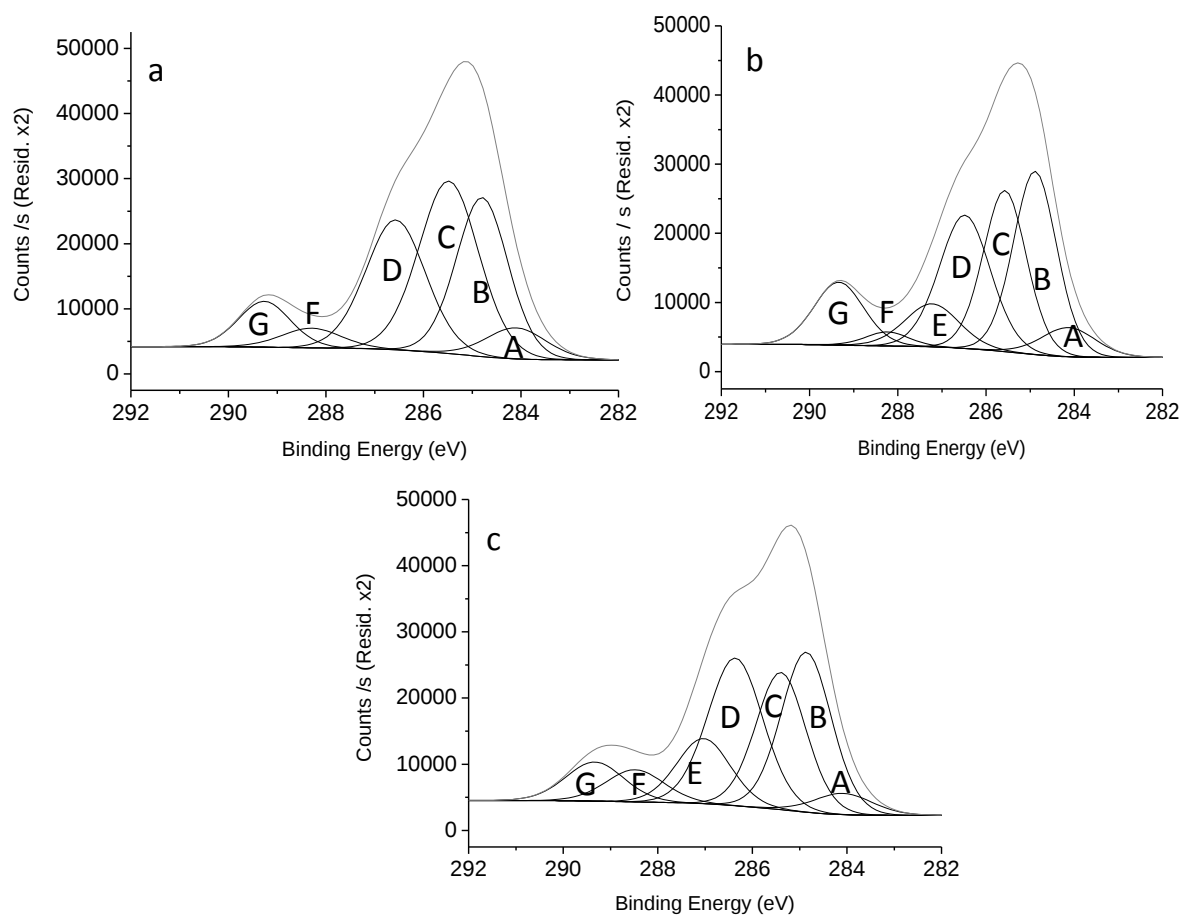


Figure 125: XPS spectra of AE (a), AE-TA (10) before (b) and AE-TA- (10) after (c) extraction in ethyl acetate.

Table 10: Assignment of peaks in the XPS spectra with binding energy and atomic percentages concentration for the networks AE, AE-TA (10), AE-TA (10) after extraction in ethyl acetate

	Peak	Binding energies (eV)	AE	AE-TA	AE-TA _{ext}
C1s	A	<u>C</u> =C (284.2)	5.85	5.38	3.86
	B	<u>C</u> -C/ <u>C</u> -H(284.8)	25.96	27.02	25.4
	C	<u>C</u> -O/ <u>C</u> -OH ar (285.8)	32.50	23.78	21.59
	D	<u>C</u> -O/ <u>C</u> -OH al (286.4)	24.49	23.21	25.53
	E	O- <u>C</u> =O ar(287.4)	-	7.94	10.95
	F	<u>C</u> =O (288.4)	3.70	2.06	5.84
	G	O- <u>C</u> -O (289.3)	7.49	10.64	7.09
%	O		25	28	27
	C		70	67	69
	S		5	5	4
	O/C		0.36	0.42	0.39

The C1s signal is deconvoluted with a fixed width at half maximum of 1.4 ± 0.1 eV

The mechanical and thermal properties of the networks were investigated by using DSC, TGA, tensile measurements and DMA (**Table 11**). The entrapped molecules, **TA** or **C** led to a decrease of the crosslinking of the materials and consequently induced a drop of the glass transition temperature from -1°C to -5 and -9°C for the **AE**, **AE-TA (10)** and **AE-C (20)** networks respectively. Thermal degradation was studied by TGA by considering the temperature corresponding to 5% and 50% of weight loss. The thermal degradation temperature of **AE-C** networks at 5% corresponds to the temperature of free carvacrol (145 °C) and the weight fraction corresponding to the carvacrol degradation (between 91 °C and 285 °C) is around the initial weight fraction. These results are in line with the soluble extract results (**Table 8**) and confirm that the carvacrol is not covalently linked to the network but only entrapped (**Figure 126**). In the case of **AE-TA** networks, the increase of the degradation temperature of **TA** from 271 °C to 290 °C may be explained by the presence of oligomers of tannic acid induced by oxidative coupling reactions (**Figure 127**).

Table 11: Thermal and mechanical properties of the AE, AE-C (20) and AE-TA (10) networks

Composition (w/w %)	AE	AE-C (20)	AE-TA(10)
T_g^a (°C)	-1.0 ± 1.5	-9.0 ± 2.0	-5.0 ± 3.7
$T_{5\%}^b$ (°C)	306 ± 1.6	145 ± 3.2	271 ± 2.0
$T_{50\%}^b$ (°C)	383 ± 2.5	376 ± 1.9	397 ± 1.5
E^c (MPa)	5.9 ± 0.7	3.9 ± 0.2	9.9 ± 0.6
σ_r^c (MPa)	1.1 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.8 ± 0.6
ε_r^c (MPa)	23 ± 4.0	15 ± 4.0	33 ± 4.0
E'^d (MPa)	17.9 ± 7.2	9.8 ± 0.8	12.3 ± 1.3
$\tan\delta^d$ (°C)	10.4 ± 2.3	-2.4 ± 1.3	8.5 ± 1.6
L_α^d (°C)	12.7 ± 0.6	14.5 ± 0.1	20.0 ± 2.2
h_α^d	0.95 ± 0.2	0.97 ± 0.1	0.73 ± 0.3
M_c (g.mol ⁻¹)	2009 ± 50	2548 ± 70	1711 ± 30

^a)Determined by DSC, ^b) $T_{5\%}$ or $T_{50\%}$: Temperatures of 5% or 50% weight loss of the networks determined by TGA, ^c)Determined by tensile measurements (E : Young modulus, σ_r : tensile strength, ε_r : elongation at break), ^d)Determined by DMA (E' : storage modulus, $\tan\delta$: maximum of the peak , L_α : width at half height of the peak of $\tan\delta$, h_α : intensity of the peak of $\tan\delta$, M_c : number average molecular weight between cross-links).

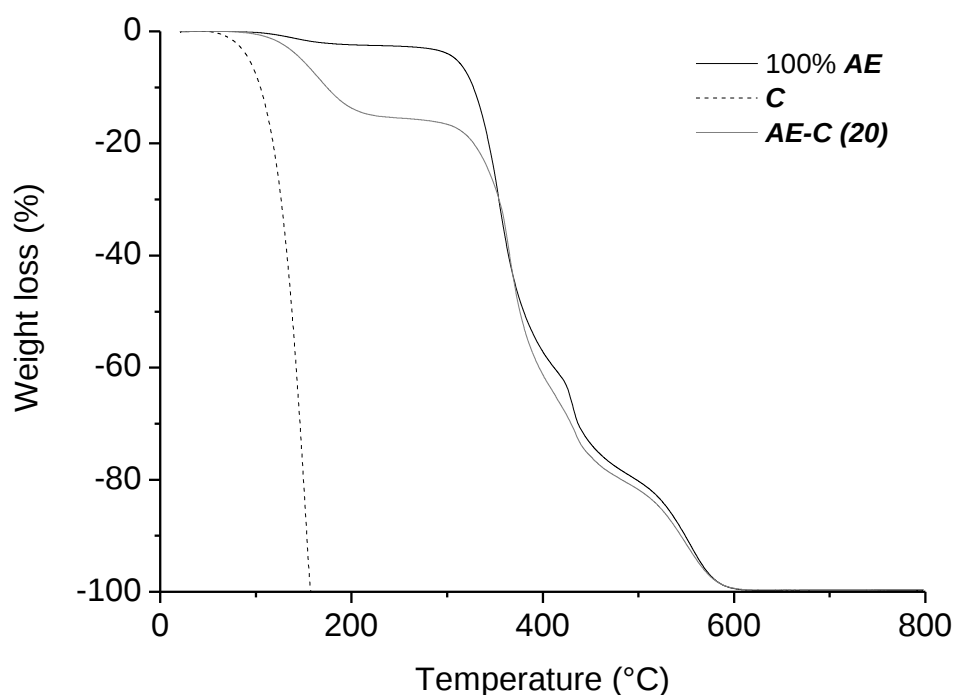


Figure 126: TGA thermograms of C (black dashed), 100% AE (black) and AE-C (20) (grey) networks.

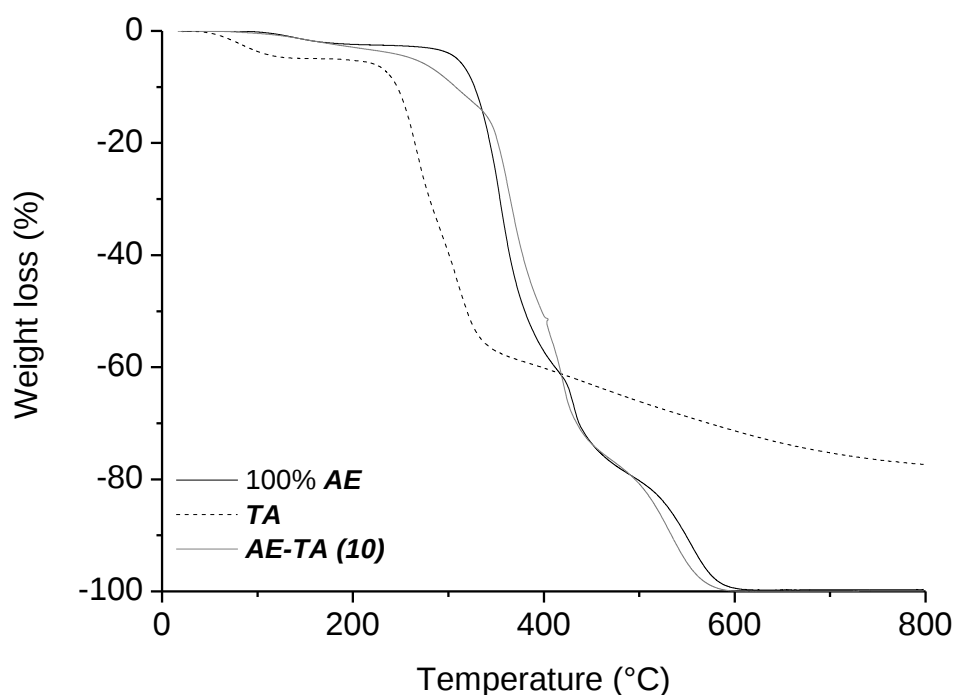


Figure 127: TGA thermograms of TA (black dashed), 100% AE (black) and AE-TA (10) (grey) networks.

Mechanical properties are shown in **Figure 128** and **5**. It can be assumed that the increase of number average molecular weight between cross-links (M_c) due to the introduction of 20 wt% of carvacrol led to an improvement of the flexibility of the material as demonstrated by the decrease of the modulus, tensile strength and toughness of the **AE-C** network, as compared to the **AE** network (**Table 11**). For each composition, the $\tan \delta$ peak is monomodal but the peak width at half height, $L\alpha$, slightly increases (from 0.7 to 0.8 and 1.1 cm corresponding to an increase from 12.7 to 14.5 and 20.0°C) with the incorporation of C and TA respectively, reflecting an increase of the heterogeneity (**Figure 129**). The networks were slightly reinforced with **TA** induced by presence of rigid oligomers of tannic acid since a decrease of the M_c associated to an increase of the moduli (Young and storage) were observed (**Table 11**). Moreover, the increase of intensity of $\tan \delta$ peak ($h\alpha$) (indicating an increase of the loss of energy) is characteristic of a viscous behavior whereas a low value of this intensity indicates an elastic behaviour.⁴⁸ The values of $h\alpha$ correlate with the M_c values since $\tan \delta$ increase with the increase of M_c . The higher viscous behavior is, the lower the cross-linked network is⁴⁹. On the other hand, an elastic behavior indicates a high cross-linked network.

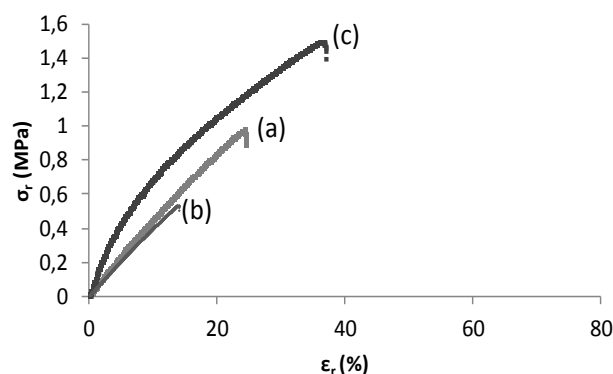


Figure 128: Tensile tests of AE (a), AE-C (20), (b) and AE-TA (10) (c).

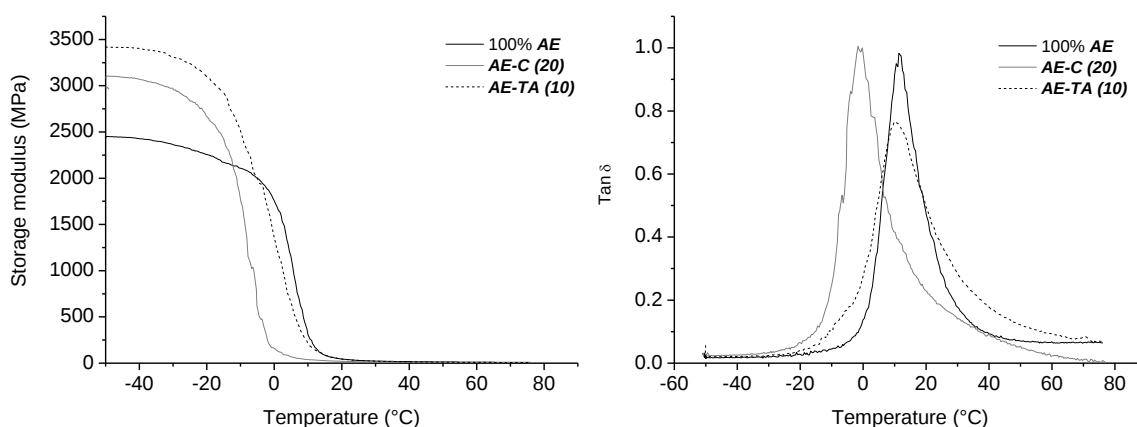


Figure 129: Dynamic mechanical properties of the AE (in black), AE-C (20) (in grey), and AE-TA (10) (in black dashed) networks.

II.7.5.3 Bacterial Adherence and Growth Inhibition

The anti-adhesive properties of the networks were examined against two strains of bacteria, a Gram-negative bacteria *E. coli* and a Gram-positive bacteria *S. aureus*. These bacteria were chosen since they are a serious cause of various humans and animals infections. In particular, *Staphylococcus aureus* is a leading cause of hospital-acquired infection (nosocomial infection). **Figure 130** shows the amount of viable adhered bacteria (CFU/cm²) calculated by the ANOVA and StatAdvisor post-tests on different networks of AE-C containing 10, 20 and 30 wt.% of carvacrol and *AE-TA* containing 10 wt.% of tannic acid. In the case of the Gram-negative bacteria (*E. coli*), the introduction of 10 wt.% of tannic acid in the eugenol-based network led to a reduction of 77.9 % of the bacteria adhesion and a complete inhibition of the adhesion

when 20 wt.% of carvacrol were incorporated. Indeed, it had been reported that carvacrol has a membrane disruption property in *E. coli* and *Salmonella typhimurium*.⁵⁰ Furthermore, some authors had demonstrated the antimicrobial activity against different pathogens of plant-derived polyphenols such as tannic acid.^{51–53} The effect on the Gram positive bacteria (*S. aureus*) were more enhancing since the introduction of 20 wt.% of carvacrol caused a decrease of 98.4% of the bacteria adhesion while there was no bacterium adhesion when 10 wt.% of tannic acid were introduced in the material. Chung et al. have proved the high antibacterial activity of tannins, which are phenolic compounds, against *S. aureus*. Indeed, it had been shown that the mechanism of antibacterial activity of polyphenols such as tannic acid consisted in a directly bind of the peptidoglycan layer in the membrane of Gram-positive bacteria.⁵¹ On the contrary, this mechanism cannot occur for the cell wall components in Gram-negative bacteria⁵⁴ that is why a low activity against *E. coli* and *P. aeruginosa* has been observed.⁵⁵ In addition, the bactericidal activity in the solution by a bacterial growth inhibition study was investigated. **Figure 131** shows the percentage of microbial growth inhibition in the medium over 6h of culture. The results demonstrate that 100% of the bacteria growth are inhibited whatever the strains in presence of **AE-C (20)** network, which is in line with the diffusion of the carvacrol out of the material. On the other hand, in presence of **AE-TA (10)**, only 53% of inhibition of *S. aureus* growth and 16% of inhibition of *E. coli* growth have been achieved. It may be explained by a restrained diffusion of **TA** from the film, as it was assumed previously. Furthermore, these results are in good agreement with the fact that the carvacrol was found as the most effective antibacterial agent with the lowest MIC (minimum inhibitory concentration) in comparison with tannic acid.^{16,56,57} In microbiology, minimum inhibitory concentration (MIC) is defined as the lowest concentration of an antimicrobial drug (like an antifungal, antibiotic, bacteriostatic) that will inhibit the visible growth of a microorganism after overnight incubation.

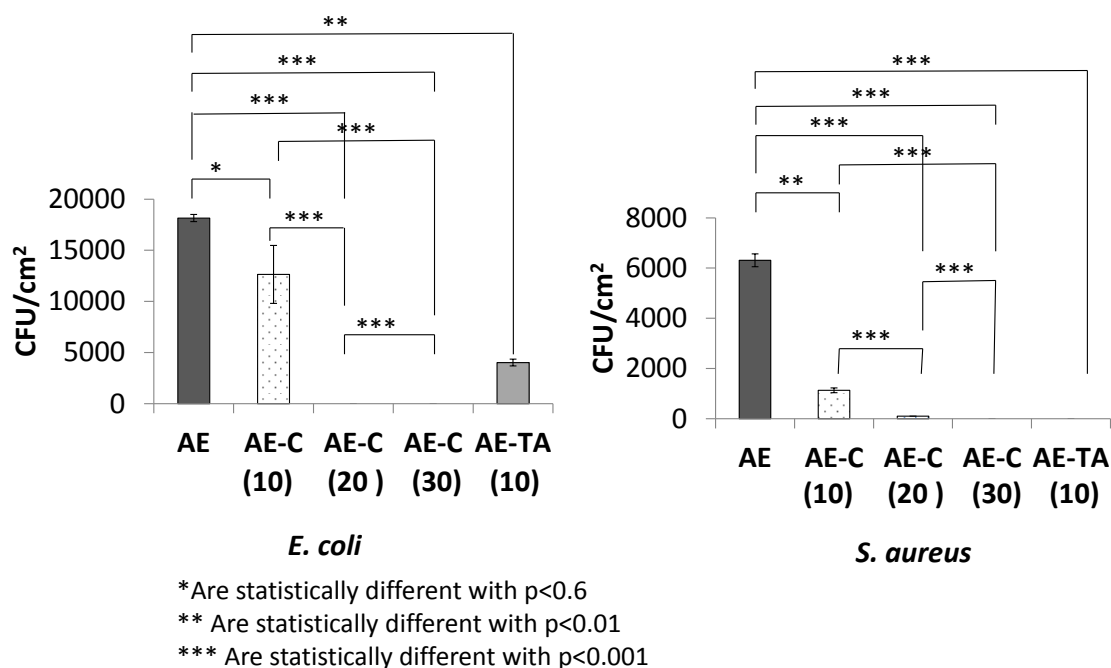


Figure 130: Antibacterial tests of the AE, AE-C and AE-TA networks against *E. coli* and *S. aureus*.

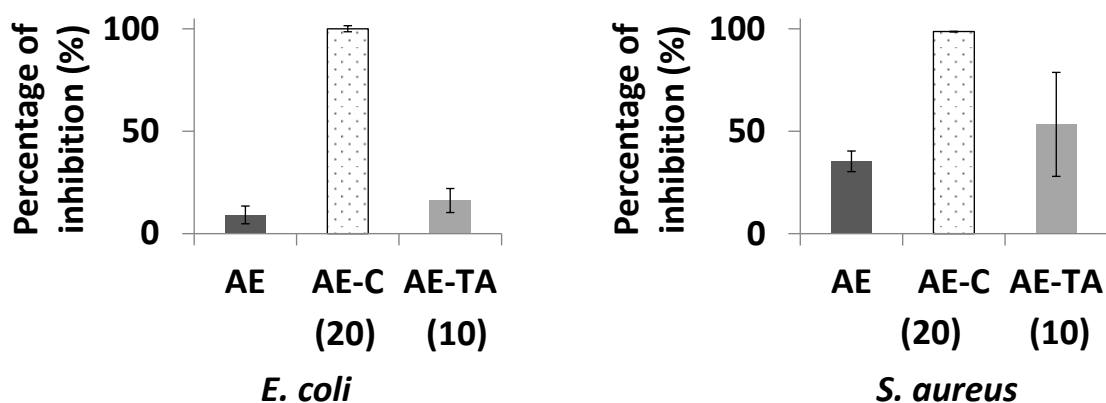


Figure 131: Bacterial inhibition of the AE, AE-C (20) and AE-TA (10) networks by measurement of the absorbance against *E. coli* and *S. aureus*.

The releases of carvacrol and tannic acid in PBS buffer were examined to corroborate the tests of bacterial inhibition at 37°C. **Figure 132** shows the percentage of carvacrol or tannic acid releases in PBS. In order to investigate the molecule-trapped release kinetics, several mathematical models have been developed.⁵⁸ Korsmeyer-Peppas is a simple relationship model which described the drug release from polymer system.⁵⁹

In this model, the mechanism of molecule release was fitted according to the **Equation 9**:

Equation 9

$$M_t / M_{\infty} = kt^n$$

$$\ln(M_t / M_{\infty}) = n \ln(t) + \ln(k)$$

where M_t / M_{∞} is the fraction of molecule released at time t ; M_t and M_{∞} is the molecule content released at time “ t ” and at “equilibrium”, respectively; “ k ” is the rate constant and “ n ” is the release exponent which is used to characterized different release mechanisms. The exponent “ n ” can be determined by plotting $\ln (M_t / M_{\infty})$ against $\ln (t)$ and corresponds to the slope of the slop of the line obtained. When $n < 0.5$, the molecule release from the networks follows the Fickian diffusion and the molecule release rate is time-dependent. When $0.5 < n < 1$, the drug release follows non-Fickian diffusion and the drug release rate is time-dependent also but other factors such as polymer solute transport can occur. Case-II type diffusion occurs when $n = 1$, which indicates that the release rate is time-independent. Finally, super-case II transport occurs when “ n ” is greater than 1.0; in that case, the release rate is time-dependent t^{n-1} .^{58,60,61}

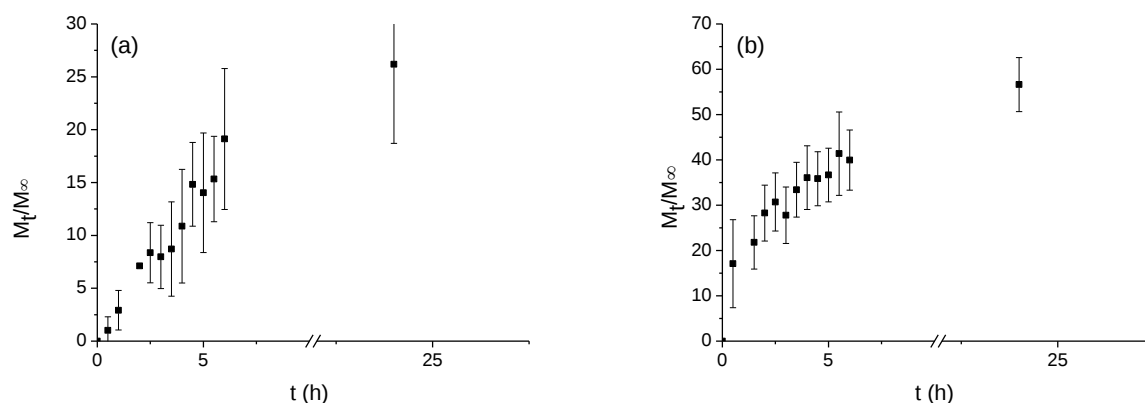


Figure 132: Profiles of diffusion of AE-TA (10) (a) and AE-C (20) (b) in PBS buffer at 37°C.

The release exponents were found as 0.38 and 1.70 for carvacrol and tannic acid respectively. Only, **AE-C** followed a Fickian controlled release diffusion mechanism.

The concentrations of carvacrol and tannic acid released after 6h have been evaluated around 0.01 g/L and 0.03 g/L for carvacrol and tannic acid respectively (**Figure 132**). The value determined for carvacrol is in agreement with the MIC values reported in the literature (0.002 -0.12 g/L for *E. coli* and *S. aureus*).^{16,62} *Ultee et al.* have demonstrated that the exposure to high concentration of essential oils and particularly to their components disrupt the energy availability of microbial cells.⁶³ Moreover, some studies have shown that the presence of 0.34 g/L of carvacrol led to a fast depletion of the intracellular ATP pool in *Bacillus cereus* due to the dissipation of the proton motive force and the impact on the permeability of important ions (H^+ and K^+). It has been also highlighted that the antimicrobial property of carvacrol is linked with its phenolic group, which permitted its solubilization in the destabilized cell membrane and to its role of ion exchanger.⁶⁴ *Sikkema et al.* have demonstrated that the interaction of hydrophobic molecules with the membrane inflicted the activity of membrane bound or enshrined enzymes. Finally, the inhibition of membrane bound ATPase in *E. coli* and *Listeria monocytogenes* have been proved as the dissipation of pH gradients, K and P leakage from *S. aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* after the exposure to carvacrol essential oil.⁶⁵ However, the concentration calculated for **TA** is lower than the MIC found for MRSA - Methicillin resistant *S. aureus* (0.256 g/L).⁵⁷ This result can explain the lower bacterial inhibition described in the Fig. 7 for **AE** network entrapping 10% of tannic acid.

II.7.5.4 Antioxidant activity

DPPH radical scavenging assay is widely used to evaluate the antioxidant activity of phenolic compounds.^{56,66} At 517 nm, this relaxation and swelling control radical have a maximum of absorbance. When this molecule reacts with a hydrogen donor such as antioxidant, the absorbance decreases³⁵ and a colour change of the solution from purple to yellow can be observed. As shown in **Figure 133**, an increase of the activity from 25% to 90% for the **AE** and **AE-C**, **AE-TA** respectively was observed. If the **AE-C** networks are previously immersed in methanol for 30 min, a very low decrease of their antioxidant activity can be noticed. Nonetheless, after extraction in ethyl acetate the antioxidant activity of the **AE-C** network strongly decreased that was consistent with the complete extraction of carvacrol. After 1 and 2 months at 22°C, the **AE-C** antioxidant activity decreases from 87% to 77% and 68% respectively but still remains high. It can be explained by the diffusion of carvacrol, which is

volatile and not linked to the network. In the opposite, the antioxidant activity of **AE-TA** network is not influenced by the extraction. This result confirms the presence of **TA** in the network since tannic acid is partly entrapped in the networks providing a long time antioxidant activity.

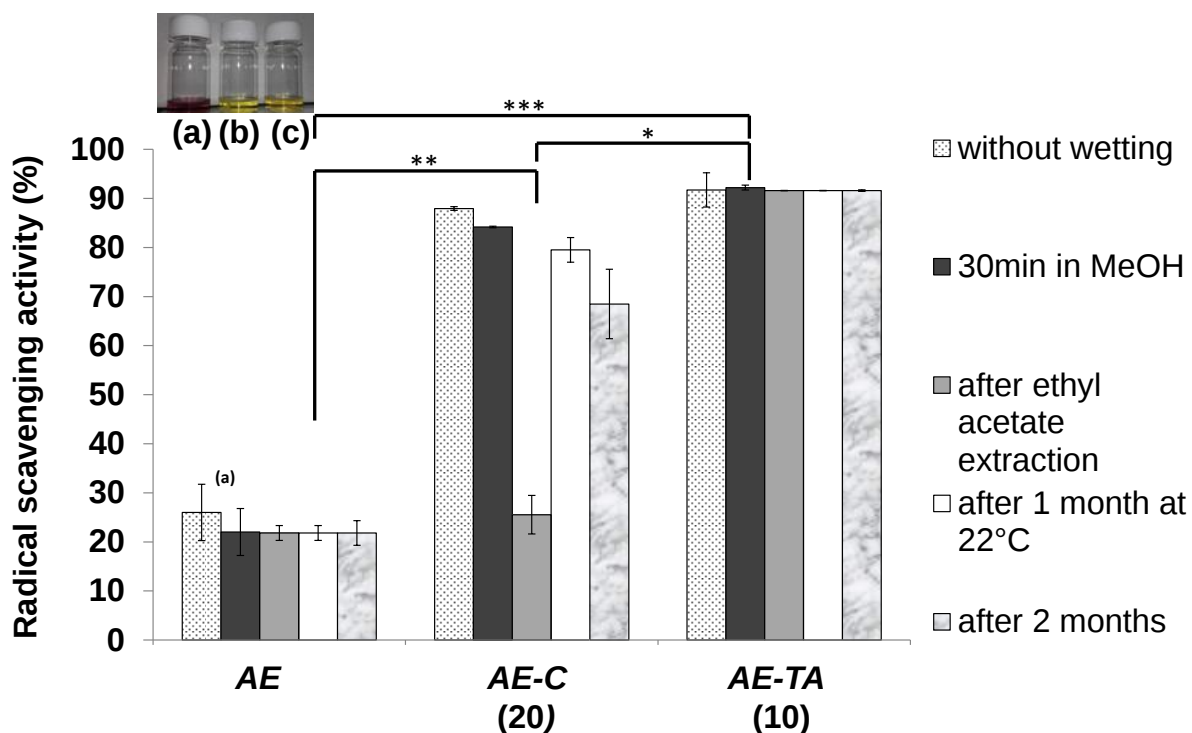


Figure 133: Antioxidant activity of the AE, AE-C (20) and AE-TA (10) networks (from 0 to 2 months).

II.7.6 Conclusion

Photoinduced thiol-ene addition was used to design soft networks by a green chemistry process. The embedding of phenolic compounds in the cross-linked material is an attractive approach to improve the antibacterial activity against Gram-positive and Gram-negative strains. The antibacterial properties and the bacterial growth inhibition of **AE-C** and **AE-TA** networks were particularly significant since only 20 wt% of carvacrol leads to a complete inhibition of *E. coli* and 98% of *S. aureus* whereas only 10 wt% of tannic acid induces 78% of the *E. coli* inhibition and a complete inhibition of *S. aureus*. Moreover, the inhibition property of carvacrol is exacerbated in solution since a complete inhibition was achieved whatever the strain. These results indicate that the presence of free phenolic groups is essential for antimicrobial activity. Furthermore, the presence of carvacrol or tannic acid leads to promising antioxidant properties. Indeed, the **AE-C** and **AE-TA** networks exhibited a free radical scavenging of 88% and 92% respectively. Both systems presented in this work offer the advantage of being complementary. On the one hand, the incorporation of a small molecule (carvacrol) leads to a controlled release system. On the other hand, the oxidative coupling of the tannic acid, allows the immobilization of many phenolic functions within the network to impart durable antibacterial and antioxidant activities (over 2 months). The present approach opens very interesting opportunities for the development of sustained antibacterial phenolic delivery systems for packaging applications.

II.7.7 Conclusion du sous-chapitre

Dans cette partie, deux types de charge de nature différente ont été introduits dans les réseaux à base d'eugénol modifié afin d'étudier leur influence à la fois sur les propriétés thermo-mécaniques mais aussi biologiques des matériaux.

Comme dans l'étude précédente, l'introduction de ces charges (même en quantités plus élevées) non liées aux réseaux entraîne un effet sur les propriétés thermo-mécaniques. En effet, on constate une augmentation de la flexibilité des réseaux dans le cas du carvacrol caractérisée par une diminution de la T_v et une diminution du module d'Young ; ce qui n'est absolument pas le cas avec l'acide tannique. En revanche, l'introduction de ces deux composés aux propriétés antibactériennes particulièrement efficaces entraîne une inhibition complète de la croissance bactérienne à partir d'une proportion de 20% massique en carvacrol pour la souche *E. coli* et de 10% massique en acide tannique pour la souche *S. aureus*. De plus, dans les deux cas, les matériaux obtenus ont démontré une excellente activité antioxydante (88% des radicaux piégés pour les réseaux hybrides contenant 20% de carvacrol et 92% pour ceux contenant 10% d'acide tannique) en raison de la présence de la fonction phénol. Il a également été démontré que cette activité était durable puisqu'après 2 mois l'activité reste intacte dans le cas de l'acide tannique et toujours efficace (70%) dans le cas du carvacrol.

Cette étude a également permis de démontrer le piégeage physique de l'acide tannique sous la forme d'oligomères par couplage radicalaire induit par photoirradiation. En effet, la caractérisation de ces réseaux par TGA, MEB ou bien le taux d'extractibles et l'activité antioxydante sont en accord avec la formation de macromères piégés physiquement dans le réseau.

Références

- (1) Mass efficiency as metric for the effectiveness of catalysts. *Green Chem.* **2003**, 5 (2), G25–G27.
- (2) Walsh, P. J.; Li, H.; de Parrodi, C. A. A Green Chemistry Approach to Asymmetric Catalysis: Solvent-Free and Highly Concentrated Reactions. *Chem. Rev.* **2007**, 107 (6), 2503–2545.
- (3) Neda, M.; Okinaga, K.; Shibata, M. High-performance bio-based thermosetting resins based on bismaleimide and allyl-etherified eugenol derivatives. *Mater. Chem. Phys.* **2014**, 148 (1–2), 319–327.
- (4) Yoshimura, T.; Shimasaki, T.; Teramoto, N.; Shibata, M. Bio-based polymer networks by thiol–ene photopolymerizations of allyl-etherified eugenol derivatives. *Eur. Polym. J.* **2015**, 67, 397–408.
- (5) Claudino, M.; Mathevet, J.-M.; Jonsson, M.; Johansson, M. Bringing D -limonene to the scene of bio-based thermoset coatings via free-radical thiol–ene chemistry: macromonomer synthesis, UV-curing and thermo-mechanical characterization. *Polym Chem* **2014**, 5 (9), 3245–3260.
- (6) Yang, G.; Kristufek, S. L.; Link, L. A.; Wooley, K. L.; Robertson, M. L. Synthesis and Physical Properties of Thiol–Ene Networks Utilizing Plant-Derived Phenolic Acids. *Macromolecules* **2015**, 48 (23), 8418–8427.
- (7) Modjinou, T.; Versace, D.-L.; Abbad-Andallousi, S.; Bousserhine, N.; Dubot, P.; Langlois, V.; Renard, E. Antibacterial and antioxidant bio-based networks derived from eugenol using photo-activated thiol-ene reaction. *React. Funct. Polym.* **2016**, 101, 47–53.
- (8) Park, E.-S.; Moon, W.-S.; Song, M.-J.; Kim, M.-N.; Chung, K.-H.; Yoon, J.-S. Antimicrobial activity of phenol and benzoic acid derivatives. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2001**, 47 (4), 209–214.
- (9) Muñoz-Bonilla, A.; Fernández-García, M. Polymeric materials with antimicrobial activity. *Prog. Polym. Sci.* **2012**, 37 (2), 281–339.
- (10) Russel, Allan Denver; Chopra, I. Understanding Antibacterial Action and Resistance (Ellis Horwood series in pharmaceutical technology) by Russell, Allan Denver, Chopra, I.: Ellis Horwood Ltd 9780139469305 - Phatpocket Limited <http://www.abebooks.com/servlet/BookDetailsPL?bi=19519172945&searchurl=tn%3DUnderstanding%2Bantibacterial%2Baction%2Band%2Bresistance%26sortby%3D17> (accessed Oct 3, 2016).
- (11) Babili, F. E.; Bouajila, J.; Souchard, J. P.; Bertrand, C.; Bellvert, F.; Fouraste, I.; Moulis, C.; Valentin, A. Oregano: Chemical Analysis and Evaluation of Its Antimalarial, Antioxidant, and Cytotoxic Activities. *J. Food Sci.* **2011**, 76 (3), C512–C518.
- (12) Arunasree, K. M. Anti-proliferative effects of carvacrol on a human metastatic breast cancer cell line, MDA-MB 231. *Phytomedicine* **2010**, 17 (8–9), 581–588.
- (13) Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients, Sixth Edition <https://www.crcpress.com/Fenarolis-Handbook-of-Flavor-Ingredients-Sixth-Edition/Burdock/p/book/9781420090772> (accessed Dec 19, 2016).
- (14) Ultee, A.; Smid, E. J. Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. *Int. J. Food Microbiol.* **2001**, 64 (3), 373–378.
- (15) Ben Arfa, A.; Combes, S.; Preziosi-Belloy, L.; Gontard, N.; Chalier, P. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. *Lett. Appl. Microbiol.* **2006**, 43 (2), 149–154.

- (16) Mascheroni, E.; Guillard, V.; Gastaldi, E.; Gontard, N.; Chalier, P. Anti-microbial effectiveness of relative humidity-controlled carvacrol release from wheat gluten/montmorillonite coated papers. *Food Control* **2011**, *22* (10), 1582–1591.
- (17) Guarda, A.; Rubilar, J. F.; Miltz, J.; Galotto, M. J. The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol. *Int. J. Food Microbiol.* **2011**, *146* (2), 144–150.
- (18) Keawchaoon, L.; Yoksan, R. Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chitosan nanoparticles. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **2011**, *84* (1), 163–171.
- (19) López, P.; Sánchez, C.; Batlle, R.; Nerín, C. Vapor-Phase Activities of Cinnamon, Thyme, and Oregano Essential Oils and Key Constituents against Foodborne Microorganisms. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55* (11), 4348–4356.
- (20) Fernández-Pan, I.; Maté, J. I.; Gardrat, C.; Coma, V. Effect of chitosan molecular weight on the antimicrobial activity and release rate of carvacrol-enriched films. *Food Hydrocoll.* **2015**, *51*, 60–68.
- (21) Shemesh, R.; Krepker, M.; Natan, M.; Danin-Poleg, Y.; Banin, E.; Kashi, Y.; Nitzan, N.; Vaxman, A.; Segal, E. Novel LDPE/halloysite nanotube films with sustained carvacrol release for broad-spectrum antimicrobial activity. *RSC Adv.* **2015**, *5* (106), 87108–87117.
- (22) Kurek, M.; Descours, E.; Galic, K.; Voilley, A.; Debeaufort, F. How composition and process parameters affect volatile active compounds in biopolymer films. *Carbohydr. Polym.* **2012**, *88* (2), 646–656.
- (23) Pan, L.; Wang, H.; Wu, C.; Liao, C.; Li, L. Tannic-Acid-Coated Polypropylene Membrane as a Separator for Lithium-Ion Batteries. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2015**, *7* (29), 16003–16010.
- (24) Cao, N.; Fu, Y.; He, J. Mechanical properties of gelatin films cross-linked, respectively, by ferulic acid and tannin acid. *Food Hydrocoll.* **2007**, *21* (4), 575–584.
- (25) Henson, G. L.; Niemeyer, L.; Ansong, G.; Forkner, R.; Makkar, H. P. S.; Hagerman, A. E. A modified method for determining protein binding capacity of plant polyphenolics using radiolabelled protein. *Phytochem. Anal.* **2004**, *15* (3), 159–163.
- (26) Liu, R.; Zheng, J.; Guo, R.; Luo, J.; Yuan, Y.; Liu, X. Synthesis of New Biobased Antibacterial Methacrylates Derived from Tannic Acid and Their Application in UV-Cured Coatings. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2014**, *53* (27), 10835–10840.
- (27) Pranantyo, D.; Xu, L. Q.; Neoh, K.-G.; Kang, E.-T.; Ng, Y. X.; Teo, S. L.-M. Tea Stains-Inspired Initiator Primer for Surface Grafting of Antifouling and Antimicrobial Polymer Brush Coatings. *Biomacromolecules* **2015**, *16* (3), 723–732.
- (28) Narayanan, G.; Gupta, B. S.; Tonelli, A. E. Enhanced mechanical properties of poly (ϵ -caprolactone) nanofibers produced by the addition of non-stoichiometric inclusion complexes of poly (ϵ -caprolactone) and α -cyclodextrin. *Polymer* **2015**, *76*, 321–330.
- (29) Shibata, M.; Nakai, K. Preparation and properties of biocomposites composed of bio-based epoxy resin, tannic acid, and microfibrillated cellulose. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **2010**, *48* (4), 425–433.
- (30) Shutava, T.; Prouty, M.; Kommireddy, D.; Lvov, Y. pH Responsive Decomposable Layer-by-Layer Nanofilms and Capsules on the Basis of Tannic Acid. *Macromolecules* **2005**, *38* (7), 2850–2858.
- (31) Campos, L. M.; Killips, K. L.; Sakai, R.; Paulusse, J. M. J.; Damiron, D.; Drockenmuller, E.; Messmore, B. W.; Hawker, C. J. Development of Thermal and Photochemical Strategies for Thiol–Ene Click Polymer Functionalization. *Macromolecules* **2008**, *41* (19), 7063–7070.
- (32) Phosphate-buffered saline (PBS). *Cold Spring Harb. Protoc.* **2006**, *2006* (1), pdb.rec8247.

- (33) Stanzione, J. F.; Giangiulio, P. A.; Sadler, J. M.; La Scala, J. J.; Wool, R. P. Lignin-Based Bio-Oil Mimic as Biobased Resin for Composite Applications. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2013**, *1* (4), 419–426.
- (34) Wu, J.; Liu, H.; Ge, S.; Wang, S.; Qin, Z.; Chen, L.; Zheng, Q.; Liu, Q.; Zhang, Q. The preparation, characterization, antimicrobial stability and in vitro release evaluation of fish gelatin films incorporated with cinnamon essential oil nanoliposomes. *Food Hydrocoll.* **2015**, *43*, 427–435.
- (35) van Amsterdam, F. T.; Roveri, A.; Maiorino, M.; Ratti, E.; Ursini, F. Lacidipine: a dihydropyridine calcium antagonist with antioxidant activity. *Free Radic. Biol. Med.* **1992**, *12* (3), 183–187.
- (36) Bondet, V.; Brand-Williams, W.; Berset, C. Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH.Free Radical Method. *LWT - Food Sci. Technol.* **1997**, *30* (6), 609–615.
- (37) Srivastava, N.; Srivastava, A.; Srivastava, S.; Rawat, A. K. S.; Khan, A. R. HPTLC-densitometric determination and kinetic studies on antioxidant potential of monomeric phenolic acids (MPAs) from *Bergenia* species. *RSC Adv.* **2014**, *4* (95), 52647–52657.
- (38) Chrostowski, P. C.; Dietrich, A. M.; Suffet, I. H. Ozone and oxygen induced oxidative coupling of aqueous phenolics. *Water Res.* **1983**, *17* (11), 1627–1633.
- (39) Carlsson, I.; Harden, A.; Lundmark, S.; Manea, A.; Rehnberg, N.; Svensson, L. Allyl Ethers in the Thiol-ene Reaction. In *Photoinitiated Polymerization*; AB, P. S. C., Ed.; ACS Symposium Series, 2003; Vol. 847, pp 65–75.
- (40) Claudino, M.; Mathevet, J.-M.; Jonsson, M.; Johansson, M. Bringing D-limonene to the scene of bio-based thermoset coating via free-radical thiol-ene chemistry: macromonomer synthesis, UV-curing and thermo-mechanical characterization. *Polym. Chem.* **2014**, *5* (9), 3245–3260.
- (41) Sangermano, M.; Colucci, G.; Fragale, M.; Rizza, G. Hybrid organic–inorganic coatings based on thiol-ene systems. *React. Funct. Polym.* **2009**, *69* (9), 719–723.
- (42) Downarowicz, D. Adsorption characteristics of propan-2-ol vapours on activated carbon Sorbonorit 4 in electrothermal temperature swing adsorption process. *Adsorption* **2015**, *21* (1–2), 87–98.
- (43) Reiche, S.; Blume, R.; Zhao, X. C.; Su, D.; Kunkes, E.; Behrens, M.; Schlögl, R. Reactivity of mesoporous carbon against water – An in-situ XPS study. *Carbon* **2014**, *77*, 175–183.
- (44) Yu, B.; Wang, X.; Xing, W.; Yang, H.; Wang, X.; Song, L.; Hu, Y.; Lo, S. Enhanced thermal and mechanical properties of functionalized graphene/thiol-ene systems by photopolymerization technology. *Chem. Eng. J.* **2013**, *228*, 318–326.
- (45) Zhu, C.; Guo, S.; Fang, Y.; Dong, S. Reducing Sugar: New Functional Molecules for the Green Synthesis of Graphene Nanosheets. *ACS Nano* **2010**, *4* (4), 2429–2437.
- (46) Giesbers, M.; Marcelis, A. T. M.; Zuilhof, H. Simulation of XPS C1s Spectra of Organic Monolayers by Quantum Chemical Methods. *Langmuir* **2013**, *29* (15), 4782–4788.
- (47) Vesel, A.; Mozetic, M. Surface functionalization of organic materials by weakly ionized highly dissociated oxygen plasma. *J. Phys. Conf. Ser.* **2009**, *162* (1), 12015.
- (48) Park, J.; Eslick, J.; Ye, Q.; Misra, A.; Spencer, P. The influence of chemical structure on the properties in methacrylate-based dentin adhesives. *Dent. Mater.* **2011**, *27* (11), 1086–1093.
- (49) Stanzione, J. F.; Giangiulio, P. A.; Sadler, J. M.; La Scala, J. J.; Wool, R. P. Lignin-Based Bio-Oil Mimic as Biobased Resin for Composite Applications. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2013**, *1* (4), 419–426.

- (50) Jirovetz, L.; Buchbauer, G.; Stoilova, I.; Stoyanova, A.; Krastanov, A.; Schmidt, E. Chemical Composition and Antioxidant Properties of Clove Leaf Essential Oil. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54* (17), 6303–6307.
- (51) Akiyama, H.; Fujii, K.; Yamasaki, O.; Oono, T.; Iwatsuki, K. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *J. Antimicrob. Chemother.* **2001**, *48* (4), 487–491.
- (52) Funatogawa, K.; Hayashi, S.; Shimomura, H.; Yoshida, T.; Hatano, T.; Ito, H.; Hirai, Y. Antibacterial Activity of Hydrolyzable Tannins Derived from Medicinal Plants against *Helicobacter pylori*. *Microbiol. Immunol.* **2004**, *48* (4), 251–261.
- (53) Pyla, R.; Kim, T.-J.; Silva, J. L.; Jung, Y.-S. Enhanced antimicrobial activity of starch-based film impregnated with thermally processed tannic acid, a strong antioxidant. *Int. J. Food Microbiol.* **2010**, *137* (2–3), 154–160.
- (54) Yoda, Y.; Hu, Z.-Q.; Shimamura, T.; Zhao, W.-H. Different susceptibilities of *Staphylococcus* and Gram-negative rods to epigallocatechin gallate. *J. Infect. Chemother.* **2004**, *10* (1), 55–58.
- (55) Perelshtein, I.; Ruderman, E.; Francesko, A.; Fernandes, M. M.; Tzanov, T.; Gedanken, A. Tannic acid NPs – Synthesis and immobilization onto a solid surface in a one-step process and their antibacterial and anti-inflammatory properties. *Ultrason. Sonochem.* **2014**, *21* (6), 1916–1920.
- (56) Sureshkumar, M.; Lee, P.-N.; Lee, C.-K. Facile preparation of a robust and flexible antioxidant film based on self-polymerized dopamine in a microporous battery separator. *RSC Adv.* **2012**, *2* (12), 5127–5129.
- (57) Kyaw, B. M.; arora, S.; Lim, C. S. Bactericidal antibiotic-phytochemical combinations against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Braz. J. Microbiol.* **2012**, *43* (3), 938–945.
- (58) Mullarney, M. P.; Seery, T. A. P.; Weiss, R. A. Drug diffusion in hydrophobically modified N,N-dimethylacrylamide hydrogels. *Polymer* **2006**, *47* (11), 3845–3855.
- (59) Çalgeris, İ.; Çakmakçı, E.; Ogan, A.; Kahraman, M. V.; Kayaman-Apohan, N. Preparation and drug release properties of lignin–starch biodegradable films. *Starch - Stärke* **2012**, *64* (5), 399–407.
- (60) Liu, C.; Gan, X.; Chen, Y. A novel pH-sensitive hydrogels for potential colon-specific drug delivery: Characterization and in vitro release studies. *Starch - Stärke* **2011**, *63* (8), 503–511.
- (61) Korsmeyer, R. W.; Gurny, R.; Doelker, E.; Buri, P.; Peppas, N. A. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *Int. J. Pharm.* **1983**, *15* (1), 25–35.
- (62) Soković, M.; Glamočlija, J.; Marin, P. D.; Brkić, D.; van Griensven, L. J. L. D. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *Mol. Basel Switz.* **2010**, *15* (11), 7532–7546.
- (63) Ultee, A.; Kets, E. P. W.; Smid, E. J. Mechanisms of Action of Carvacrol on the Food-Borne Pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* **1999**, *65* (10), 4606–4610.
- (64) Picone, G.; Laghi, L.; Gardini, F.; Lanciotti, R.; Siroli, L.; Capozzi, F. Evaluation of the effect of carvacrol on the *Escherichia coli* 555 metabolome by using ¹H-NMR spectroscopy. *Food Chem.* **2013**, *141* (4), 4367–4374.
- (65) Gill, A. O.; Holley, R. A. Inhibition of membrane bound ATPases of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* by plant oil aromatics. *Int. J. Food Microbiol.* **2006**, *111* (2), 170–174.
- (66) Engman, L.; Persson, J.; Vessman, K.; Ekström, M.; Berglund, M.; Andersson, C.-M. Organotellurium compounds as efficient retarders of lipid peroxidation in methanol. *Free Radic. Biol. Med.* **1995**, *19* (4), 441–452.

II.8 Co-réseaux PHBHV-linalol

II.8.1 Introduction

Les différents réseaux synthétisés par réaction thiol-ène à base de terpènes ou de composés phénoliques décrits dans les parties précédentes ont démontré des propriétés antibactériennes et antioxydantes prometteuses. Cependant, les performances mécaniques restent voisines et principalement contrôlées par la souplesse des liaisons thioether particulièrement flexibles.

Nous avons donc cherché à élargir cette gamme de matériaux en introduisant au sein de ces réseaux un polyester semi-cristallin qui devrait permettre d'accéder à un éventail de propriétés thermo-mécaniques plus large tout en gardant comme objectif principal la synthèse de matériaux antibactériens.

Notre choix s'est donc porté sur le poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalérate) (PHBHV), polymère semi-cristallin d'origine bactérienne. Il a été démontré dans le chapitre I combien les polyesters aliphatiques (PHAs) pouvaient s'avérer intéressants du fait de leur origine biosourcée, de leurs propriétés physiques modulables mais aussi de leur biocompatibilité. De plus, leur biodégradabilité pourrait également être un caractère particulièrement intéressant pour nos matériaux si l'on vise des applications de type emballage alimentaire par exemple. Le PHBHV étant relativement rigide, nous avons dans un premier temps choisi de l'associer au linalol.

La dernière partie de ce chapitre II sera donc consacrée à l'élaboration de co-réseaux à base de PHBHV difonctionnalisés par une réaction de transestérification à partir de l'éthylène glycol (voie 1) ou de l'alcool allylique (voie 2), suivi d'une réaction SN_2 de type Williamson à l'aide de l'allyle isocyanate. Le PHBHV associé au trithiol et au linalol ont conduit à la synthèse de matériaux (**Figure 134**).

Les premiers résultats de cette étude seront présentés dans cette dernière partie.

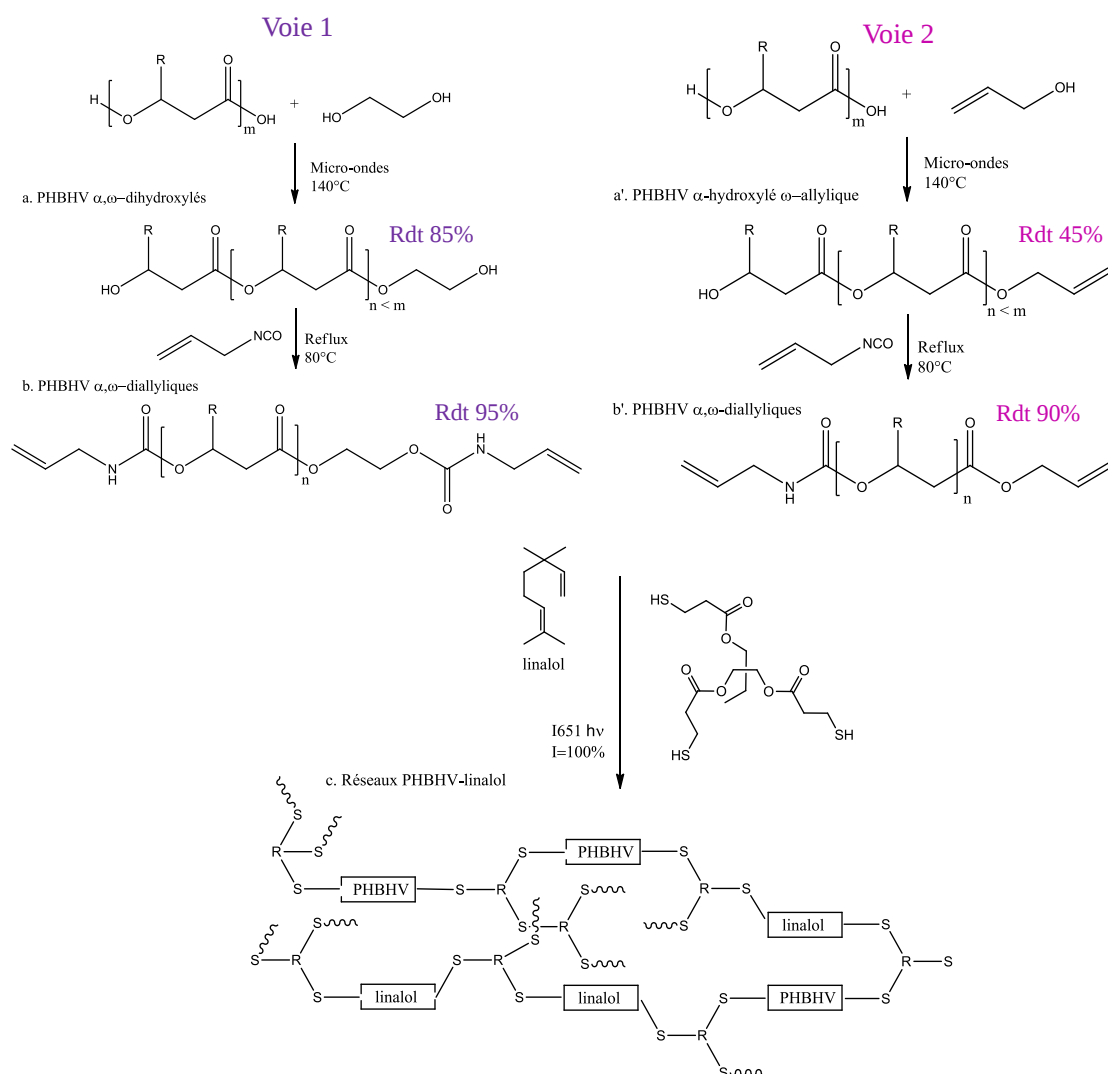


Figure 134: Stratégie de synthèse des réseaux PHBHV-linalol

II.8.2 Synthèse des oligomères de PHBHV α,ω ou γ -diallyliques

La réalisation de co-réseaux PHAs-terpènes nécessite la synthèse d'oligomères fonctionnalisés par des doubles liaisons carbone-carbone. Celle-ci est une transposition d'un travail précédent¹ portant sur la réaction de transestérification sous irradiation micro-ondes en remplacement du chauffage conventionnel. L'irradiation par micro-ondes est un procédé de chauffage très efficace et plus homogène que le chauffage conventionnel². De plus, l'utilisation du chauffage par micro-ondes permet d'atteindre des temps de réaction très courts puisque la synthèse d'oligomères de PHAs allyliques de 1000 g.mol^{-1} est effectuée en 60 min contre 24 h dans le cas d'un chauffage conventionnel¹. La réaction de transestérification présente l'avantage majeur de conduire à des oligomères parfaitement définis avec différentes fonctionnalités selon l'alcool utilisé.

Deux voies ont été envisagées pour la synthèse de ces oligomères (**Figure 134**). Une première voie conduit à un oligomère de PHBHV diol (PHBHV α,ω dihydroxylés) possédant un alcool secondaire d'une part et un alcool primaire, par une réaction de transestérification par l'éthylène glycol en présence de dibutildilaurate d'étain (DBTL) utilisé en quantité catalytique (**Figure 135**) et une deuxième voie conduisant à un PHBHV α -hydroxylé, ω -allylique comportant un groupement terminal insaturé d'un côté et un alcool secondaire de l'autre en utilisant l'alcool allylique (**Figure 136**). Une analyse RMN ^1H a permis de confirmer la structure des produits obtenus.

Le calcul du rapport $I_{3,3'}/I_B$ permet de calculer le nombre d'unité de répétition et donc de déterminer la masse molaire en nombre des oligomères de PHBHV.

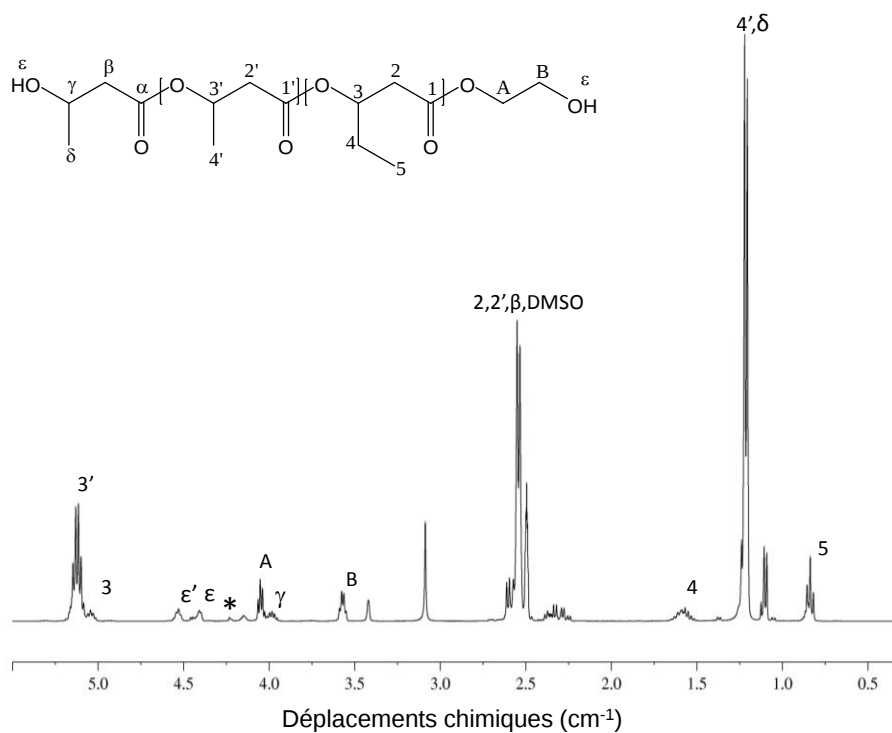


Figure 135: Spectre RMN ^1H des oligomères de PHBV α,ω -dihydroxylés obtenus par la voie 1 (400MHz, DMSO 70°C) (*Macromolécules vol 35, N°3, 2003 andrade et al.).

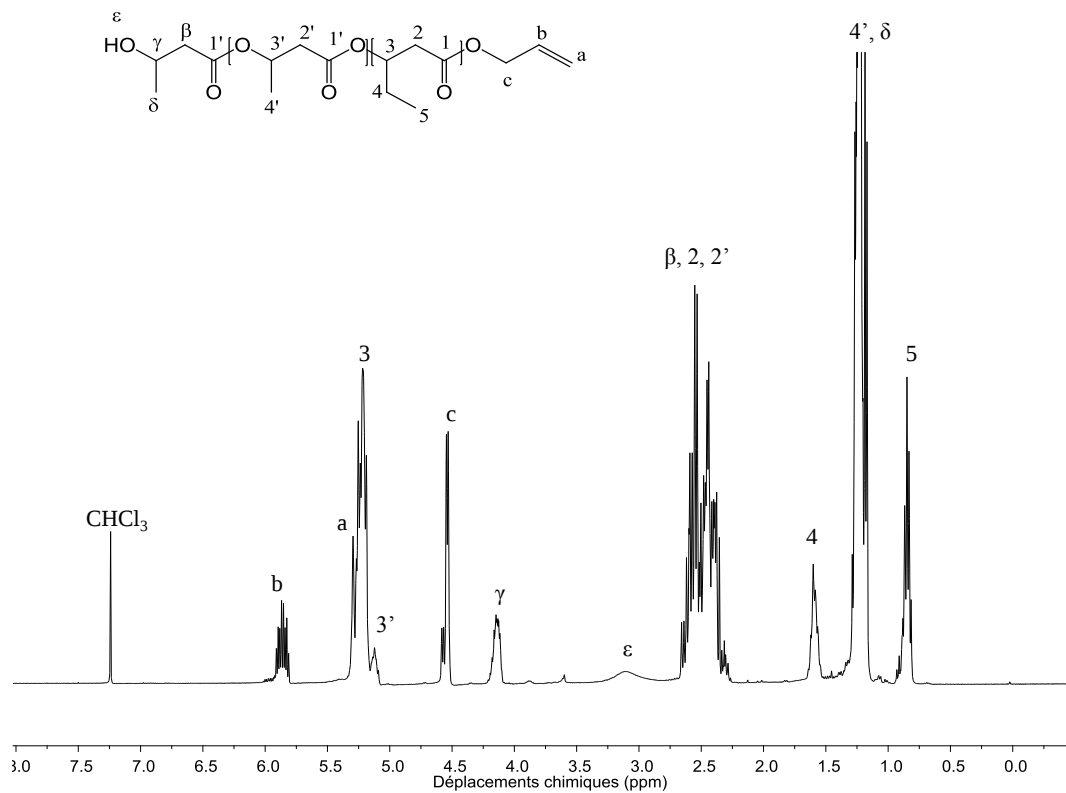


Figure 136: Spectre RMN ^1H des oligomères de PHBV α -hydroxylé, ω -allylique obtenus par la voie 2 (400MHz, DMSO 70°C).

Les oligomères de PHBHV α,ω diallyliques (voie 1) obtenus par une réaction de Williamson^{3,4} se présentent sous la forme d'une poudre blanche et ont été caractérisés par RMN ^1H (**Figure 137** et **Figure 138**). L'apparition des signaux a, a' et b à 5,17 ppm et 5,45 ppm respectivement caractéristiques des protons allyliques permet de confirmer la structure des oligomères de PHBHV α,ω -diallyliques. De même, dans les cas des oligomères de PHBHV α,ω -diallyliques obtenus par la voie 2, l'apparition des signaux c', a' et b' à 4,85 ppm, 5,15 ppm et 5,85 ppm respectivement caractéristiques des protons allyliques confirment la structure de l'oligomère synthétisé.

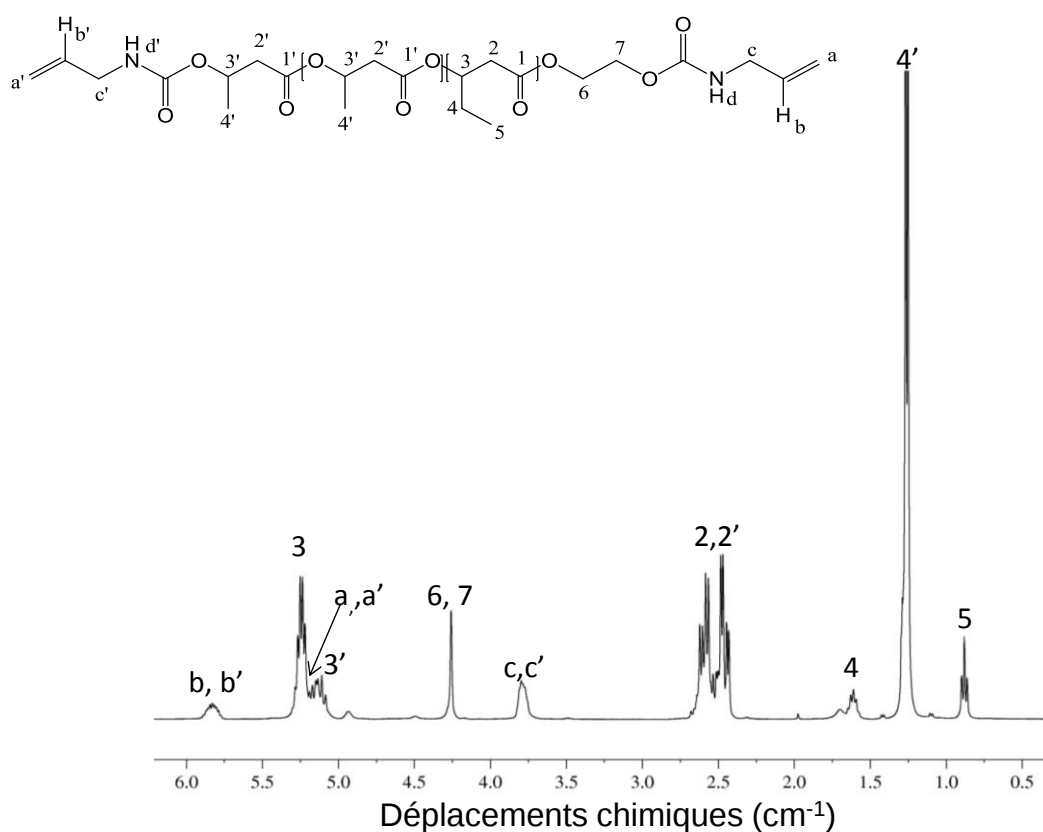


Figure 137: Spectre RMN ^1H des oligomères de PHBHV α,ω -diallyliques obtenus par la voie 1 (400MHz, CDCl_3).

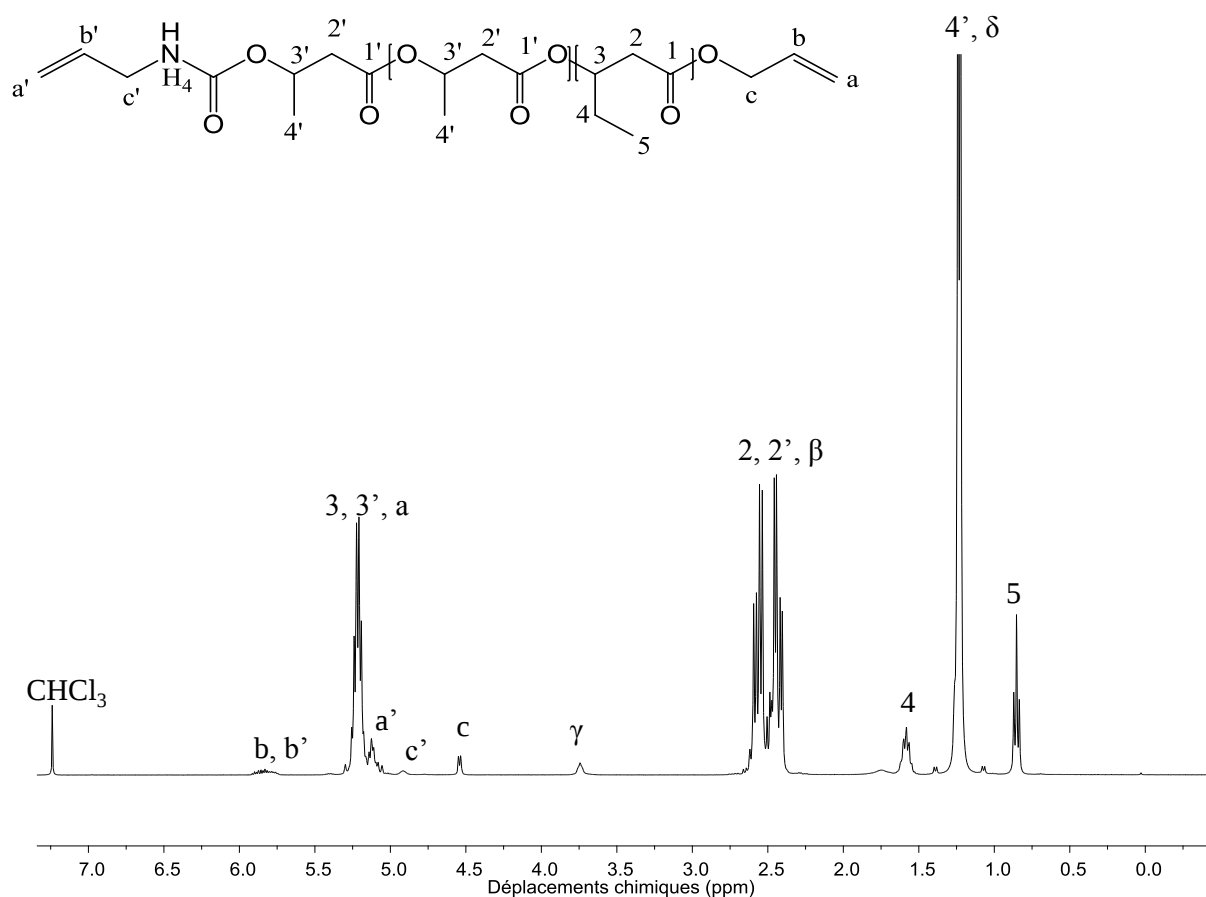


Figure 138: Spectre RMN ^1H des oligomères de PHBHV α,ω -diallyliques obtenus par la voie 2 (400MHz, CDCl_3).

Nous avons cherché à préparer des oligomères de PHBHV de masse molaire voisine de 1000 g.mol^{-1} puisqu'une faible masse molaire permet de conserver la réactivité des fonctions terminales.

La variation de la quantité d'alcool allylique introduite ou bien du temps de réaction permettent de contrôler parfaitement la longueur de chaîne des oligomères. Toute une série d'expériences a été effectuée lors de la première étape de synthèse (oligomères dihydroxylés) suivant les 2 voies possibles afin de diminuer la taille des oligomères (**Tableau 10**).

Tableau 10: Variation de M_n des oligomères en fonction du temps de réaction ou de la quantité d'alcool introduite par irradiation MO (voie 1)

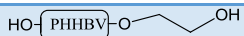
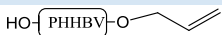
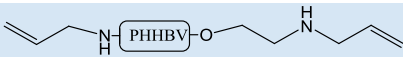
Voie de synthèse	$n_{\text{PHBV}}/n_{\text{OH}}$	$n_{\text{OH}}/n_{\text{DBTL}}$	$M_n^a)$ (g.mol^{-1})	Temps de réaction (min)	Rendement (%)
1	$2,09.10^{-3}$	2,55	7420	30	96
	$1,05.10^{-3}$	5,09	1106	60	80
2	$1,51.10^{-4}$	35,17	110	50	10
	$1,51.10^{-4}$	35,17	503	10	50
	$6,04.10^{-4}$	35,14	2300	10	65
	$1,20.10^{-3}$	35,20	5500	10	90
	$6,04.10^{-4}$	35,14	8462	5	90
	$6,04.10^{-4}$	35,14	3200	7	80
	$3,02.10^{-4}$	17,59	1108	10	40

^{a)}Déterminée par RMN ^1H , influence du temps avec $n_{\text{PHBV}}/n_{\text{OH}} = 1,51.10^{-4}$; influence de $n_{\text{PHBV}}/n_{\text{OH}}$, influence du temps avec $n_{\text{PHBV}}/n_{\text{OH}} = 6,04.10^{-4}$, influence de n_{OH} .

L'augmentation du temps de réaction par irradiation micro-ondes permet de diminuer la taille des oligomères (lignes 1 et 2 du **Tableau 10**). Une réduction de la masse molaire allant jusqu'à 110 g.mol^{-1} peut être atteinte mais le rendement étant relativement faible, la M_n optimale sélectionnée pour la suite des expériences a été fixée à 1000 g.mol^{-1} .

Le **Tableau 11** rassemble les données de la caractérisation par SEC, DSC et ATG des oligomères de 1000 g.mol^{-1} obtenus en suivant les voies 1 ou 2.

Tableau 11: Caractérisation des oligomères de PHBHV

oligomères	Rendement (%)	Mn ^a (g/mol)	Mn ^b (g/mol)	Ip ^b	T _f ^c (°C)	T _v ^c (°C)	T _{5%} ^d (°C)
	80	996	1748	1,6	119	-26,6	255
	40	1108	2266	1,4	122	-15,5	260
	95	1223	2067	1,5	121	-5,5	243
	90	550	1200	1,4	122	-12,5	250

^a) Déterminée par RMN¹H, ^b) Déterminée par SEC dans le chloroforme en équivalent PS, ^c) Déterminée par DSC, ^d) Déterminée par TGA.

L'étape 1 (synthèse des oligomères hydroxylés) est l'étape limitante de la synthèse en 2 étapes quelle que soit la voie choisie. D'après le **Tableau 11**, lors de la deuxième étape (synthèse des oligomères diallyliques), on constate une diminution de Mn des oligomères obtenus par la voie 2 après la réaction d'allylation ce qui suggère qu'une coupure s'effectue pendant la réaction avec l'isocyanate allylique. Ainsi, même si la voie 2 permet un gain de temps (10 min au lieu de 60 min), la voie 1 a été retenue puisqu'elle permet d'obtenir des rendements supérieurs et ce sans modification de la masse molaire lors de la réaction avec l'isocyanate .

II.8.3 Synthèse et caractérisation des co-réseaux à base de PHBHV- linalol

Différents co-réseaux à base de PHBHV α,ω -diallyliques ont été synthétisés en faisant varier les quantités de linalol incorporées dans la formulation de 0 à 100% massique par rapport aux oligomères de PHBHV. Le trithiol utilisé comme agent de réticulation a permis l'obtention de matériaux plus ou moins manipulables en présence du photoamorceur DMPA (5% g/g). Comme attendu, l'augmentation du pourcentage massique d'oligomères de PHBHV dans la formulation permet une augmentation des performances mécaniques. En effet, l'ajout de ce polymère très cristallin permet une augmentation de la tenue des films (**Figure 139**).



Figure 139: Photographie des co-réseaux 70-30 PHBHV-linalol.

Les co-réseaux à base de PHBHV α,ω -diallyliques et de linalol ont été caractérisés par mesure d'angle de contact, IR, DSC et TGA. Les résultats sont rassemblés dans le **Tableau 12**.

Tableau 12: Caractérisation des co-réseaux PHBHV-linalol

PHBHV-Linalol (% g/g)	T_f^{a)} (°C)	T_v^{a)} (°C)	T_{5%}^{b)} (°C)	T_s^{b)} (°C)	Θ^{c)} (°)	Extractibles^{d)} (%)	Conversion^{e)} (%)
PHBHV-Linalol (100-0)	-	-30	184	101	98	3	100
PHBHV-Linalol (70-30)	102	2	220	126	54	5	100

^{a)} déterminée par DSC, ^{b)} déterminée par TGA : T_{5%} : température de dégradation thermique correspondante à une perte de masse de 5% ; T_s : température statistique de résistance thermique $T_s = 0,49 \times [T_{5\%} + 0,6 \times (T_{30\%} - T_{5\%})]$, ^{c)} déterminée par mesure de l'angle de contact, ^{d)} déterminée par gravimétrie, ^{e)} déterminée par spectroscopie RAMAN.

Les surfaces étant relativement peu planes, les résultats des mesures d'angle de contact demeurent difficiles à exploiter. Néanmoins, on peut voir une légère influence de la présence des fonctions OH dans le cas des films PHBHV-linalol ce qui peut laisser penser que les fonctions OH présentes en surface ce qui est observé sur les spectres IR. Ceci pourra être confirmé par une analyse XPS.

Une extraction par l'éther diéthylique des films obtenus a été effectuée afin de déterminer le pourcentage de linalol non lié aux réseaux de façon covalente suivie d'une extraction au dichlorométhane afin d'extraire le PHBHV non lié. La détermination des extractibles a été effectuée par deux méthodes gravimétriques l'une mesurant la perte de masse des films après extraction et l'autre la masse d'extractibles après évaporation du solvant. Dans les deux cas, les résultats obtenus ont été concordants et ont confirmé les mesures du taux de conversion. En effet, le linalol possède des bandes caractéristiques des groupements alcènes pouvant être suivies en spectroscopie afin de calculer le taux de conversion de la réaction thiol-ène (**Figure 140** et **Figure 141**).

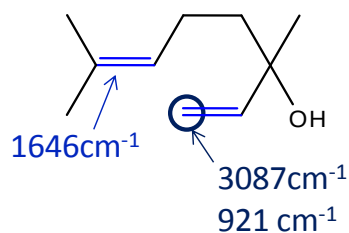


Figure 140: Bandes alcènes IR caractéristiques du linalol.

Ce taux peut être calculé en appliquant l'Équation 2 aux spectres IR des films avant et après irradiation.

Équation 2 :

$$\alpha = \left(\frac{R_0 - R_t}{R_0} \right) \times 100 \text{ Avec } R_0 = \frac{I_{C=C}}{I_{C=O}}, \text{ avant irradiation et } R_t = \frac{I_{C=C}}{I_{C=O}}, \text{ après irradiation}$$

Les résultats des taux de conversion des fonctions SH ont été rassemblés dans le **Tableau 12**.

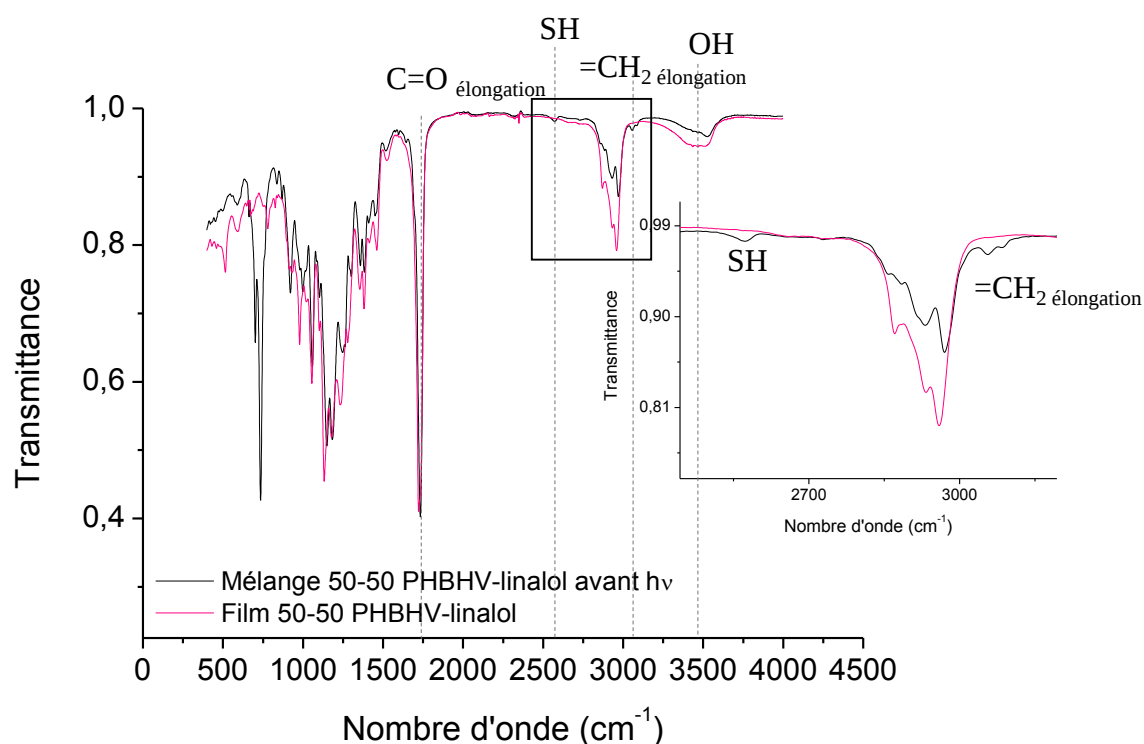


Figure 141: Spectres FTIR du mélange 50-50 PHBHV-linalol en présence de trithiol et DMPA avant irradiation (noir) et du film 50-50 PHBHV-linalol après irradiation.

Comme nous le montre la **Figure 141**, l'intensité relativement élevée de la bande carbonyle du PHBHV à 1730 cm^{-1} rend relativement difficile le calcul de la conversion des fonctions SH à 2570 cm^{-1} par infrarouge du fait de la faible intensité du signal. Ici, la disparition complète du pic nous permet de déterminer une conversion totale. Ce signal étant beaucoup moins intense en spectroscopie Raman le calcul de la conversion sera confirmé par cette méthode.

La caractérisation thermique des co-réseaux a été effectuée par analyse DSC. Les résultats obtenus ont été rassemblés dans le **Tableau 13**.

Tableau 13: Caractérisation des propriétés thermiques du PHBHV natif, des oligomères diallyliques et des réseaux PHBHV-terpènes

Composé	Composition (g/g)	T _f ^{a)} (°C)	T _v ^{a)} (°C)
PHBHV natif	-	150	4
Oligomères diallyliques	-	122	-6
PHBHV-linalol (g/g %)	100/0	93	3,5
	70/30	102	2,3
	50/50	84	-17,6
	30/70	—	-12,9
	0/100	113	-25,3

^{a)}déterminée par DSC

Comme attendu, l'augmentation de la proportion de linalol dans la formulation entraîne une diminution de la T_v. Ainsi, l'association avec le PHBHV a bien permis d'élargir la gamme des propriétés des réseaux obtenus par réaction thiol-ène.

II.8.4 Conclusion

Ces résultats préliminaires sur l'élaboration de co-réseaux PHBHV-linalol semblent particulièrement prometteurs puisque l'utilisation de PHBHV permet une nette augmentation des performances thermiques des co-réseaux obtenus (augmentation de la T_g multipliée par 4).

Faute de temps, la caractérisation complète des matériaux ainsi que l'étude de leurs propriétés antibactériennes n'ont pu être réalisées. De même, au vu des résultats des travaux précédents, il pourrait être également judicieux de voir l'effet de l'eugénol ainsi que d'autres terpènes sur les propriétés antibactériennes des réseaux à base de PHBHV.

Références

- (1) Lemechko, P.; Renard, E.; Volet, G.; Simon Colin, C.; Guezennec, J.; Langlois, V. Functionalized oligoesters from poly(3-hydroxyalkanoate)s containing reactive end group for click chemistry: application to novel copolymer synthesis with poly(2-methyl-2-oxazoline). *React. Funct. Polym.* **2012**, 72 (2), 160–167.
- (2) Lowe, A. B. Thiol-ene “click” reactions and recent applications in polymer and materials synthesis. *Polym. Chem.* **2010**, 48 (1), 17–36.
- (3) Feng, X.; East, A. J.; Hammond, W. .; Zhang, Y.; Jaffe, M. Overview of advances in sugar-based polymers. *Polym. Adv. Technol.* **2011**, 22 (1), 139–150.
- (4) Lorenzini, C.; Versace, D. L.; Gaillet, C.; Lorthioir, C.; Boileau, S.; Renard, E.; Langlois, V. Hybrid networks derived from isosorbide by means of thiol-ene photoaddition and sol-gel chemistry. *Polymer* **2014**, 55 (17), 4432–4440.

Partie expérimentale

Synthèse des oligomères de PHBHV α,ω diallyliques (voie 1)

Le PHBHV préalablement déplastifié par précipitation dans l'éther de pétrole est dissout (1 g) dans 10 mL de CHCl_3 anhydre par micro-ondes dans un tube en verre de 30 mL sous agitation selon le programme de chauffe suivant : rampe de 3 min jusqu'à 100°C suivi d'un palier de 5 min et d'un refroidissement jusqu'à 40°C . L'éthylène glycol anhydre (0,6 mL) est alors ajouté sous agitation puis le DBTL (1,24 mL). La solution est alors irradiée par micro-ondes selon le programme qui suit : une rampe de 3 min jusqu'à 140°C suivie d'un palier de 60 min puis d'un refroidissement à 40°C . Le mélange réactionnel est précipité au goutte à goutte dans 150 mL de n-pentane puis filtré sur un fritté de porosité 4. Les oligomères de PHBHV α,ω diol (1000 g.mol^{-1}) obtenus sont séchés une nuit sous vide à 60°C . Le rendement calculé est de 90%.

Le PHBHV α,ω diol (0,8 g) est alors dissout dans 8 mL de CHCl_3 anhydre, l'allylisocyanate (22 μL) et le DBTL (10 μL) sont alors ajoutés sous argon. La solution est alors portée à reflux sous agitation 4h30 puis précipitée au goutte à goutte dans 100 mL de n-pentane et filtrée sur fritté de porosité 3. Les oligomères ainsi obtenus sont séchés sous vide 1 nuit à 60°C . Un rendement de 90% est obtenu.

Synthèse des oligomères de PHBHV α, ω diallyliques (voie 2)

Le PHBHV préalablement déplastifié par précipitation dans l'éther de pétrole est dissout (1g) dans 10 mL de CHCl_3 anhydre par micro-ondes dans un tube en verre de 30 mL sous agitation selon le programme de chauffe suivant : rampe de 3 min jusqu'à 100°C suivi d'un palier de 5 min et un refroidissement jusqu'à 40°C . L'alcool allylique (0.63 mL ou 2.5 mL pour des Mn de 1000 g.mol^{-1} et 5000 g.mol^{-1} respectivement) est ajouté à la solution sous agitation suivi du DBTL (0.16 mL ou 1.24 mL pour des Mn de 1000 g.mol^{-1} et 5000 g.mol^{-1} respectivement). Le mélange réactionnel est soumis au programme suivant : une rampe de 3 min jusqu'à 140°C suivie d'un palier de 8 min puis d'un refroidissement à 40°C . Les oligomères de PHBHV α -hydroxylés sont obtenus avec un rendement de 40% et 90% pour des Mn de 1000 g.mol^{-1} et 5000 g.mol^{-1} respectivement.

Le PHBHV α -hydroxylé (0,8 g) est dissout dans 8 mL de CHCl_3 anhydre, l'allylisocyanate (11 μL) et le DBTL (5 μL) sont alors ajoutés à la solution sous argon. Le mélange est alors porté à reflux sous agitation 4h30, précipité au goutte à goutte dans 100mL de n-pentane puis filtré sur fritté de porosité 3. Les oligomères ainsi obtenus sont séchés sous vide 1 nuit à 60°C. Un rendement de 95% est obtenu.

Synthèse des réseaux à base de PHBHV α,ω diallyliques et de linalol

A titre d'exemple, la synthèse des réseaux 70-30 (g/g%) PHBHV-linalol est décrite ici. Le PHBHV α,ω diallyliques (210 mg, $1,28 \cdot 10^{-4}$ mol) est dissout dans 1mL d'une solution de DMPA (3% g/g) dans l'acétone. Le linalol (90 mg, $5,83 \cdot 10^{-4}$ mol) est ajouté suivi du trithiol (297 mg, $7,45 \cdot 10^{-4}$ mol). La quantité de trithiol incorporée est calculée telle que la stœchiométrie de fonctions soit respectée ($n_{\text{C}=\text{C}_{\text{tot}}} = n_{\text{SH}}$). Le mélange est versé dans un moule en silicone (2,5 x 4 cm). L'échantillon est placé à 11 cm du guide d'onde et irradié 10 min à une intensité maximale ($38 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$). Des réseaux légèrement jaunes et opaques sont obtenus.

Caractérisations des produits

Analyses thermogravimétrique (ATG)

Les analyses de thermogravimétrie ont été menées sur un appareil Setaram Setsys Evolution 16 en effectuant un chauffage de 20 à 800°C à $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ sous argon.

Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

Les analyses de DSC ont été effectuées sur un appareillage Perkin Elmer Diamond en suivant le programme de chauffe ci-après : une rampe de -60 à 170°C à $20^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, un refroidissement jusqu'à -60°C à $200^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ suivi d'un isotherme de 5min puis un chauffage jusqu'à 170°C à $20^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ afin de déterminer les températures de transition vitreuse (T_v) et de fusion (T_f).

Chromatographie d'exclusion stérique (SEC)

Les analyses SEC ont été effectuées sur un appareil équipé d'une pompe de type Shimadzu LC-10A connecté à deux colonnes PL-gel Polymer Laboratories (Mixte-C de 5 μm) montées en série et d'un interféromètre réfractomètre Wyatt Technology Optilab Rex utilisé comme

détecteur. Le chloroforme est utilisé comme éluant avec un débit de 1 mL.min⁻¹ à 25°C. L'étalonnage est assuré grâce à l'utilisation de standards de polystyrène à faible indice de polydispersité fournis par Polysciences. Les échantillons sont dissouts à une concentration de 10 mg.mL⁻¹.

Détermination des extractibles

Pour la détermination des extractibles les échantillons (1 cm x 0,5 cm) sont traités avec de l'éther diéthylique (10 mL pendant 3h en renouvelant le solvant toutes les 30 min) puis avec du dichlorométhane (10 mL pendant 3h en renouvelant le solvant toutes les 30 min).

Mesure de l'angle de contact

Les mesures d'angles de contact sont effectuées sur un goniomètre Krüss couplé à un système d'analyse Drop Shape Analysis System. Celles-ci sont répétées au moins 4 fois.

Résonnance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres de résonnance magnétique nucléaire du proton ¹H ont été effectués sur un spectromètre Bruker Avance 400. Ces spectres ont été effectués dans du chloroforme deutéré (CDCl₃) à 25°C ou du diméthylsulfoxyde deutéré (DMSO-d₆) à 70°C.

Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)

Les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés de 4000 à 500 cm⁻¹ sur un spectromètre Bruker Tensor 27 en mode réflexion totale atténuée (ATR) en effectuant 32 scans. Les transmissions reportées sont exprimées en nombre d'onde (cm⁻¹).

Spectroscopie RAMAN

Les calculs de conversion ont été effectués à l'aide des spectres d'absorption enregistrés sur un microscope Horiba Xplora confocal équipé d'une source d'excitation externe (laser 638 nm He-Ne). Les analyses ont été faites aux grossissements 50 x (Long Working Distance M Plan Semi-Apochromat, LMPLF50x, Olympus) et 10x (M plan Achromat, MPLN10x, Olympus) sous air.

Les acquisitions ont été obtenues en utilisant le logiciel LabSpec (Horiba Scientific, Edison, New Jersey). Les spectres ont été enregistrés avec une résolution de 1 cm^{-1} entre 4000 et 200 cm^{-1} . Plusieurs acquisitions ont été enregistrées afin d'augmenter le ratio signal/bruit. La calibration a été effectuée à l'aide d'une plaque de silicium à $520,5\text{ cm}^{-1}$. Les paramètres ont été les suivants filtre 100%, exposition : 10, fente : 50, trou : 500. Les spectres sont moyennés sur 2 à 5 accumulations ayant une durée de 15 s à 5 min.

Conclusion

Différents matériaux biosourcés ont été synthétisés par réaction thiol-ène photoamorcée et ce, sans avoir recours à des solvants organiques grâce aux propriétés de solvant des synthons utilisés (monoterpène, composés phénoliques, etc.). Ceci s'inscrit parfaitement dans les principes de la chimie verte. Des matériaux souples et transparents, aux propriétés thermiques prometteuses (résistance thermique $>280^{\circ}\text{C}$) ont été obtenus après 300s d'irradiation UV.

L'étude des propriétés antibactériennes de ces réseaux a démontré l'importance de la présence des fonctions alcool ou phénol, à la surface des matériaux dans leurs activités biologiques puisqu'elles sont responsables de l'inhibition de la croissance bactérienne. D'autre part, la présence de NPs conduit à une diminution de l'adhérence des bactéries en particulier avec *E. coli* ce qui est en accord avec la littérature. De plus, l'introduction dans les réseaux de composés phénoliques (acide tannique ou carvacrol) aux propriétés antibactériennes intrinsèques entraîne une inhibition complète de la croissance bactérienne à partir d'une proportion de 20% massique en carvacrol pour la souche *E. coli* et de 10% massique en acide tannique pour la souche *S. aureus*.

Outre les propriétés antibactériennes, la fonction phénol possède une forte activité antioxydante. En effet, l'étude des propriétés antioxydantes des matériaux a démontré que la présence de 30% massique d'eugénol natif, de 20% de carvacrol ou de 10% d'acide tannique dans les matériaux permet de piéger entre 88 et 92 % des radicaux. Il a également été démontré pour les réseaux à base d'acide tannique ou de carvacrol, que cette activité est durable puisqu'après 2 mois, elle reste intacte dans le cas de l'acide tannique et toujours efficace (jusqu'à 70%) dans le cas du carvacrol.

L'étude des performances thermo-mécaniques des matériaux a démontré que la nature du cycle (bicyclique dans le cas de l'isosorbide ou aromatique dans le cas de l'eugénol) n'avait pas d'influence majeure. En effet, les réseaux 100% isosorbide ou 100% eugénol fonctionnalisés ont des propriétés mécaniques équivalentes. En revanche, la fonctionnalité du co-monomère (mono ou bifonctionnelle) joue un rôle primordial puisque la présence d'un composé monofonctionnel comme l'eugénol à l'origine d'une diminution de la densité de réticulation des réseaux qui conduit à une augmentation de l'allongement à la rupture (multiplié par 1,8) et

une diminution du module d'Young (divisé par 3,3) et de la contrainte à la rupture (divisée par 4).

De même, l'influence de l'introduction d'une charge sur les performances thermo-mécanique du réseau va être dépendante de la nature de celle-ci (minérale ou organique). En effet, la présence d'une charge minérale (NPs de ZnO) augmente sensiblement les propriétés thermo-mécaniques (augmentation de la T_v et diminution de la hauteur du pic de $\tan \delta$ (h_a)). Le même effet est obtenu en présence d'acide tannique (charge organique) car celui-ci forme sous irradiation des macromonomères (par couplage radicalaire oxygéné) piégés physiquement dans le réseau. En revanche, l'introduction du carvacrol induit une augmentation de la flexibilité des réseaux (diminution de la T_v et du module d'Young).

Même si l'introduction d'une charge peut conduire à une augmentation des performances mécaniques, celle-ci reste relativement peu importante du fait de la nature des liaisons chimiques formées par la réaction thiol-ène (liaison thioéther particulièrement souple). Pourtant, les résultats préliminaires sur l'élaboration de co-réseaux PHBHV-linalol semblent particulièrement prometteurs puisque l'utilisation de PHBHV (polyester bactérien semi-cristallin) permet une nette augmentation des propriétés thermiques des co-réseaux obtenus (T_v multipliée par 4).

Après l'investigation de la réticulation par réaction thiol-ène, la polymérisation cationique et en particulier par ouverture de cycle des époxydes va être étudiée puisque celle-ci présente l'avantage de ne pas nécessiter l'utilisation d'une molécule additionnelle (agent de réticulation) et permettra d'élargir la gamme de réseaux antibactériens à partir de synthons biosourcés. Ainsi, le troisième chapitre de cette thèse sera dédié à la synthèse de réseaux en utilisant ce mode de polymérisation afin de mettre en lumière le mode de synthèse le plus prometteur.

Chapitre III : Réseaux obtenus par polymérisation cationique des époxydes

III.1 Introduction

Ce dernier chapitre sera consacré à l'étude d'une autre voie de polymérisation photoinduite qui présente l'avantage d'être facilement mise en œuvre : la polymérisation cationique par ouverture des cycles époxydes. En effet, les résines époxydes représentent une part très importante du marché (environ 30% en 2015) (www.plasticseurope.fr) puisque ces matériaux à hautes performances se retrouvent dans une large gamme d'objets dans des domaines d'applications allant des appareils ménagers à l'aéronautique. L'éther diglycidyle de bisphénol A (DGEBA) est l'un des précurseurs les plus importants de ces matériaux mais celui-ci a été depuis janvier 2015 interdit en France puisqu'il est suspecté d'être un perturbateur endocrinien et d'avoir des effets néfastes sur le développement des fœtus. D'autres alternatives telles que les bisphénol S ou F ont été trouvées mais celles-ci semblent être toutes aussi dangereuses (*Eladak, Fertility and Sterility*, 103, 2015).

L'eugénol précédemment étudié a montré sa pertinence de par la présence de fonction phénol responsable de l'activité antibactérienne. Ainsi, dans ce chapitre nous cherchons à trouver une alternative prometteuse au DGEBA en élaborant des co-réseaux à base de dérivés monoépoxydés de l'eugénol et d'éther diglycidyle de résorcinol. En effet, ce dérivé commercial diépoxydé peut être obtenu à partir de la biomasse par fermentation et/ou par chimie à partir des catéchines (flavonoïdes contenues dans les fruits de l'accacia à cachou) (*Vasudevan, Curr. Sci.*, 59, 1990) ou du glucose (*Sanderson, Nature*, 444, 2006 ; *Rocha, Photochemistry*, 42, 1996 ; *Ran, J. Am. Chem. Soc.*, 123, 2001 ; *Hansen, J. Am. Chem. Soc.*, 124, 2002 ; *Achkar, J. Am. Chem. Soc.*, 127, 2005).

De plus, il existe un grand nombre d'études sur la synthèse de résines époxy biosourcées mais très peu d'entre elles sont obtenues par photochimie ainsi notre approche est particulièrement novatrice.

La première partie de ce chapitre porte sur la synthèse de co-réseaux résorcinol-eugénol par photopolymérisation cationique des fonctions époxydes du résorcinol et du dérivé de l'eugénol obtenu par époxydation de la double liaison carbonée de l'eugénol natif.

La deuxième partie de ce chapitre sera consacrée à la synthèse de co-réseaux incorporant un autre dérivé époxydé de l'eugénol dont la double liaison est conservée ce qui devrait permettre de réaliser une modification chimique de surface par post-fonctionnalisation. En effet, il est possible d'envisager un greffage en surface par une réaction thiol-ène sur les doubles liaisons du dérivé eugénol.

Les propriétés thermo-mécaniques des réseaux synthétisés, ainsi que leurs propriétés antibactériennes contre deux souches bactériennes *Escherichia coli* (*E. coli*) Gram négatif et *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) Gram positif et leurs propriétés antioxydantes ont été évaluées afin de sélectionner les systèmes les plus prometteurs.

III.2 Co-réseau à base de résorcinol et d'eugénol fonctionnalisés

III.3 Introduction

Dans le chapitre II, nous avons mis en évidence l'intérêt des fonctions phénol apportées par l'eugénol qui sont à l'origine des propriétés antibactériennes. Ainsi, nous suivrons dans ce troisième chapitre la même démarche en synthétisant un dérivé époxydé de l'eugénol dont la fonction phénol sera conservée et qui sera copolymérisé avec un dérivé diépoxydé.

Nous avons sélectionné un dérivé commercial aromatique : l'éther diglycidyle de résorcinol, composé biosourcé issu de la fusion de gommés résines de type *galbanum sagapenum*. En effet, ce composé diépoxydé est particulièrement intéressant puisqu'il est facilement accessible en termes de coût et de disponibilité.

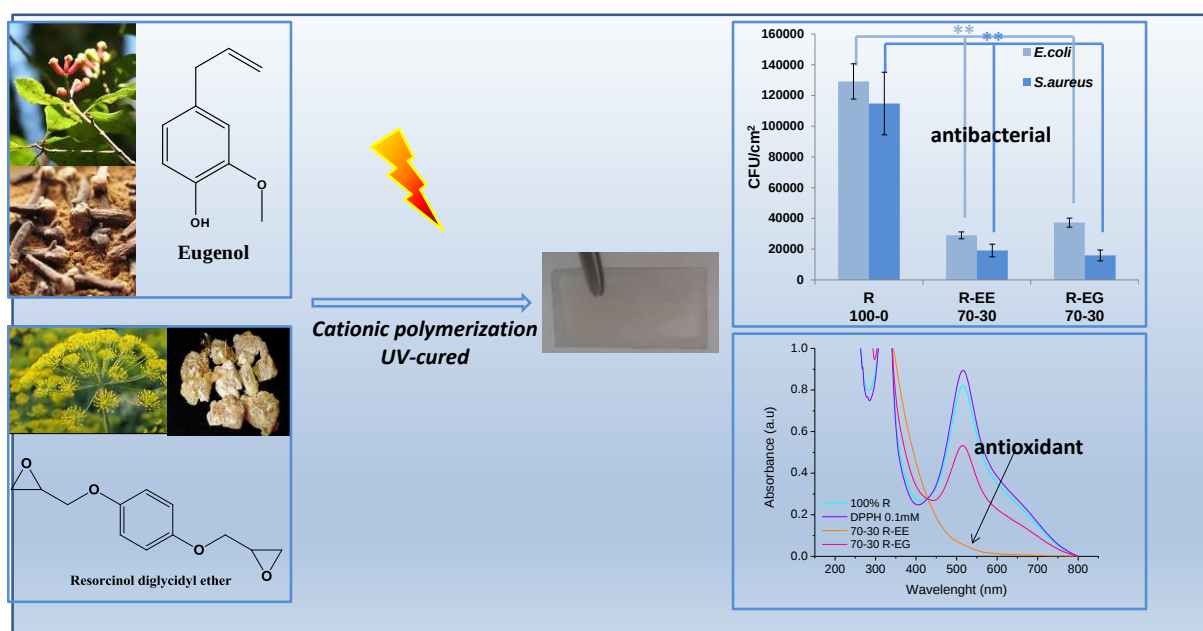
Ainsi, cette partie sera consacrée à la synthèse de co-réseaux à base d'eugénol monofonctionnalisé sous irradiation. L'influence du mode de polymérisation sur les propriétés thermo-mécaniques et biologiques des matériaux associant l'éther diglycidyle de résorcinol et l'eugénol sera mis en évidence. La présence des fonctions phénol devrait de plus exacerber les propriétés antibactériennes et devrait conférer un caractère antioxydant aux matériaux obtenus.

Les résultats de cette étude seront présentés dans l'article intitulé : Antibacterial and antioxydant photoinitiated epoxy co-networks of resorcinol and eugenol derivatives accepté en 2017 dans Materials Today Communications .

Antibacterial and Antioxydant Photoinitiated Epoxy co-Networks of Resorcinol and Eugenol derivatives

Materials Today Communications, 12, 2017, 19-28

Tina Modjinou, Davy-Louis Versace, Samir Abbad-Andaloussi, Valérie Langlois and Estelle Renard



III.3.1 Abstract

In this study, we used photo-induced cationic reactions to design bio-based crosslinked co-networks from resorcinol diglycidyl ether (**R**) and an eugenol derivative (epoxy eugenol **EE**) synthesized by nucleophilic substitution. The aim of this work is to prepare new UV-cured co-networks thanks to the cationic polymerization of the epoxides with a covalent immobilization of the eugenol derivative (**EE**) as antioxidant and antibacterial agent to investigate the impact of the proportion of this one on biological activities. Moreover, the antibacterial and antioxidant properties of the networks were studied *in vitro* against two pathogenic bacteria strains: *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and the DPPH method respectively. The results had shown on the one hand a promising anti-adherence for the both strains without any diffusion of the eugenol derivative which will allow potential applications of these networks for antibacterial adhesion and, on the other hand an anti-oxidant activity.

III.3.2 Introduction

With more than 1.4 million cases diagnosed each year, nosocomial infections are a growing worldwide healthcare problem. Indeed, this contamination due to pathogenic microorganisms such as *E.coli*, *S. aureus* or *Pseudomonas aeruginosa* affects 5 to 10% of the population of developed countries and 2 to 20 times more in developing countries. Pneumonia or septicemia caused by these infections are responsible for 4000 deaths per year in France, 80 000 in United States and 5000 in England ¹. Moreover, the treatment of nosocomial infections is relatively expensive because it costs more than 1 billion of pounds in England, between 4.5 and 5.7 billions of dollars in United States and between 0.73 and 1.8 billion of euros in France ¹. In addition to the high cost and the number of death, the main problem of these hospital-acquired infections is their increasing resistance to antibiotics. Indeed, growing strains become insensitive to antibiotics such as *S. aureus* against methicillin ^{2,3}. Thus, researches increasingly greater are conducted to develop novel antimicrobial systems in many fields (hospital, health care, textiles or food packaging). Different strategies have been developed to design materials or surfaces responding to these needs. Among them, the most common way to prevent the bacterial colonization of the materials or surfaces is to use functionalized polymers layers or brushes ⁴⁻⁹. Some other authors immobilized photosensitizers ¹⁰⁻¹⁵ or investigated a biocide

leaching approach using antibiotics^{13,16} or inorganic compounds^{17–19}. However, several studies have demonstrated that inorganic nanoparticles (NPs) may affect human health^{20–26} encouraging the apparition of novel synthesis strategies. According to a sustainable development approach, the use of bio-based monomers is quickly growing. Among renewable resources, essential oils contained in plants constitute a source of terpenes, terpenoids or free mono-aromatic compounds with a wide diversity of chemical structures. One of these readily available and inexpensive monomers, eugenol, which is extracted from clove oil is a relatively interesting phenolic compound whose biological properties have been demonstrated^{27–31}. The main objective of this work is to design eugenol-based epoxy materials with efficient anti-adherent and antioxidant properties. To the best of our knowledge, there is to date no investigation related to the synthesis of epoxy eugenol derivative networks according to the photoinduced cationic polymerization which becomes a promising way for the synthesis of “green” materials.

Resorcinol diglycidyl ether (**R**), extracted from the melting of some gum resins (*galbanum sagapenum*) is chemically feasible and widely used in the industry (dyes, tanning, plastics, rubbers etc.). Moreover, the herbaceous plant from which it is extracted was used in European Pharmacopeia in the 18th century for its antispasmodic properties and to fight against respiratory infections. Thus, an eugenol derivative (epoxy eugenol **EE**) has been synthesized and associated to resorcinol diglycidyl ether (**R**) to prepare new UV-cured co-networks by cationic polymerization under illumination. The cured materials were analysed by FTIR, DMA, TGA and tensile tests analysis. The influence of the proportion of the eugenol derivative on thermal and mechanical properties on the new epoxy co-networks is reported and its action against the adhesion of both pathogenic bacteria strains (*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*) are evaluated and discussed thoroughly.

III.3.3 Experimental Part

III.3.3.1 Materials

Resorcinol diglycidyl ether (**R**) ($\leq 100\%$), eugenol (**E**) ($\geq 98\%$), 3-chloroperbenzoic acid (mCPBA) ($< 77\%$), acetic anhydride ($\geq 98\%$) and sodium hydroxide (Sigma Ultra minimum 98%) and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ($\leq 100\%$) were purchased from Aldrich. (Bis(4-dodecylphenyl)iodonium hexafluoroantimonate (Deuteron UV 1242) was provided by Deuteron Company. Dichloromethane, ethanol, sulfuric acid (90%), diethylether, sodium

sulfite (Na_2SO_3), sodium bicarbonate (NaHCO_3), sodium chloride (NaCl) and anhydrous magnesium sulphate (MgSO_4) were obtained from Aldrich and used without any purification. Lysogeny Broth medium (LB Miller) (tryptone, yeast extract, and sodium chloride) and Plate Count Agar (PCA) (agar 9 g.L^{-1} , dextrose 1 g.L^{-1} , tryptone 5 g.L^{-1} , yeast extract 2.5 g.L^{-1} , pH = 7 ± 0.2) provided from Sigma-Aldrich.

III.3.3.2 Synthesis of epoxy eugenol, *EE*

m-CPBA (2.8 eq / C=C, 20.4 g, $11.8 \cdot 10^{-2}$ mol) were dissolved in 100 mL of anhydrous dichloromethane. Eugenol (6.9 g, $4.2 \cdot 10^{-2}$ mol) was dissolved in 70 mL of anhydrous dichloromethane and added slowly into the m-CPBA solution over an hour. The reaction was stirred at room temperature overnight and cooled in an ice bath. The solution was filtered through a glass funnel to remove the benzoic acid formed during the reaction. The filtrate was first washed with 2x100 mL of a 10% sodium sulfite solution (Na_2SO_3) then with 2 x 100 mL of a saturated 10% solution of sodium bicarbonate (NaHCO_3) and finally with 2 x 100 mL of a saturated solution of sodium chloride (NaCl). The organic layer was dried under MgSO_4 and evaporated under vacuum. The raw product was purified using flash chromatography (petroleum ether/ethyl acetate = 9/1) giving a 45% yield of pure epoxy eugenol (*EE*).

III.3.3.3 Resorcinol diglycidyl ether-Epoxy Eugenol networks preparation, *R-EE* networks

As an example, the synthesis of 70-30 (w/w %) resorcinol diglycidyl ether-epoxy eugenol co-network is described here. *EE* (90 mg, 5×10^{-4} mol) and the photoinitiator (4 wt% of total mixture) were dissolved in *R* (210 mg, 9.5×10^{-4} mol) previously melted. The entire formulation was deposited into a silicone mold (2.5 x 4 cm) and irradiated with an intensity of 20 mW/cm^2 at room temperature with an Hg-Xe Hamamasu lamp (Lightning Cure LC8 (L8251), 200W) coupled to a flexible light guide. The maximum of UV light intensity at the sample position was measured by radiometry (International Light Technologies ILT 393). It was 20 mW.cm^{-2} in the 250-450 nm range. A transparent yellow co-network was obtained after 600 s of irradiation.

III.3.4 Characterization

^1H NMR (400 MHz) spectra were recorded on a Bruker AV 400M in CDCl_3 at room temperature. ATR-FTIR spectra were recorded on a Bruker Tensor 27 spectrometer equipped

with an ATR apparatus. Water contact measurements were performed with a drop shape analysis system Krüss Easy Drop contact angle measuring system apparatus controlled by DSA software. Flash Chromatography purifications were performed on an Interchim puriFlash® SPOT II apparatus coupled to a LT-ELSD Sedex 80 Sedere detector using a Grace resolsilica 40µm 80g/100mL 60mL/min or 120g/160mL 80 mL/min column. Absorbance was monitored at $\lambda_1 = 254$ nm and $\lambda_2 = 235$ -600 nm. The mobile phase was composed of petroleum ether (PE) (90%) and ethyl acetate (EtAcO) (10%). The measurements were conducted according to the following elution program: equilibration during 2.5 column volum (V_c), gradient from 10% to 22% of EtAcO during 3 V_c , isocratic plateau during 5 V_c and a gradient from 0% to 100% of methanol for *EE*. Thermogravimetric analyses (TGA) were performed on a Setaram Setsys Evolution 16 apparatus by heating from 20°C to 800°C at 10°C.min⁻¹ under argon atmosphere. Dynamic mechanical analyses (DMA) were performed on a TA Instrument Q800 analyser in tension film mode equipped with a gas-cooling accessory. The characterization was carried out on samples having dimensions of 20 mm length, 5-8 mm width and a thickness of 0.2 mm. Samples were clamped and a strain of 0.04 % was applied with a frequency of 1 Hz. They were firstly equilibrated at 20°C for 5 min then heated up to 200°C with a ramp of 3°C.min⁻¹. Finally, they were hold at 200°C for 10 min and cooled down to 20 °C. All tests were done under air. The glass transition temperature was determined from the maximum value of the tan δ peak. The crosslink density was estimated from the rubbery plateau storage modulus at $T_g + 40^\circ\text{C}$ according to the theory of rubber elasticity³² (equation 1):

$$\nu_e = \frac{E'}{3RT} \quad \text{Eq 1}$$

where E' is the rubbery plateau storage modulus at $T_g + 40^\circ\text{C}$, R is the gas constant, T is the temperature in °K corresponding to storage modulus at $T_g + 40^\circ\text{C}$.

Tensile measurements (mechanical testing) were performed at room temperature using an Instron 5965 apparatus equipped with a 20 mN sensor at a crosshead displacement rate of 1 mm.min⁻¹.

The radical scavenging activity was measured by using a Varian Cary 50 Bio UV-Visible spectrophotometer controlled by the CaryWinUV software. The typical range of the UV spectra is 200-800 nm. Photopolymerization kinetics were followed by Real-Time Fourier Transform Infra Red Spectroscopy (RT-FTIR) using a Thermo-Nicolet 6700 Instrument. 80 µL of a

mixture of resorcinol diglycidyl ether (210 mg, 9.5×10^{-4} mol), epoxy eugenol (90 mg, 5.10^{-4} mol) and the photoinitiator (12 mg, 4 wt% of the epoxy monomers) in toluene were applied to a BaF₂ chips by means of a calibrated wire-wound applicator and exposed for few seconds to both the IR beam (which analyses *in situ* the extent of the photoreaction) and the UV beam (which starts the photoreaction). The mixture was irradiated at room temperature using a Hamamatsu Lightning Cure LC8 equipped with a Hg-Xe lamp (200W) coupled with a flexible light guide. The sample and the end of the light guide was separated by a 14 cm distance. The photopolymerization was monitored by following the disappearance of the epoxy bond at 910 cm⁻¹.

For the determination of the soluble extract, the samples were treated with 15 mL of toluene stirred in a flask at 35°C. The solvent fraction was renewed every 15 min and the process was performed 5 times. The films were weighted after the solvent evaporation under vacuum at 60°C during 4h.

The anti-adherence activity of the networks was evaluated using two pathogenic bacterial strains: *Staphylococcus aureus* ATCC6538 (Gram-positive) and *Escherichia coli* ATCC25922 (Gram-negative) which were grown aerobically at 37°C overnight on LB medium (Lysogeny Broth) before the bacterial adhesion tests. The samples of the networks were immersed 1h at 37°C and stirred in the bacterial suspension of the two different strains (OD_{600nm} = 0.05). The non-adherent bacteria were then removed from the network surface by 7 washes with a physiological saline buffer. The networks were then submitted to vortex and ultrasounds in a minimum volume of saline buffer to unhook fasten bacteria. Finally, 100 µL of this resulting viable bacteria suspension were inoculated onto the surface of a Plate Count Agar Petri dish. After 24h of incubation at 37°C in aerobic conditions, the antibacterial activity was measured by counting CFUs for the different strains. Each experiment was performed in six replicates to allow a significant statistical analysis. The software R was used to analyse the data. The ANalysis Of the VAriance (ANOVA) statistical test was used and significant differences ($p < 0.05$) among antibacterial properties of the networks were detected thanks to the multiple range test of Duncan.

The antioxidant activity of the co-networks and the single monomers was determined according to the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method^{33–36}. 30mg of the co-network or the monomer were immersed in 3 mL of 0.1 mM DPPH solution (in methanol). This solution was then left in darkness for 1 hour at room temperature. The DPPH solution is well known to have a maximum of absorption at 517 nm. The antioxidant activity was therefore determined by

monitoring the decrease of the absorbance at this wavelength. The radical scavenging activity was calculated according to the following equation (Eq 2):

$$\text{Radicals scavenging activity(\%)} = \left(\frac{A_{\text{ref}} - A_s}{A_{\text{ref}}} \right) \times 100 \quad \text{Eq 2}$$

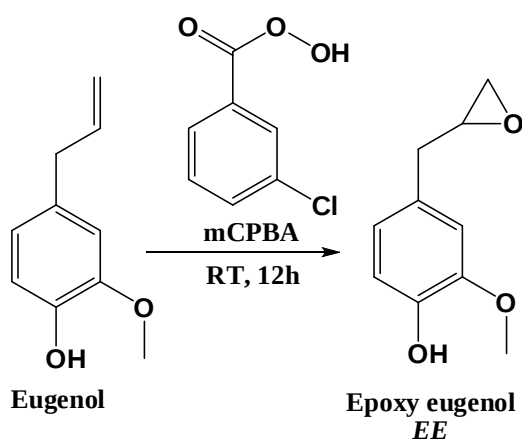
$$\text{Radicalscavengingactivity(\%)} = \left(\frac{A_{\text{ref}} - A_s}{A_{\text{ref}}} \right) \times 100 \quad \text{Radicalscavengingactivity(\%)} = \left(\frac{A_{\text{ref}} - A_s}{A_{\text{ref}}} \right) \times 100$$

where A_{ref} corresponds to the absorbance of the 0.1 mM DPPH solution without network or monomers and A_s corresponds to the absorbance of the 0.1 mM solution of DPPH in contact with the co-network (or the monomers) at 517 nm.

III.3.5 Results and discussion

III.3.5.1 Preparation of the eugenol derivatives

Epoxy eugenol derivative was synthesized according to an oxidation reaction in presence of m-CPBA (**Scheme 1**). Eugenol was added to a solution of 3-chloroperbenzoic acid to lead up to epoxy eugenol (**EE**). ^1H NMR spectra of eugenol and **EE** were displayed in the **Figure 142**. The chemical structure of the monomer **EE** was confirmed by the appearance of new signals (a_1'), (c' , a_2') and (b') at 2.55, 2.75 and 3.15 ppm which correspond to the protons of the epoxide groups (**Figure 142 b**) and with the disappearance of the signals (b) and (a_1 , a_2) at 6.1 and 5.1 ppm, which are assigned to the protons of unsaturated allyl groups (**Figure 142 a**). The ratio R of the epoxy cycle is determined by ^1H NMR thanks to the integrations values ³⁷ and the calculated value of $R = 0.98$ proves that the epoxidation is quantitative.



Scheme 3: Synthesis of the monomer EE

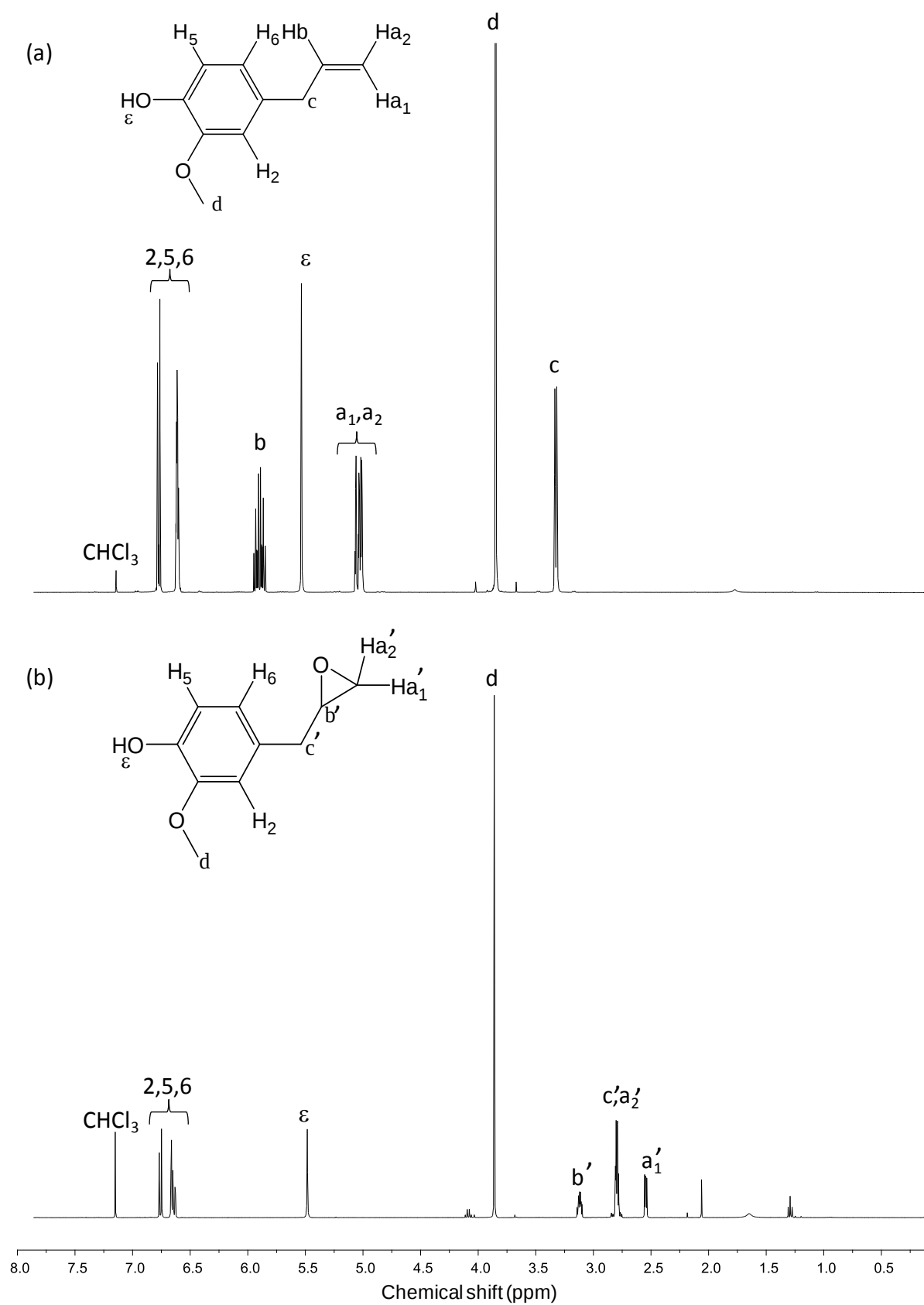
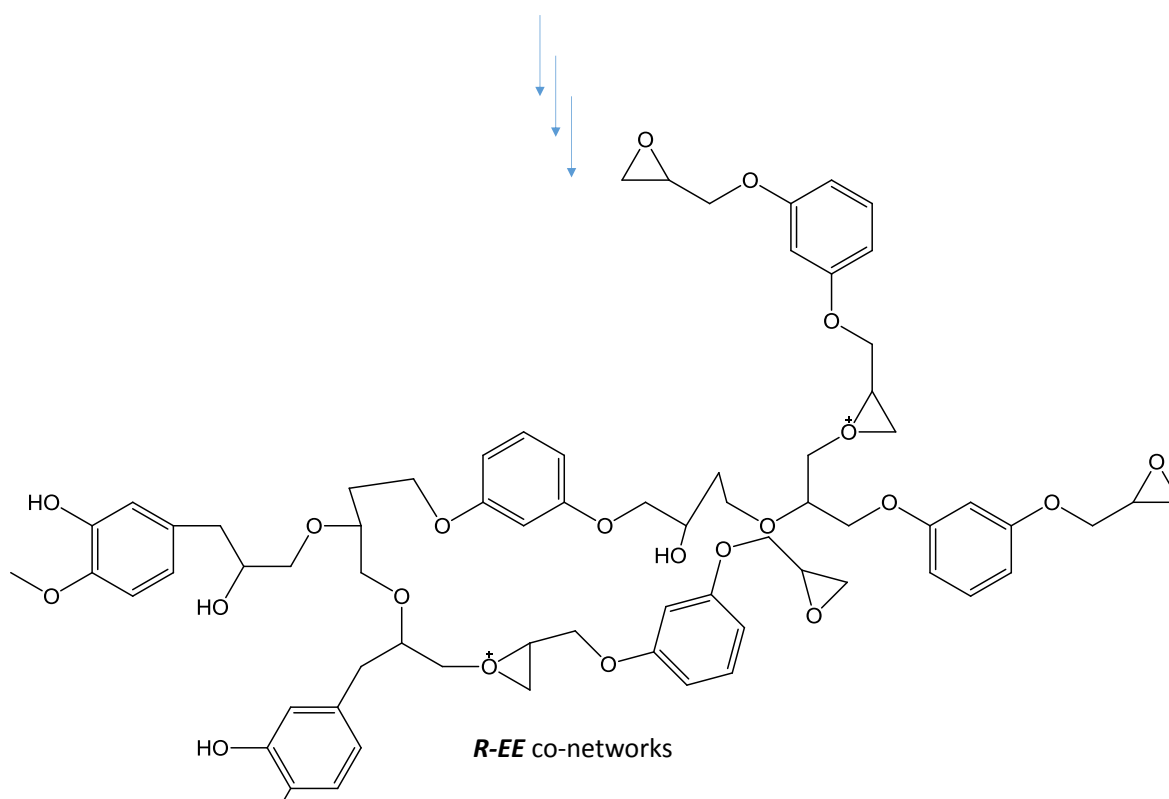
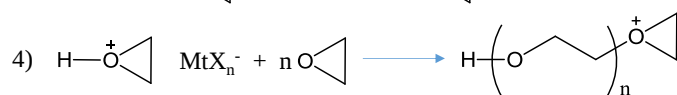
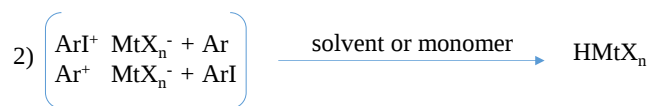
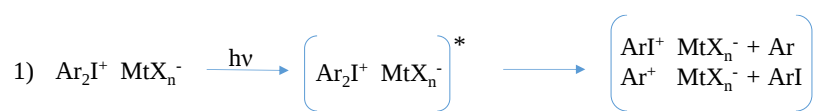


Figure 142: ^1H NMR spectra of eugenol (E) (a), and epoxy eugenol (EE) (b) in CDCl_3 .

III.3.5.2 Preparation and characterization of Resorcinol diglycidyl ether-Epoxy eugenol derivative networks

The formation of the co-networks of resorcinol diglycidyl ether (**R**) and the eugenol derivative (**EE**) according to the photoinduced cationic epoxide polymerization is given in **Scheme 2**. **Figure 143** shows the FT-IR spectra of the mixture of resorcinol diglycidyl ether (**R**), and the photoinitiator before and after irradiation. The kinetics of the cationic epoxy monomer polymerization under light activation as a function of the percentage ratio resorcinol/eugenol are given in supporting information (**Figure S1**). The absorption of the C-O vibration band of the epoxide groups can be identified at 910 cm^{-1} , the stretching bands of $\text{C}=\text{C}_\Phi$ at 1592 and 1453 cm^{-1} , and the C-O aliphatic ethers group at 1080 cm^{-1} . After irradiation, the decrease of the absorbance band of the epoxide groups at 910 cm^{-1} , the increase of the peak at 1154 cm^{-1} (characteristic of C-O-C aliphatic ethers stretching) and the appearance of the peak at 1080 cm^{-1} associated to the C-O aliphatic ethers stretching confirmed the success of the cationic polymerization. The more the percentage of resorcinol increases, the more the rate of polymerization and the final conversion increase. The addition of resorcinol favors the reticulation of the epoxy derivative systems for synthesizing 3-D bio-based materials.

To assess the influence of the proportion of the monoepoxide derivative on the co-networks properties, a series of photo-cured samples containing from 0 to 70% of epoxy derivative eugenol were prepared. All mixtures produced homogeneous viscous solutions which were then introduced into a silicone mold and induced the formation of brittle materials after UV irradiation.



Scheme 4 : Example of the formation of the co-networks *R-EE*

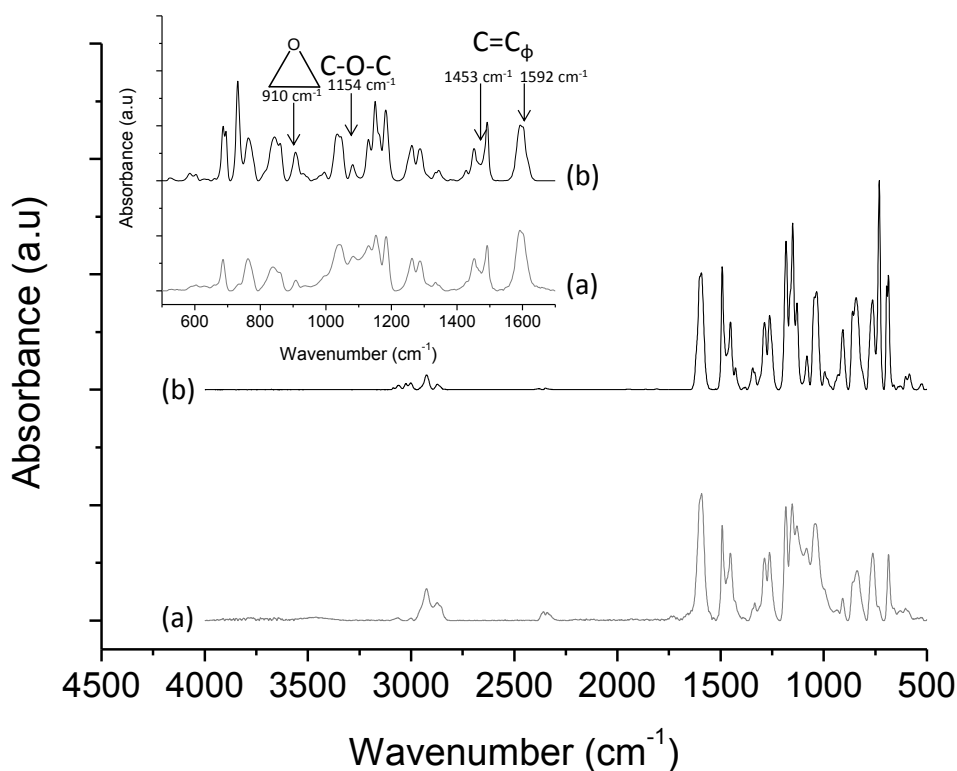


Figure 143: FTIR spectra of 100-0 R-EE network formulation after (a) and before (b) irradiation

III.3.5.3 Characterization of the networks

Surface properties of the co-networks were studied by water contact angle measurements (**Table 12**). As expected, the increase of the eugenol derivative proportion led to a decrease of the contact angle from 97 to 72° due to the presence of the phenolic compound. Moreover, the measurement of the amount of water taken up after 24 h of exposure to an atmosphere with 75% of relative humidity by Karl Fisher titration indicated that the co-networks were not sensitive to humidity. Indeed, the water uptakes kept lower than 1%. A slight increase of the materials thickness from 0.18 to 0.25 mm was observed with the increase of the eugenol derivative proportion which could induce a slight increase of the co-networks density. The increase of the eugenol derivative proportion led to an increase of the soluble fraction measured gravimetrically after extraction in appropriate solvent from 5 to 24%. These results were in line with the not total conversion (lower than 65%).

Table 12: Characteristics of R and R-EE networks.

Composition (w/w%)	Thickness (mm)	Soluble extract^{a)} (%)	θ^{b)} (°)	Water uptake^{c)} (%)
100-0 R-EE	0.18 ± 0.1	5.3 ± 4.7	97 ± 3	0.83
80-20 R-EE	0.19 ± 0.05	9.5 ± 4.6	88 ± 7	0.74
70-30 R-EE	0.24 ± 0.04	12.0 ± 9.2	79 ± 2	0.47
60-40 R-EE	0.24 ± 0.07	15.3 ± 2.7	79 ± 1	0.54
50-50 R-EE	0.25 ± 0.04	21.5 ± 7.6	75 ± 2	0.26
40-60 R-EE	0.24 ± 0.04	17.8 ± 4.4	72 ± 1	0.29
30-70 R-EE	0.22 ± 0.01	23.5 ± 3.9	72 ± 2	0.24

^{a)}Determined by gravimetry ^{b)}Determined by water contact measurements ^{c)}Determined by Coulometry after 24h of exposure

The investigated mechanical and thermal properties of the co-networks (performed at least in for replicates) are summarized in **Table 13** and **Table 14** respectively.

Table 13: Mechanical characterization of R and R-EE networks.

Composition (w/w%)	E^{a)} (MPa)	σ_r^{a)} (MPa)	ϵ_r^{a)} (%)	E'^{b)} (MPa)	$\tan\delta$^{b)} (°C)	v_e^{c)} (mol/cm ³) *10 ⁻³	Lα^{d)} (°C)	hα^{e)} (MPa)
100-0 R-EE	1791 ± 407	33 ± 32	3.3 ± 1	76 ± 5	139	3.4 ± 0.4	40 ± 6.0	0.24 ± 0.1
80-20 R-EE	1866 ± 439	45 ± 15	3.4 ± 1	25 ± 5	100	2.4 ± 0.5	38 ± 0.2	0.34 ± 0.1
70-30 R-EE	2186 ± 95	56 ± 20	3.9 ± 1	12 ± 1	89	1.2 ± 0.1	27 ± 2.0	0.50 ± 0.1
60-40 R-EE	2115 ± 385	40 ± 24	3.0 ± 1	11 ± 3	82	1.1 ± 0.3	27 ± 0.5	1.00 ± 0.1
50-50 R-EE	-	-	-	6 ± 2	76	0.6 ± 0.3	23 ± 2.8	1.23 ± 0.1

^{a)}Determined by tensile tests measurements; ^{b)}Determined by DMA; ^{c)} v_e : Crosslink density ^{d)}L α : width at half height; ^{e)}h α : peak height

Table 14: Thermal characterization of the monomers R, EE and R, R-EE networks.

Composition (w/w%)	T _{5%} ^{a)} (°C)	T _{30%} ^{a)} (°C)	T _s ^{b)} (°C)	Char ₈₀₀ ^{c)} (%)
R	196	239	109	2
EE	164	206	93	0
100-0 R-EE	370	405	192	22
80-20 R-EE	360	410	191	22
70-30 R-EE	343	405	188	17
60-40 R-EE	336	402	184	15
50-50 R-EE	287	392	171	14
40-60 R-EE	271	389	168	12
30-70 R-EE	271	384	166	15

^{a)}T_{5%} or T_{30%}: Temperature of 5% weight loss of the networks under N₂ determined by TGA;

^{b)}T_s: Statistic heat-resistance temperature; ^{c)}Char yield at 600°C under N₂ as given by TGA

The mechanical properties of the co-networks were studied to determine Young's modulus (E), the strain (ϵ) and tensile stress (σ_r). Results obtained from stress-strain curves are presented in **Figure 144** (typical curves) and reported in **Table 13**.

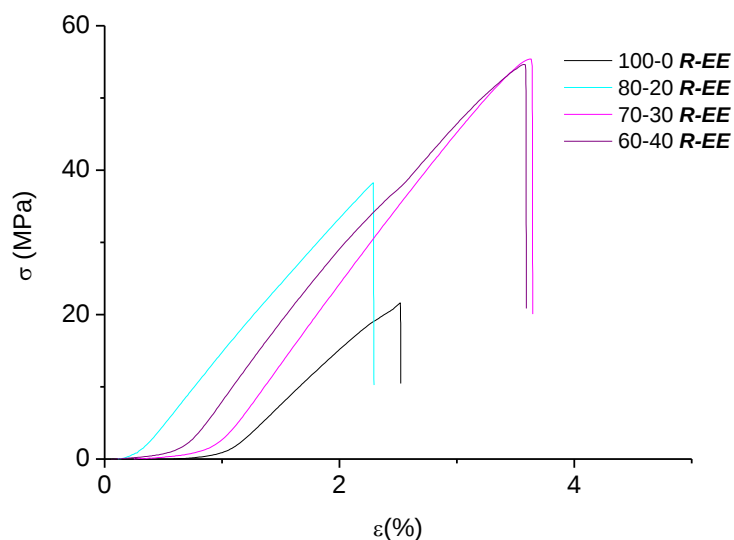


Figure 144: Tensile tests of the R-EE networks (typical curves).

Similar trends were observed for the Young's modulus values; however, the introduction of eugenol derivative in the formulation led to an increase of σ_r and ε_r which is reflecting in a better flexibility of the networks. The low strain values measured ($< 5\%$) corresponding to the ability of the co-network to lengthen before breaking are characteristic of a brittle material. Those results are in line with the DMA analysis results (**Table 13**). Indeed, the storage modulus E' corresponds to the capacity of the material to store energy and to resist deformation. So the higher the rigidity of the material is the higher the E' is. As it is mentioned before, the introduction of **EE** leads to an increase of the flexibility and as a consequence, E' decreases. Moreover, in the case of tensile strength, an increase was observed due to the fact that the materials without **EE** are so rigid that they break rapidly as it is confirmed by the very low values of the elongation at break.

Indeed, glass temperature (T_g) values determined at the maximum of $\tan \delta$ peak and the crosslink density (v_e) values determined thanks to the equation 1 diminished with the incorporation of eugenol derivative.

As reported in **Table 13**, the glass transition temperature was over 76°C , indicating a very rigid structure due to the formation of ether linkages as mentioned previously^{38,39}. These values decreased from 139°C (100-0) **R-EE** to 76°C for (50-50) **R-EE**. This can be attributed to the decrease of the crosslink density due to the lower **R** fraction and to the nature of the monofunctional aromatic substituent. The T_g values are in agreement with the literature⁴⁰⁻⁴².

The high value of the crosslink density observed for the (100-0) **R-EE** co-networks ($v_e = 3.4$) confirm the strong reticulation of the material and consequently the low value of the strain and agree with those of epoxy networks⁴². The decrease of the crosslink density with the incorporation of an increasing proportion of the eugenol derivative is consistent with a lower functionality of the reaction mixture. Besides, the relaxation peaks profiles ($\tan \delta$) of the (100-0) and (80-20) **R-EE** co-networks indicate a bimodal distribution of the main relaxation reflecting an heterogeneity in these materials not observed in the case of the eugenol derivative proportion is over 20 wt %. For these samples, the peaks profiles were comparatively monomodal and symmetrical in compliance with a homogenous crosslinked materials (**Figure 145** (right side)) (typical curves). Moreover, the intensity of the peak (h_a) which corresponds to the macromolecular chains movements' amplitude was five time or three and half times less (for the (100-0) or (80-20) **R-EE** co-networks respectively) than the values of the (50-50) **R-EE** networks. On the contrary, when the eugenol derivative proportion is upper than 30 wt %, the intensity of h_a was upper to 1 indicating that these materials are able to dispel a lot of energy.

It could be assumed that the (100-0) and (80-20) **R-EE** formulation led to a rapid increase of the reaction mixture viscosity resulting in a trap of the reactive species and consequently limits the reaction of the unreacted epoxide functions. Because of the liquid nature of the **EE** monomer, the viscosity of the **R-EE** formulations was lower and hence, the profile of $\tan\delta$ was relatively homogenous. It can be assumed that the monofunctional nature of the eugenol derivative played also a key role in these results. These could have allowed a larger and more homogeneous formation of crosslinks, which in turn could yield a more homogeneous $\tan\delta$ peak.

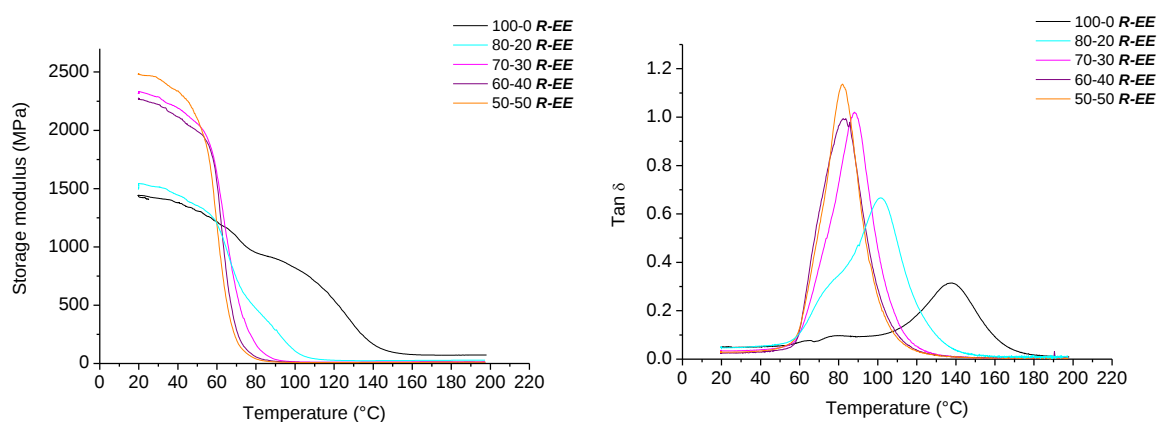


Figure 145: Dynamic mechanical properties of the R-EE networks.

The thermal properties of the photo-cured samples are displayed in (typical curves) and summarized in **Table 13** and in the **Figure 145**. Thermal degradation was calculated at temperature corresponding to 5% and 30% mass loss⁴³. The values of $T_{5\%}$ were higher than 300°C in the case where the amount of **EE** is lower than 50% and slightly lower (271°C) for the higher proportions of **EE** indicating a good thermal stability^{41,42,44}. The TGA thermograms showed the presence of a first loss of mass which corresponds to that of the free monomer **R** (**Figure 146**) at 196°C. These results are in line with the lack of observed final conversion. The statistic heat-resistance temperature (T_s) was used to specify the thermal stability of the networks and has been determined according to the following equation (Eq 3)^{43,45}:

$$T_s = 0.49 \times [T_{5\%} + 0.6 \times (T_{30\%} - T_{5\%})] \quad \text{Eq 3}$$

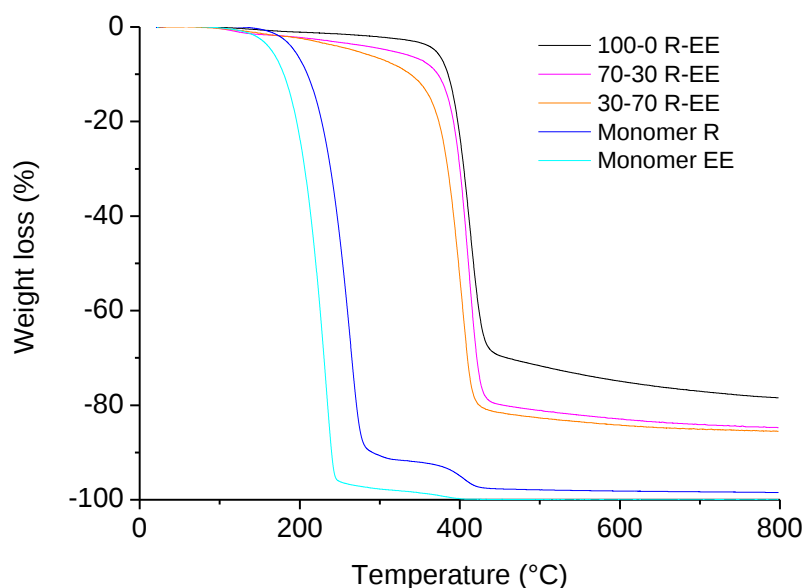


Figure 146: TGA curves of the monomers R, EE and R-EE networks.

The value of the statistic heat resistance temperature (T_s) depending on the values of $T_{5\%}$ and $T_{30\%}$ decreased with the increase of the amount of eugenol derivative in the material. According to the thermogravimetric analyses (**Figure 146**), the increase of the reticulation characterized by the crosslink density (v_e) values leads to an increase of the thermal resistance. This result confirms that the intensity of 20 mW/cm² leads to a fast reticulation, which tends to immobilize the active centers. Finally, the introduction of the monofunctionalized derivative induced a decrease of the char value corresponding to the residual material in line with the crosslink. In comparison to the **R-EE** co-networks with at least 10% of **EE**, the (100-0) **R-EE** co-networks have 2 epoxy groups per aromatic rings. Thus, it leads to an increase of the cross-link density. It could be assumed that this higher cross-link density may be the origin of high char value (22%)^{42,46}.

III.3.5.4 Antioxidant activity

The antioxidant activity of molecules is widely determined using the free radical DPPH having a maximum of absorption at 517 nm^{27,33,34,36,47,48}. When this radical reacts with an antioxidant component, the absorbance at 517 nm decreases⁴⁹, thus leading to a change of coloration to the solution from purple to yellow (**Figure 147**). The incorporation of the eugenol derivative **EE** led to an increase of the antioxidant activity from 11% to 94 % for the (100-0) **R** and (30-70)

R-EE co-networks respectively. Thus, the phenolic functions present on the surface of the materials could react with the DPPH. These results are in line with the no sensitive properties of the co-networks determined in **Table 12**. Thereby, the antioxidant activity is due to both the presence of the phenol group in the cross-linked materials and the unreacted monomers embedded in the materials ²⁷. However, after an intensive rinsing of the biomaterial 70-30 (*R-EE*) with methanol for extracting unreacted monomers, it can be assumed that the antioxidant properties remain the same. These additional results undoubtedly demonstrate that the antioxidant properties of the photoinduced bio-based materials are mainly due to the cross-linked monomers with pendant phenolic groups. Finally, the presence of this phenolic function plays a key role in the antibacterial properties as it has been reported in the literature ⁵⁰⁻⁵⁶.

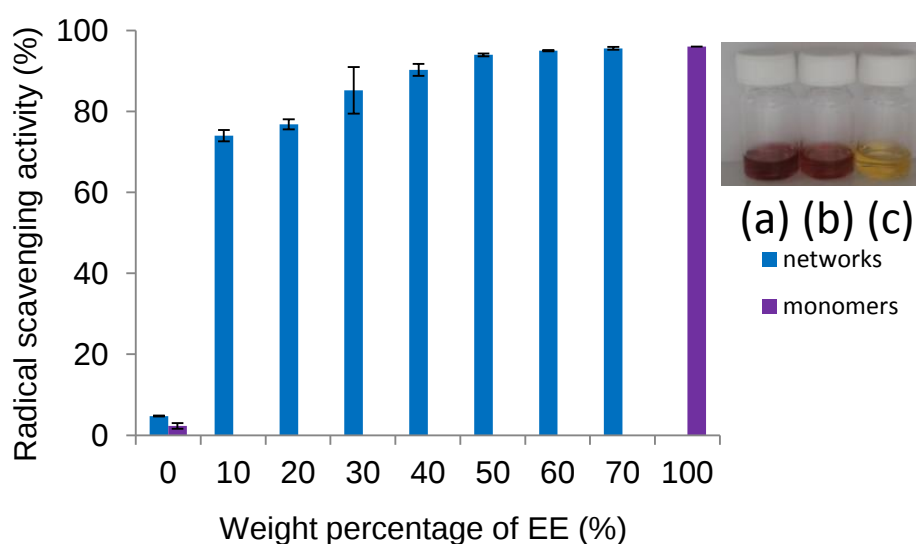


Figure 147: Antioxidant activity of the R-EE networks and photographs of the DPPH solutions (a) DPPH solution 0.1 mM, (b) 100-0 R-EE and (c) 30-70 R-EE after 1h of immersion in DPPH solution.

III.3.5.5 Bacterial adherence

The adherence ability of each studied bacteria on active co-networks was measured after incubation within a bacterial suspension for 1 h. The number of viable bacteria, which adhere to the surface (CFU/cm²), was calculated by performing an ANOVA and a StatAdvisor post-tests (**Figure 148**). The CFU/cm² values obtained for *S. aureus* were slightly lower than those of *E. coli*. These results can be explained by the more complicated cell wall structure (containing an outer membrane) of *E. coli* than the one of the Gram-positive species ^{57,58}. The phospholipids, proteins and lipopolysaccharides (LPS) composing this membrane mainly serve

to protect the bacteria from antibacterial agents attacks. The introduction of eugenol derivatives in the network induces a raise of the antibacterial properties. Indeed, a reduction of the bacterial adhesion of 59% and 92% for *E. coli* and 58% and 91% for *S. aureus* were observed for the (70-30) and (30-70) **R-EE** co-networks respectively. It can be assumed that the hydrophobicity of the surface leads to a weaker attraction in the case of *E. coli*. The introduction of an increasing amount of eugenol derivatives led to a slight decrease of the surface hydrophobicity (**Table 12**) and the bacteria adhesion. It has been reported that the *S. aureus* exhibits a preference attachment on hydrophobic surfaces ⁵⁹⁻⁶¹, nevertheless, this strain was also impacted by the incorporation of eugenol derivative. Indeed, conflicting results about the influence of the hydrophobicity of the surface (characteristic of the value of the surface free energy and the contact angle of the material) and the bacteria adherence have been reported. Some authors proposed that the increase of the surface energy led to a decrease of the bacterial adhesion ^{62,63} whereas, other studies have shown that the adhesion decrease with the increase of the surface energy ⁶⁴⁻⁶⁶. Furthermore, the bacteriostatic activity of the material is closely linked to the accessibility of the bacteria to the eugenol derivative. Thus, the increase of the eugenol derivative proportion from 30 wt% to 70 wt% allowed to an increase of the amount of this molecule on the surface and consequently to a higher contact between the antibacterial agent and the bacteria. Nonetheless, it could be surmised that the real mechanism of the bacteriostatic activities of linked eugenol derivatives still remains unknown. It had been demonstrated that under the minimum of inhibitory concentration, the adherence and the formation of a biofilm were reduced for the cariogenic bacteria^{67,68}. On the other hand, some authors have highlighted that eugenol induced proton pumps, a disruption in cell membrane permeability of the oral bacteria resulting in a reduction of microbial resistance and formation of a biofilm ^{67,68}. Finally *Devi et al.* have demonstrated that over 0.025% (v/v) the eugenol achieves a bactericidal concentration against *Salmonella typhi* which induces a disruption of the cytoplasmic membrane increasing its permeability. This hyperpermeability led to a leakage of ions and a loss of the cellular contents such as intracellular proteins leading to the cell death ⁶⁹. Moreover, it can be assumed that the antioxidant activity plays also a key role in the anti-adhesive properties ^{50,52-56}. Our results are in line with those reported previously ⁷⁰. Even if the antibacterial activity of eugenol still remains very complex and dependent on the bacterial strains in presence^{69,71}, the incorporation of eugenol derivative, with phenolic groups, induces a very promising anti-adhesive activity for the both strains since 70 wt% of the eugenol derivative leads to the almost complete reduction of the bacterial adhesion.

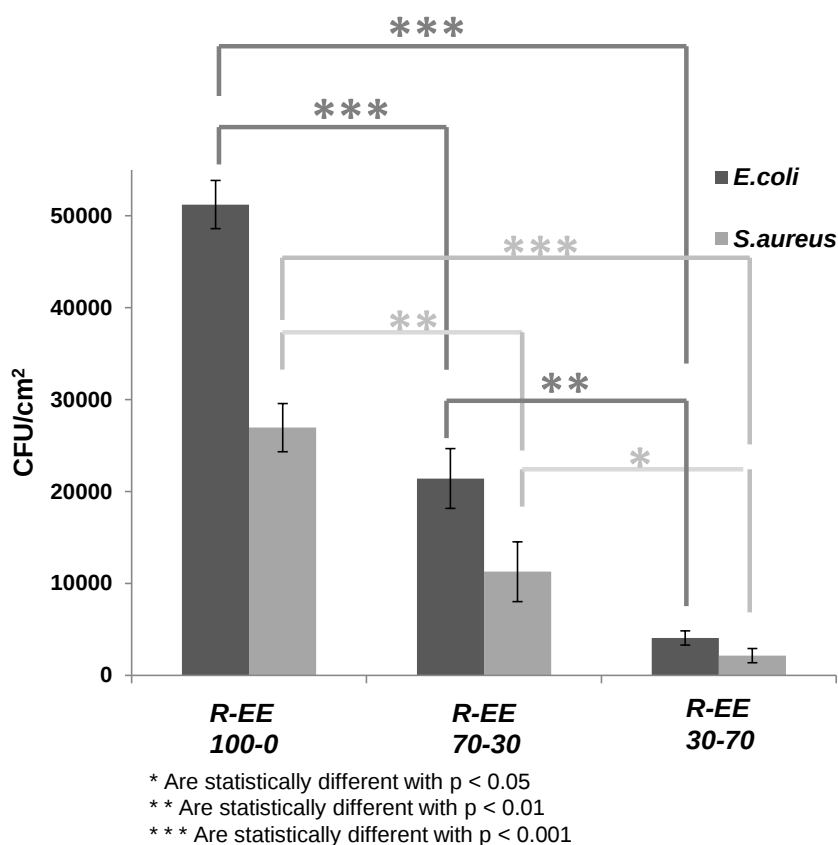
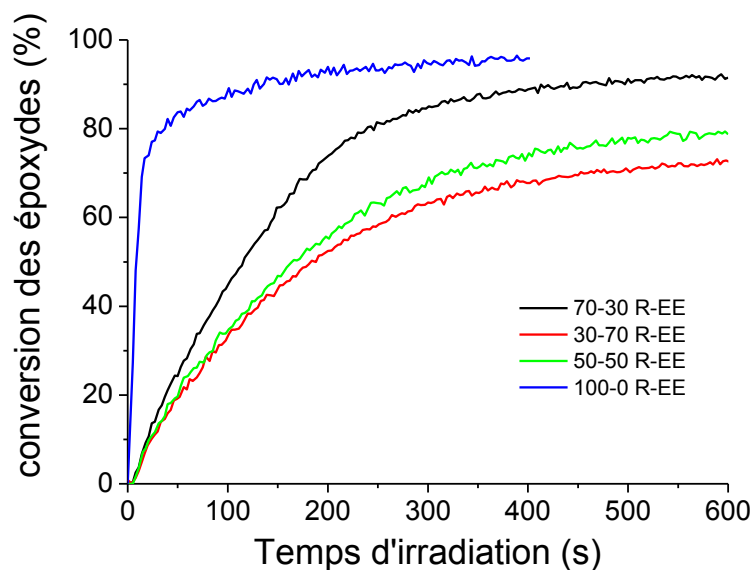


Figure 148: Antibacterial tests of the R-EE networks against *E. coli* and *S. aureus*.

III.3.6 Conclusions

An eugenol derivative was successfully synthesized and associated to resorcinol diglycidyl ether (**R**) for designing crosslinked epoxy materials. The high mechanical and thermal properties can be tuned by the introduction of the eugenol derivative leading to an increase of the flexibility of the co-networks. Moreover, the presence of only 10 wt% of phenol group promotes an antioxidant activity. The eugenol derivative has shown a promising antibacterial property for both strains since the introduction of 70 wt% of the eugenol derivative leads to a reduction of the bacterial adherence by more than 90%. Finally, these new bio-based materials are insensitive to moisture. The photo-induced cationic polymerization is a straightforward and efficient way to synthesize eugenol derivative epoxy co-networks whose promising anti-adhesion and antioxidant activities could be useful in many fields such as active biological coatings.

III.3.7 Résultats complémentaires



III.3.8 Conclusion du sous-chapitre

Cette première étude a permis de démontrer que le mode de polymérisation avait une influence majeure sur les propriétés thermo-mécaniques des matériaux obtenus. En effet, les co-réseaux obtenus par photopolymérisation cationique des époxydes ont des propriétés physiques bien supérieures à ceux obtenus par réaction de thiol-ène photoinduite mais ont une cinétique beaucoup plus lente.

A nouveau, l'étude de l'activité antibactérienne contre *E. coli* et *S. aureus* a démontré que la présence de fonctions phénol en surface est responsable de l'activité antibactérienne. De plus, l'utilisation de l'eugénol fonctionnalisé avec un époxyde permet d'augmenter jusqu'à 70% la quantité massique d'eugénol introduit dans la formulation alors que celui-ci était limité à 30% dans le chapitre précédent du fait qu'un pourcentage plus élevé en monofonctionnel rendait le réseau non manipulable.

Les propriétés biologiques des matériaux restent équivalentes à celles obtenus pour les matériaux à base d'eugénol élaborés par réaction thiol-ène malgré l'augmentation du

pourcentage d'eugénol introduit. Néanmoins les propriétés thermo-mécaniques des matériaux ont quant à elles été significativement impactées par ce changement de mode de polymérisation puisque la T_v a été augmentée de 8°C, la résistance thermique de 38°C, le module d'Young a été multiplié par 65, la résistance à la rupture a été multipliée par 25 alors que l'allongement à la rupture a été divisé par 22. La voie de photopolymérisation utilisée dans la synthèse des matériaux semble donc jouer un rôle très important puisque c'est donc la nature des liaisons formées au sein des réseaux et la densité de réticulation qui gouvernent les propriétés thermo-mécaniques des matériaux obtenus.

Références

- (1) OMS. Pourquoi un Défi mondial sur les infections nosocomiales <http://www.who.int/gpsc/background/fr/>.
- (2) Coignard, B.; Rahib, D. Infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (Sarm) dans les établissements de santé, France, 2005 2008 – Analyse épidémiologique des données transmises dans le cadre des bilans standardisés des activités de lutte contre les infections nosocomiales. **2009**, p. 40.
- (3) Aubry-Damon, H.; Carbonne, A.; Marty, N.; Jarlier, V. *Staphylococcus aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides (GISA) dans les hôpitaux en France, 2000-2001. **2004**, p.35.
- (4) Goli, K. K.; Rojas, O. J.; Genzer, J. Formation and Antifouling Properties of Amphiphilic Coatings on Polypropylene Fibers. *Biomacromolecules* **2012**, 13 (11), 3769–3779.
- (5) Lowe, A. B. Thiol-ene “click” reactions and recent applications in polymer and materials synthesis. *Polym. Chem.* **2010**, 48 (1), 17–36.
- (6) Peyre, J.; Humblot, V.; Méthivier, C.; Berjeaud, J.-M.; Pradier, C.-M. Co-Grafting of Amino–Poly(ethylene glycol) and Magainin I on a TiO₂ Surface: Tests of Antifouling and Antibacterial Activities. *J. Phys. Chem. B* **2012**, 116 (47), 13839–13847.
- (7) Wang, B.; Ren, K.; Chang, H.; Wang, J.; Ji, J. Construction of Degradable Multilayer Films for Enhanced Antibacterial Properties. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, 5 (10), 4136–4143.
- (8) Wang, X.; Berger, R.; Ramos, J. I.; Wang, T.; Koynov, K.; Liu, G.; Butt, H.-J.; Wu, S. Nanopatterns of polymer brushes for understanding protein adsorption on the nanoscale. *RSC Adv.* **2014**, 4 (85), 45059–45064.
- (9) Wu, J.; Liu, H.; Ge, S.; Wang, S.; Qin, Z.; Chen, L.; Zheng, Q.; Liu, Q.; Zhang, Q. The preparation, characterization, antimicrobial stability and in vitro release evaluation of fish gelatin films incorporated with cinnamon essential oil nanoliposomes. *Food Hydrocoll.* **2015**, 43 (1), 427–435.
- (10) Decraene, V.; Pratten, J.; Wilson, M. Cellulose Acetate Containing Toluidine Blue and Rose Bengal Is an Effective Antimicrobial Coating when Exposed to White Light. *Appl. Environ. Microbiol.* **2006**, 72 (6), 4436–4439.
- (11) Lim, K. S.; Oh, K. W.; Kim, S. H. Antimicrobial activity of organic photosensitizers embedded in electrospun nylon 6 nanofibers. *Polym. Int.* **2012**, 61 (10), 1519–1524.
- (12) Perni, S.; Piccirillo, C.; Pratten, J.; Prokopovich, P.; Chrzanowski, W.; Parkin, I. P.; Wilson, M. The antimicrobial properties of light-activated polymers containing methylene blue and gold nanoparticles. *Biomaterials* **2009**, 30 (1), 89–93.
- (13) Ruckh, T. T.; Oldinski, R. A.; Carroll, D. A.; Mikhova, K.; Bryers, J. D.; Popat, K. C. Antimicrobial effects of nanofiber poly(caprolactone) tissue scaffolds releasing rifampicin. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2012**, 23 (6), 1411–1420.
- (14) Condat, M.; Babinot, J.; Tomane, S.; Malval, J.-P.; Kang, I.-K.; Spillebout, F.; Mazeran, P.-E.; Lalevée, J.; Andalloussi, S. A.; Versace, D.-L. Development of photoactivable glycerol-based coatings containing quercetin for antibacterial applications. *RSC Adv.* **2016**, 6 (22), 18235–18245.
- (15) Condat, M.; Mazeran, P.-E.; Malval, J.-P.; Lalevée, J.; Morlet-Savary, F.; Renard, E.; Langlois, V.; Andalloussi, S. A.; Versace, D.-L. Photoinduced curcumin derivative-coatings with antibacterial properties. *RSC Adv.* **2015**, 5 (104), 85214–85224.
- (16) Aumsuwan, N.; Heinhorst, S.; Urban, M. W. Antibacterial Surfaces on Expanded Polytetrafluoroethylene; Penicillin Attachment. *Biomacromolecules* **2007**, 8 (2), 713–718.

- (17) Campoccia, D.; Montanaro, L.; Arciola, C. R. A review of the biomaterials technologies for infection-resistant surfaces. *Biomaterials* **2013**, *34* (34), 8533–8554.
- (18) Lorenzini, C.; Haider, A.; Kang, I.-K.; Sangermano, M.; Abbad-Andalloussi, S.; Mazeran, P.-E.; Lalevée, J.; Renard, E.; Langlois, V.; Versace, D.-L. Photoinduced Development of Antibacterial Materials Derived from Isosorbide Moiety. *Biomacromolecules* **2015**, *16* (3), 683–694.
- (19) Sun, B.; Slomberg, D. L.; Chudasama, S. L.; Lu, Y.; Schoenfish, M. H. Nitric Oxide-Releasing Dendrimers as Antibacterial Agents. *Biomacromolecules* **2012**, *13* (10), 3343–3354.
- (20) Beer, C.; Foldbjerg, R.; Hayashi, Y.; Sutherland, D. S.; Autrup, H. Toxicity of silver nanoparticles—Nanoparticle or silver ion? *Toxicol. Lett.* **2012**, *208* (3), 286–292.
- (21) Hackenberg, S.; Scherzed, A.; Kessler, M.; Hummel, S.; Technau, A.; Froelich, K.; Ginzkey, C.; Koehler, C.; Hagen, R.; Kleinsasser, N. Silver nanoparticles: Evaluation of DNA damage, toxicity and functional impairment in human mesenchymal stem cells. *Toxicol. Lett.* **2011**, *201* (1), 27–33.
- (22) Heydarnejad, M. S.; Yarmohammadi-Samani, P.; Dehkordi, M. M.; Shadkhast, M.; Rahnema, S. Histopathological effects of nanosilver (Ag-NPs) in liver after dermal exposure during wound healing. *Nanomedicine J.* **2014**, *1* (3), 191–197.
- (23) Ivask, A.; Titma, T.; Visnapuu, M.; Vija, H.; Kakinen, A.; Sihtmae, M.; Pokhrel, S.; Madler, L.; Heinlaan, M.; Kisand, V.; et al. Toxicity of 11 Metal Oxide Nanoparticles to Three Mammalian Cell Types In Vitro. *Curr Top Med Chem* **2015**, *15* (18), 1914–1929.
- (24) Karlsson, H. L.; Cronholm, P.; Gustafsson, J.; Moller, L. Copper oxide nanoparticles are highly toxic: a comparison between metal oxide nanoparticles and carbon nanotubes. *Chem Res Toxicol* **2008**, *21* (9), 1726–1732.
- (25) Katsumiti, A.; Gilliland, D.; Arostegui, I.; Cajaraville, M. P. Mechanisms of Toxicity of Ag Nanoparticles in Comparison to Bulk and Ionic Ag on Mussel Hemocytes and Gill Cells. *PLoS One* **2015**, *10* (6), 129–139.
- (26) Piao, M. J.; Kang, K. A.; Lee, I. K.; Kim, H. S.; Kim, S.; Choi, J. Y.; Choi, J.; Hyun, J. W. Silver nanoparticles induce oxidative cell damage in human liver cells through inhibition of reduced glutathione and induction of mitochondria-involved apoptosis. *Toxicol. Lett.* **2011**, *201* (1), 92–100.
- (27) Modjinou, T.; Versace, D.-L.; Abbad-Andallousi, S.; Bousserhine, N.; Dubot, P.; Langlois, V.; Renard, E. Antibacterial and antioxidant bio-based networks derived from eugenol using photo-activated thiol-ene reaction. *React. Funct. Polym.* **2016**, *101* (1), 47–53.
- (28) Feng, J.; Lipton, J. M. Eugenol: antipyretic activity in rabbits. *Neuropharmacology* **1987**, *26* (12), 1775–1778.
- (29) Kaplan, A. E.; Picca, M.; Gonzalez, M. I.; Macchi, R. L.; Molgatini, S. L. Antimicrobial effect of six endodontic sealers: an in vitro evaluation. *Dent. Traumatol.* **1999**, *15* (1), 42–45.
- (30) Laekeman, G. M.; van Hoof, L.; Haemers, A.; Vanden Berghe, D. A.; Herman, A. G.; Vlietinck, A. J. Eugenol a valuable compound for in vitro experimental research and worthwhile for further in vivo investigation. *Phytother. Res.* **1990**, *4* (3), 90–96.
- (31) Sticht, F. D.; Smith, R. M. Eugenol: some pharmacologic observations. *J. Dent. Res.* **1971**, *6* (50), 1531–1535.
- (32) Flory, P. J. Jabtonna Conference on Polymer Networks Molecular theory of rubber elasticity. *Polymer* **1979**, *20* (11), 1317–1320.
- (33) Jouki, M.; Yazdi, F. T.; Mortazavi, S. A.; Koocheki, A. Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxydant and antibacterial properties. *Food Hydrocoll.* **2014**, *36* (1), 9–19.

- (34) Kirby, A. J.; Schmidt, R. J. The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs. *J. Ethnopharmacol.* **1997**, *56* (2), 103–108.
- (35) Youbi, A. E. H.; Boust, D.; Jamoussi, B.; Greche, H.; Mansouri, L.; Benjilali, J.; Soidrou, S. H. Activités antioxydante, apoptotique et antiproliférative de *Tetraena gaetula* (Emb. & Maire) Beier & Thulin et de *Berberis hispanica* Boiss. & Reut. originaires du Maroc. *Phytothérapie* **2012**, *10* (3), 151–160.
- (36) Zouari, S.; Ketata, M.; Boudhrioua, N.; Ammar, E. *Allium roseum* L. volatile compounds profile and antioxydant activity for chemotype discrimination- Case study of the wild plant of Sfax (Tunisia). *Ind. Crops Prod.* **2013**, *41* (1), 172–178.
- (37) Lorenzini, C.; Versace, D. L.; Renard, E.; Langlois, V. Renewable epoxy networks by photoinitiated copolymerization of poly(3-hydroxyalkanoate)s and isosorbide derivatives. *React. Funct. Polym.* **2015**, *93* (1), 95–100.
- (38) Carioscia, J. A.; Stansbury, J. W.; Bowman, C. N. Evaluation and control of thiol-ene/thiol-epoxy hybrid networks. *Polymer* **2007**, *48* (6), 1526–1532.
- (39) Ajiboye, G. I. Industrially relevant epoxy-acrylate hybrid resin photopolymerizations, University of Iowa: Iowa, 2012.
- (40) Chrysanthos, M.; Galy, J.; Pascault, J.-P. Preparation and properties of bio-based epoxy networks derived from isosorbide diglycidyl ether. *Polymer* **2011**, *52* (16), 3611–3620.
- (41) Ding, C.; Matharu, A. S. Recent Developments on Biobased Curing Agents: A Review of Their Preparation and Use. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2014**, *2* (10), 2217–2236.
- (42) Fache, M.; Auvergne, R.; Boutevin, B.; Caillol, S. New vanillin-derived diepoxy monomers for the synthesis of biobased thermosets. *Eur. Polym. J.* **2015**, *67*, 527–538.
- (43) Chiu, Y.-C.; Chou, I. C.; Tseng, W.-C.; Ma, C.-C. M. Preparation and thermal properties of diglycidylether sulfone epoxy. *Polym. Degrad. Stab.* **2008**, *93* (3), 668–676.
- (44) Qin, J.; Liu, H.; Zhang, P.; Wolcott, M.; Zhang, J. Use of eugenol and rosin as feedstocks for biobased epoxy resins and study of curing and performance properties. *Polym. Int.* **2014**, *63* (4), 760–765.
- (45) Aouf, C.; Nouailhas, H.; Fache, M.; Caillol, S.; Boutevin, B.; Fulcrand, H. Multi-functionalization of gallic acid. Synthesis of a novel bio-based epoxy resin. *Eur. Polym. J.* **2013**, *49* (6), 1185–1195.
- (46) Dyakonov, T.; Mann, P. J.; Chen, Y.; Stevenson, W. T. K. Thermal analysis of some aromatic amine cured model epoxy resin systems—II: Residues of degradation. *Polym. Degrad. Stab.* **1996**, *54* (1), 67–83.
- (47) Hajji, M.; Masmoudi, O.; Souissi, N.; Triki, Y.; Kammoun, S.; Nasri, M. Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil from *Periploca laevigata* root barks. *Food Chem.* **2010**, *121* (1), 724–731.
- (48) Sanchez-Gonzalez, L.; Chafer, M.; Hernandez, M.; Chiralt, A.; Gonzalez-Matinez, C. Antimicrobial activity of polysaccharide films containing essential oils. *Food Control* **2011**, *22* (8), 1302–1310.
- (49) Shimada, K.; Fujikawa, K.; Yahara, K.; Nakamura, T. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J. Agric. Food Chem.* **1992**, *40* (6), 945–948.
- (50) Bound, D. J.; Murthy, P. S.; Srinivas, P. Synthesis and antibacterial properties of 2,3-dideoxyglucosides of terpene alcohols and phenols. *Food Chem.* **2015**, *185*, 192–199.
- (51) Gan, R.-Y.; Deng, Z.-Q.; Yan, A.-X.; Shah, N. P.; Lui, W.-Y.; Chan, C.-L.; Corke, H. Pigmented edible bean coats as natural sources of polyphenols with antioxidant and antibacterial effects. *LWT - Food Sci. Technol.* **2016**, *73*, 168–177.

- (52) Iqbal, H. M. N.; Kyazze, G.; Locke, I. C.; Tron, T.; Keshavarz, T. Development of bio-composites with novel characteristics: Evaluation of phenol-induced antibacterial, biocompatible and biodegradable behaviours. *Carbohydr. Polym.* **2015**, *131*, 197–207.
- (53) Kakanejadifard, A.; Azarbani, F.; Zabardasti, A.; Kakanejadifard, S.; Ghasemian, M.; Esna-ashari, F.; Omid, S.; Shirali, S.; Rafieefar, M. The synthesis, structural characterization and antibacterial properties of some 2-((4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-ylimino)methyl)-4-(phenyldiazenyl)phenol. *Dyes Pigments* **2013**, *97* (1), 215–221.
- (54) Marchese, A.; Orhan, I. E.; Daglia, M.; Barbieri, R.; Di Lorenzo, A.; Nabavi, S. F.; Gortzi, O.; Izadi, M.; Nabavi, S. M. Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. *Food Chem.* **2016**, *210*, 402–414.
- (55) Sundaram, S.; Annamalai, S. K. Selective immobilization of hydroquinone on carbon nanotube modified electrode via phenol electro-oxidation method and its hydrazine electro-catalysis and Escherichia coli antibacterial activity. *Electrochimica Acta* **2012**, *62*, 207–217.
- (56) Kakanejadifard, A.; Azarbani, F.; Zabardasti, A.; Rezayat, A.; Ghasemian, M.; Kakanejadifard, S. Spectroscopic and solvatochromism studies along with antioxidant and antibacterial activities investigation of 2-((2-mercaptophenylimino)methyl)-4-(phenyldiazenyl)phenol. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **2013**, *114*, 404–409.
- (57) Franklin, T. J.; Snow, G. A. *Biochemistry of Antimicrobial Action*; 1981.
- (58) Sussman, M. *Escherichia Coli: Mechanisms of Virulence*, Cambridge university press.; The press syndicate of the university of cambridge: Cambridge, 1997.
- (59) Bazaka, K.; Jacob, M. V.; Chrzanowski, W.; Ostrikov, K. Anti-bacterial surfaces: natural agents, mechanisms of action, and plasma surface modification. *RSC Adv.* **2015**, *5* (60), 48739–48759.
- (60) Bazaka, K.; Jacob, M. V.; Truong, V. K.; Crawford, R. J.; Ivanova, E. P. The effect of polyterpenol thin film surfaces on bacterial viability and adhesion. *Polymers* **2011**, *3* (1), 388–404.
- (61) James, N. R.; Jayakrishnan, A. Surface thiocyanation of plasticized poly(vinyl chloride) and its effect on bacterial adhesion. *Biomaterials* **2003**, *24* (13), 2205–2212.
- (62) Buergers, R.; Schneider-Brachert, W.; Hahnel, S.; Rosentritt, M.; Handel, G. Streptococcal adhesion to novel low-shrink silorane-based restorative. *Dent. Mater.* **2009**, *25* (2), 269–275.
- (63) Liu, Y.; Zhao, Q. Influence of surface energy of modified surfaces on bacterial adhesion. *Biophys. Chem.* **2005**, *117* (1), 39–45.
- (64) Absolom, D. R.; Lamberti, F. V.; Policova, Z.; Zingg, W.; Oss, C. J. van; Neumann, A. W. Surface thermodynamics of bacterial adhesion. *Appl. Environ. Microbiol.* **1983**, *46* (1), 90–97.
- (65) Mceldowney, S.; Fletcher, M. Effect of Growth Conditions and Surface Characteristics of Aquatic Bacteria on Their Attachment to Solid Surfaces. *Microbiology* **1986**, *132* (2), 513–523.
- (66) Mei, L.; Busscher, H. J.; Van Der Mei, H. C.; Chen, Y.; De Vries, J.; Ren, Y. Oral bacterial adhesion forces to biomaterial surfaces constituting the bracket–adhesive–enamel junction in orthodontic treatment. *Eur. J. Oral Sci.* **2009**, *117* (4), 419–426.
- (67) Gill, A. O.; Holley, R. A. Disruption of Escherichia coli, Listeria monocytogenes and Lactobacillus sakei cellular membranes by plant oil aromatics. *Int. J. Food Microbiol.* **2006**, *108* (1), 1–9.
- (68) Sikkema, J.; Bont, J. A. de; Poolman, B. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269* (11), 8022–8028.

- (69) Devi, K. P.; Nisha, S. A.; Sakthivel, R.; Pandian, S. K. Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. *J. Ethnopharmacol.* **2010**, *130* (1), 107–115.
- (70) Modjinou, T.; Versace, D.-L.; Abbad-Andallousi, S.; Bousserhine, N.; Babinot, J.; Langlois, V.; Renard, E. Antibacterial Networks Based on Isosorbide and Linalool by Photoinitiated Process. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2015**, *3* (6), 1094–1100.
- (71) Almaroof, A.; Niazi, S. A.; Rojo, L.; Mannocci, F.; Deb, S. Influence of a polymerizable eugenol derivative on the antibacterial activity and wettability of a resin composite for intracanal post cementation and core build-up restoration. *Dent. Mater.* **2016**, *32* (7), 929–939.

III.4 Post-fonctionnalisation de Co-Réseaux à base de résorcinol et d'eugénol fonctionnalisé

III.4.1 Introduction

Comme nous l'avons vu dans le sous chapitre précédent, l'époxydation de la double liaison carbonée de l'eugénol est relativement simple et donne de bons rendements. Ici, nous avons choisi de conserver cette double liaison et d'époxyder l'eugénol à partir de la fonction phénol afin de déterminer si le groupement phénol est en majorité responsable des propriétés antibactériennes ou si d'autres fonctions et en particulier les doubles liaisons carbonées peuvent elles aussi avoir une activité antibactérienne.

Cette partie portera donc sur la synthèse de co-réseaux à base d'eugénol fonctionnalisé (**EGE**). Ce dérivé, a été associé à l'éther diglycidyle de resorcinol (**R**) en présence de deuteron comme photoamorceur de polymérisation afin d'étudier l'influence du mode de polymérisation sur les propriétés thermo-mécaniques et biologiques.

De plus, une étude comparative entre les propriétés antibactériennes du composé époxydé (**EE**) et celle du composé (**EGE**) sera effectuée contre les deux souches bactériennes *E. coli* et *S. aureus* afin de déterminer le composé époxydé le plus efficace contre l'adhésion bactérienne.

Enfin, la présence de doubles liaisons sur le dérivé d'eugénol époxydé devrait de plus permettre une post-fonctionnalisation avec des molécules d'intérêt thiolées par réaction d'addition de type thiol-ène. Ainsi, en fonction des molécules choisies, différentes propriétés (pro-adhésion etc.) pourront être conférées aux matériaux finaux (**Figure 149**).

Les premiers résultats de cette étude seront présentés dans cette dernière partie.

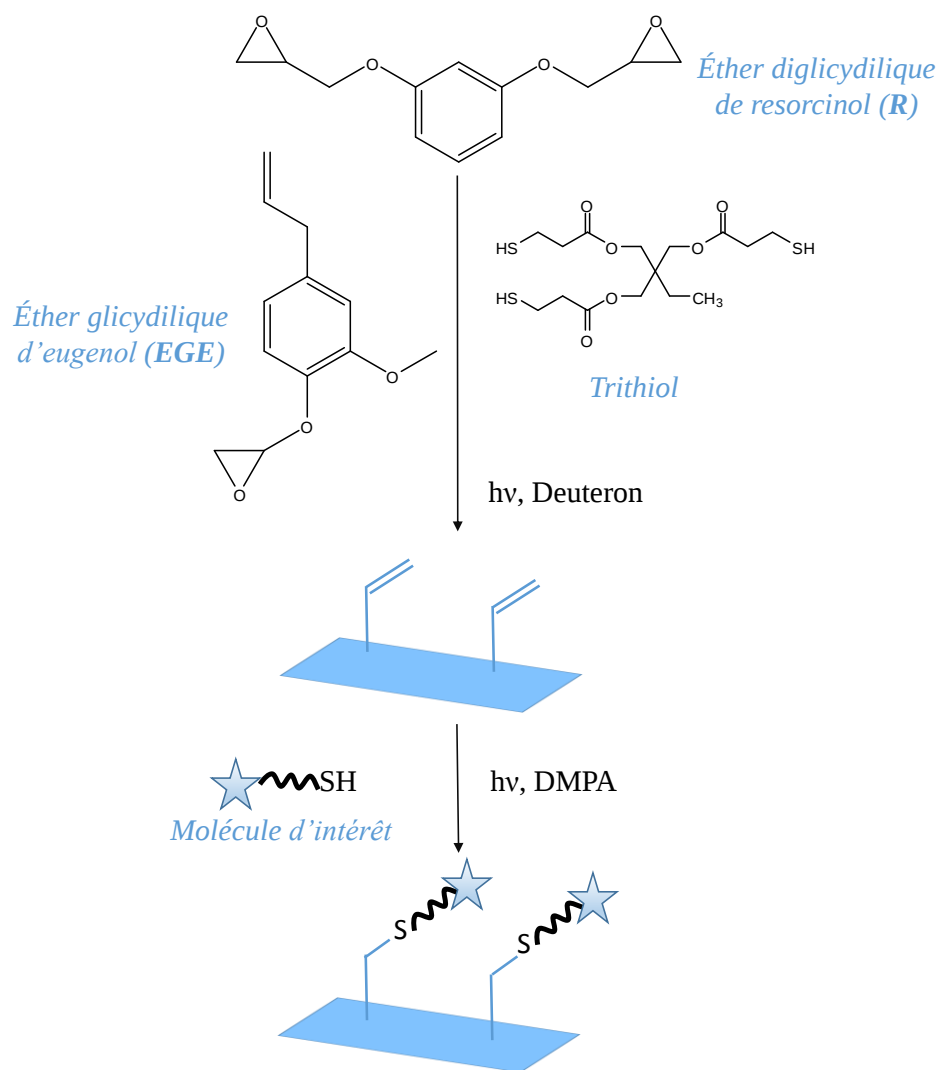


Figure 149: Stratégie de synthèse des co-réseaux éther R-EGE.

III.4.2 Synthèse de l'éther glycidyle d'eugénol, EGE

La réalisation des co-réseaux **R-EGE** nécessite la synthèse du dérivé époxydé de l'eugénol **EGE**. Celle-ci est effectuée en présence d'épichlorhydrine. L'**EGE** se présentant sous la forme d'un liquide jaune a par la suite été purifié par Chromatographie-Flash en utilisant un mélange 90-10 éther de pétrole/acétate d'éthyle comme éluant. Le produit purifié se présentant sous la forme de cristaux blanc est obtenu avec un rendement de 65 % (Erreur ! Source du renvoi introuvable.).

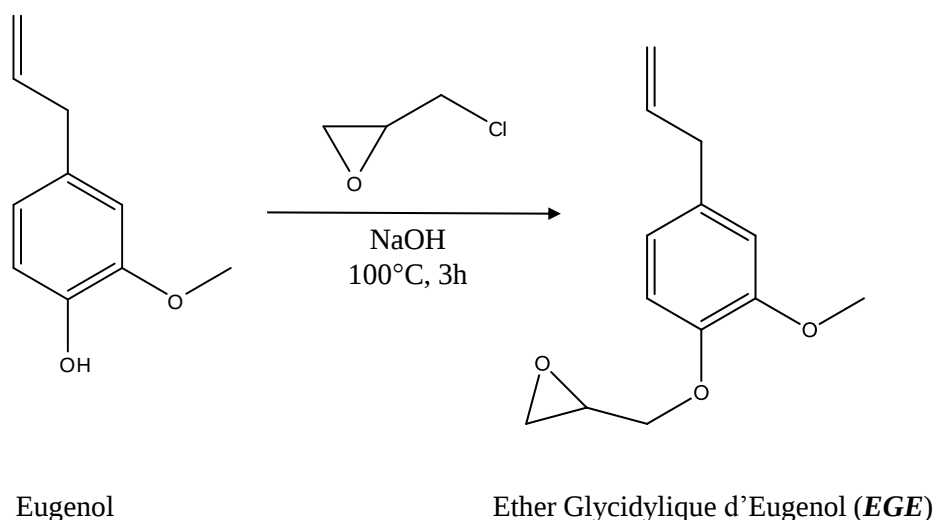


Figure 150 : Synthèse de l'éther glycidyle d'eugénol (**EGE**).

Une analyse RMN ¹H a permis de confirmer la structure du produit obtenu. L'apparition des signaux g₁ et g₂ à 2,95 ppm et 2,80 ppm caractéristiques des protons époxydes ainsi que des protons e₁ et e₂ à 4,05 et 4,20 ppm correspondants aux protons en α de la fonction époxyde et la disparition du signal correspondant au proton hydroxyle ε à 5,55 ppm confirment la fonctionnalisation (**Figure 152**).

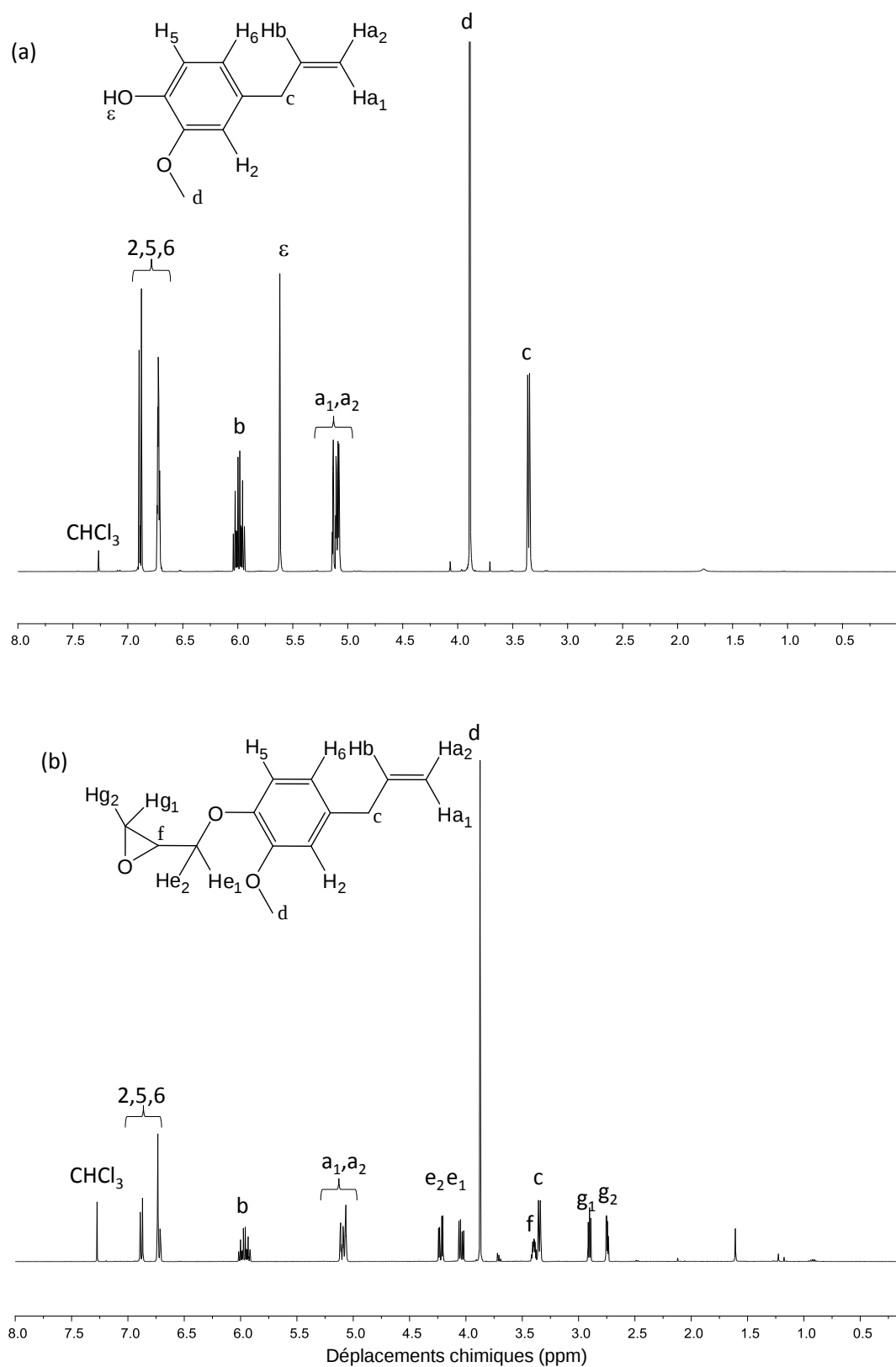


Figure 151: Spectres RMN ^1H de l'eugénol (E) (a) et de l'éther glycidique d'eugénol (EGE) (b) dans CDCl_3 .

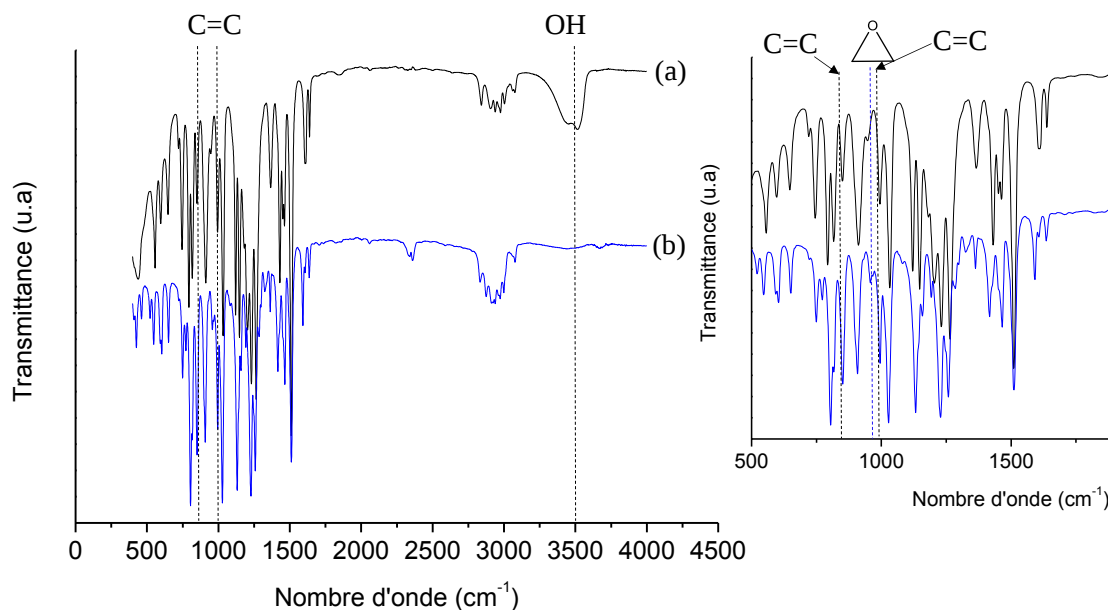


Figure 152: Spectre IR de l'eugénol (a) et du dérivé époxydé EGE (b).

De même, les spectres IR permettent de confirmer la fonctionnalisation avec la disparition du pic à 3516 cm^{-1} correspondant à la fonction alcool et l'apparition du pic à 957 cm^{-1} correspondant à l'époxyde (**Figure 152**).

III.4.3 Optimisation des conditions de photoirradiation

L'optimisation des conditions d'irradiation a été effectuée sur la composition **100-0 R-EGE** en faisant varier l'intensité d'irradiation de $10\text{ mV}\cdot\text{cm}^{-2}$ à $30\text{ mV}\cdot\text{cm}^{-2}$, le pourcentage massique du photoamorceur de 2 % (g/g) à 6 % (g/g) et le temps d'irradiation de 300 à 2000 s (**Figure 153**).

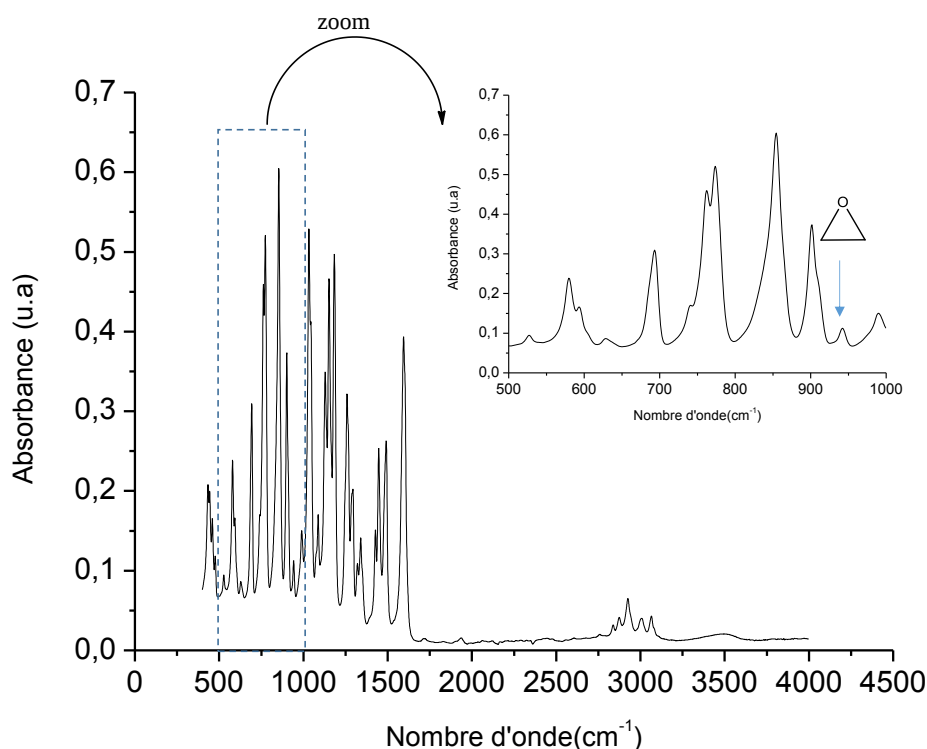


Figure 153: Spectre IR du co-réseau R-EGE avant irradiation (en absorbance).

L'analyse des cinétiques effectuées en suivant la disparition du pic époxyde à 957cm^{-1} (**Figure 154**) en calculant la conversion selon l'équation suivante :

$$\text{conversion} = 100 \times \left(1 - \frac{A_t}{A_0}\right)$$

Avec A_t : absorbance au temps t et A_0 : absorbance à $t=0$

montre bien l'influence de la quantité du photoamorceur ainsi que celle de l'intensité d'irradiation (**Figure 154**). En effet, si on étudie l'influence de la quantité d'amorceur, on constate que la vitesse de réaction correspondante à l'équation suivante :

$$\text{vitesse de propagation (Rp)} = -\frac{d[M]}{dt} = k_p[M][\text{RM}^*]$$

avec k_p : la constante de vitesse de propagation, $[M]$ la concentration en monomère et $[\text{RM}^*]$ celle en espèce propagante, augmente avec la quantité de photoamorceur introduite dans le mélange réactionnel quand on passe de 2 à 4 % (g/g). En effet, la pente initiale correspondante à l'état liquide et donnée par le rapport de $(R_p/M_0) \times 100$ passe de 0,63 à $5,47\text{s}^{-1}$. En revanche,

au-delà, l'augmentation du pourcentage a l'effet inverse (le rapport $(R_p/M_0) \times 100$ rediminue à 1.34 s^{-1}). La quantité optimale de photoamorceur est donc de 4 % (g/g).

De plus, la diminution de l'intensité d'irradiation de 30 mV.cm^{-2} entraîne une diminution du rapport $(R_p/M_0) \times 100$ qui passe de $5,47 \text{ s}^{-1}$ à 0,60 puis 0.55 cm^{-1} . Les irradiations seront donc effectuées à 30 mV.cm^{-2} pendant 600s puisque le maximum de conversion est atteint au bout de 600s. En effet, plus l'intensité du rayonnement est élevé plus le palier de stabilisation caractérisant l'étape de vitrification apparaît à forte conversion. Le palier de vitrification empêche d'atteindre une conversion de 100%.

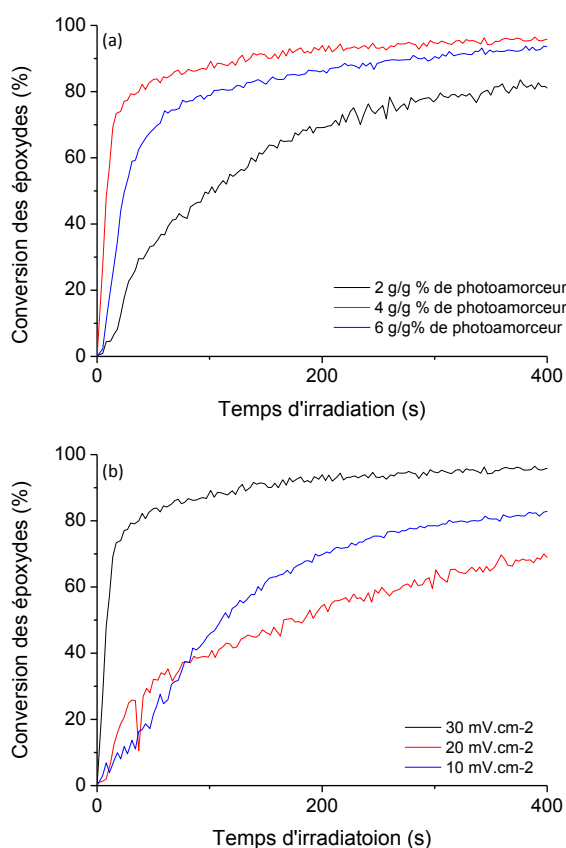


Figure 154: Optimisation des conditions d'irradiation des co-réseaux 100-0 R-EGE en faisant varier la quantité de photoamorceur à une intensité de 30 mV.cm^{-2} (a) ou en faisant varier l'intensité d'irradiation avec 4 g/g% de photoamorceur (b).

III.4.4 Elaboration des co-réseaux Ether glycidique de résorcinol-Ether glycidique d'eugénol, réseaux R-EGE

III.4.4.1 Synthèse des co-réseaux Ether glycidylique de résorcinol-Ether glycidylique d'eugénol, co-réseaux R-EGE

La synthèse des co-réseaux 70-30 (g/g %) **R-EGE** est donnée à titre d'exemple. **EG** (90 mg, 4.1×10^{-4} mol) et le photoamorceur (4 g/g% de la formulation) sont dissouts dans **R** (210 mg, 9.5×10^{-4} mol). La formulation est coulée dans un moule en silicone (2.5 x 4 cm) et irradiée à une intensité de 20 mW/cm² à température ambiante à l'aide d'une lampe Hg-Xe Hamamasu (Lightning Cure LC8 (L8251), 200W) couplée à un guide flexible placé à 14 cm de l'échantillon. L'intensité maximale à cette position a été mesurée par radiométrie (International Light Technologies ILT 393). Elle est de 20 mW.cm⁻² entre 250-450 nm. Un co-réseau transparent est obtenu après 600 s d'irradiation.

III.4.4.2 Caractérisation des co-réseaux Ether glycidylique de résorcinol-Ether glycidylique d'eugenol, co-réseaux R-EGE

Les caractéristiques (**Tableau 15**) ainsi que les propriétés thermo-mécaniques des co-réseaux ont été déterminées (**Tableau 16** et **Tableau 17**).

Tableau 15: Caractéristiques des monomères R et EGE et des co-réseaux R-EGE.

Composition (% (g/g))	Epaisseur (mm)	Extractibles ^{a)} (%)	θ ^{b)} (°)
100-0 R-EGE	0,18 ± 0,10	5,3 ± 4,7	97 ± 3
70-30 R-EGE	0,17 ± 0,04	3,5 ± 2,7	94 ± 3
50-50 R-EGE	0,18 ± 0,03	9,2 ± 0,1	65 ± 5

^{a)}Déterminée par gravimétrie ^{b)}Déterminé par mesures d'angle de contact ^{c)}Déterminée par Coulométrie après 24h d'exposition

L'introduction du dérivé époxydé **EGE** monofonctionnel entraîne une légère augmentation du pourcentage d'extractibles. De plus, on constate qu'un pourcentage de 50% permet une diminution de l'hydrophobie du co-réseau puisque la double liaison carbone-carbone est moins apolaire que le cycle aromatique.

Tableau 16: Caractérisation mécanique des co-réseaux *R-EGE*.

Composition (% (g/g))	E' ^{a)} (MPa)	tanδ ^{a)} (°C)	Lα ^{b)} (°C)	hα ^{c)} (MPa)	v_e ^{d)} (mol.cm ⁻³)
100-0 <i>R-EGE</i>	76 ± 5,0	139 ± 0,5	40 ± 6,0	0,24 ± 0,1	3,4 ± 0,4
70-30 <i>R-EGE</i>	11 ± 1,2	89 ± 5,1	32 ± 4,5	0,46 ± 0,1	1,1 ± 0,1
50-50 <i>R-EGE</i>	7 ± 0,2	63 ± 6,4	22 ± 3,8	0,68 ± 0,1	0,7 ± 0,1

^{b)}Déterminé par DMA, ^{b)}Lα: largeur à mi-hauteur du pic de tan δ; ^{c)}hα: hauteur du pic de tan δ; ^{d)}v_e: densité de réticulation

Le dérivé *EGE* étant monofonctionnel, son introduction dans les co-réseaux entraîne une diminution de la densité de réticulation ayant un impact sur les performances mécaniques (**Tableau 16**). En effet, l'augmentation du pourcentage massique d'*EGE* induit une augmentation de la flexibilité des co-réseaux comme nous le montre la diminution du module de conservation ainsi que la température de transition vitreuse assimilée au maximum du pic de tan δ (**Tableau 16**), du module d'Young et de la résistance à la rupture et l'augmentation de l'allongement à la rupture.

La légère augmentation de la largeur à mi-hauteur du pic de tan δ avec l'introduction d'*EGE* dans les co-réseaux traduit une diminution ténue de l'homogénéité des co-réseaux. L'augmentation de la hauteur du pic de tan δ caractéristique du caractère dissipatif des matériaux démontre que l'introduction du dérivé monofonctionnel permet une meilleure dissipation de l'énergie (**Tableau 17**).

Tableau 17: Caractérisation thermique des monomères *R*, *EGE* et des co-réseaux *R-EGE*.

Composition (g/g%)	T _{5%} ^{a)} (°C)	T _{30%} ^{a)} (°C)	T _s ^{b)} (°C)	Char ₆₀₀ ^{c)} (%)	E ^{d)} (MPa)	σ _r ^{d)} (MPa)	ε _r ^{d)} (%)
<i>R</i>	196	239	109	2	-	-	-
<i>EGE</i>	155	226	97	1	-	-	-
100-0 <i>R-EGE</i>	370	405	192	22	1791 ± 407	33 ± 32	3,3 ± 1
70-30 <i>R-EGE</i>	248	397	165	20	1007 ± 163	11 ± 1	2,5 ± 1
50-50 <i>R-EGE</i>					428 ± 109	12 ± 4	8.9 ± 1

^{a)}T_{5%} or T_{30%}: température correspondante à la perte de 5% ou 30 % du réseau sous argon déterminée par ATG; ^{b)}T_s: température statistique de résistance thermique; ^{c)}Résidu à 600°C sous argon obtenu par ATG, ^{d)}Déterminé par tests de traction.

$$T_s = 0.49 \times [T_{5\%} + 0.6 \times (T_{30\%} - T_{5\%})] \quad \text{Eq 3}$$

III.4.4.3 Détermination de l'activité antibactérienne des co-réseaux *R-EGE* contre *E. coli* et *S. aureus*

L'activité anti-adhérente contre chaque souche bactérienne a été évaluée pour les co-réseaux actifs après 1h d'incubation. Le nombre de bactéries viables adhérentes à la surface (UFC/cm²), a été calculé en effectuant les post-tests statistiques de type StatAdvisor et ANOVA (**Figure 155**).

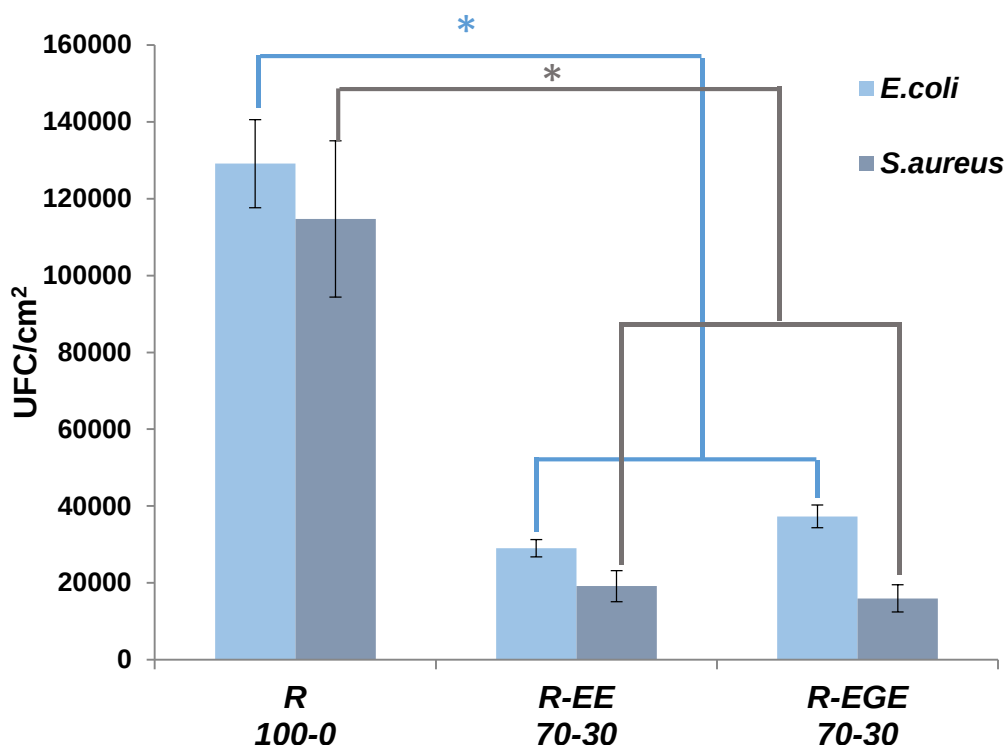


Figure 155: Tests antibactériens des co-réseaux *R-EE* et *R-EGE* contre *E. coli* and *S. aureus*.

On constate une réduction significative de 71 % de l'adhésion bactérienne dans le cas d'*E. coli* et de 86% pour la souche *S. aureus* avec l'introduction de 30% massique du dérivé **EGE**. Il n'y a pas de différence significative entre les deux dérivés **EGE**, monoépoxyde porteur d'une double liaison carbone-carbone et **EE** monoépoxyde porteur d'une fonction phénol.

Ces résultats sont en accords avec la littérature puisqu'il a été démontré que certains terpènes non oxygénés tels que le myrcène ou le farnésène présentaient une activité antibactérienne^{1,2}. Ainsi, les deux fonctions de l'eugénol sont impliquées dans l'activité antimicrobienne.

III.4.4.4 Détermination de la présence des doubles liaisons carbonés à la surface des co-réseaux *R-EGE*

En vue de la post-fonctionnalisation des co-réseaux avec des molécules thiolées d'intérêt (**Figure 156**) nous avons voulu confirmer à l'aide d'un test simple et rapide la présence de doubles liaisons carbone-carbone à la surface des co-réseaux **R-EGE**. Pour cela nous avons effectué un test à l'eau de brome en prenant comme référence le co-réseau **100-0 R-EGE** ne possédant pas de double liaison.

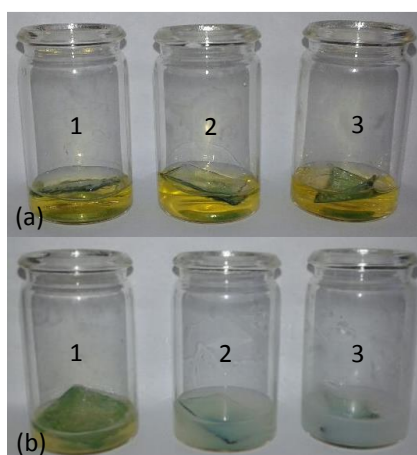


Figure 156: Test au dibrome sur les co-réseaux 100-0 *R-EGE* (1), 70-30 *R-EGE* (2), 50-50 *R-EGE*(3) à $t=0s$ (a) et après 2min d'immersion du matériau (b).

La décoloration des deux solutions contenant les co-réseaux **70-30 *R-EGE*** et **50-50 *R-EGE*** confirme la présence des doubles liaisons à la surface qui pourront être mobilisées dans une post-fonctionnalisation par réaction de thiol-ène. Des analyses MEB-EDX ont également été effectuées et ont confirmé la présence de Br après plusieurs lavages de l'échantillon.

De même l'analyse des spectres IR avant et après le test a montré la disparition des pics correspondants aux doubles liaisons carbone-carbone à 995 et 847 cm^{-1} (**Figure 157**).

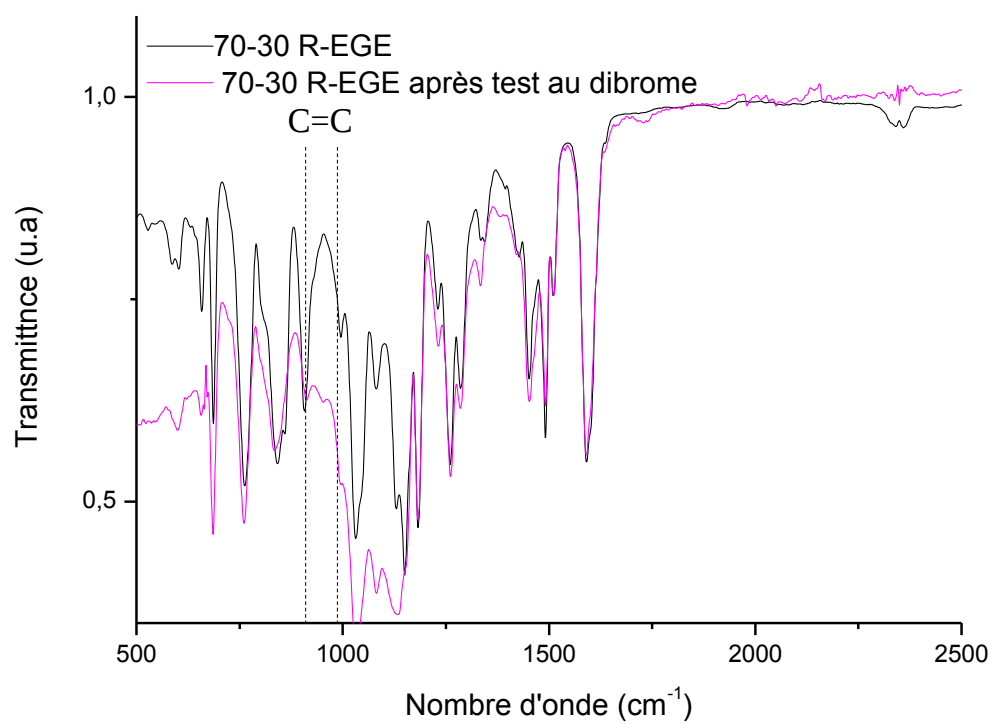


Figure 157: Spectre IR du co-réseau 70-30 R-EGE avant (noir) et après (rose) le test au dibrome.

III.4.5 Conclusion

Ces résultats préliminaires sur l'élaboration de co-réseaux *R-EGE* semblent prometteurs puisque l'introduction d'un dérivé monofonctionnel tel que *EGE* permet de moduler la forte rigidité des résines époxy.

Faute de temps, la partie post-fonctionnalisation et l'étude des propriétés antibactériennes des co-réseaux fonctionnalisés n'ont pu être réalisées. Néanmoins, l'étude comparative sur les propriétés antibactériennes des deux dérivés époxydés a démontré que les doubles liaisons carbone-carbone étaient tout comme les fonctions hydroxyle ou phénol impliquée dans l'activité antibactérienne.

Il sera intéressant de voir si ces propriétés antibactériennes peuvent être exacerbées par l'introduction de molécules d'intérêt. De même, il serait également novateur d'effectuer la post-fonctionnalisation avec différents composés afin d'élaborer des résines époxy aux propriétés multiples (antibactérienne, antioxydante, pro-adhésives etc.)

Références

- (1) Angioni, A.; Barra, A.; Russo, M. T.; Coroneo, V.; Dessi, S.; Cabras, P. Chemical Composition of the Essential Oils of Juniperus from Ripe and Unripe Berries and Leaves and Their Antimicrobial Activity. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 3073–3078.
- (2) Bajpai, V. K.; Al-Reza, S. M.; Choi, U. K.; Lee, J. H.; Chul, K. S. Chemical composition, antibacterial and antioxydant activities of leaf essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. *Food Chem. Toxicol.* **2009**, *47*, 1876–1883.
- (3) Flory, P. J. Jabtonna Conference on Polymer Networks Molecular theory of rubber elasticity. *Polymer* **1979**, *20* (11), 1317–1320.

Partie expérimentale

Synthèse de l'éther glycidyle d'eugénol, EGE

L'Eugénol (5,3 g, $3,2 \cdot 10^{-2}$ mol) est dissout dans 10,0 mL d'épichlorhydrine (4 eq / OH, 6,0 g, $1,3 \cdot 10^{-1}$ mol). 12,1 mL d'une solution d'hydroxyde de sodium dans l'éthanol (106 g.L⁻¹) est ajouté lentement dans la solution qui passe du vert à l'orange. La réaction est maintenue sous agitation à 100°C pendant 3 h. Un précipité blanc est alors formé et 140 mL d'acétone sont ajoutés. La solution est filtrée sur Büchner afin d'éliminer le précipité formé pendant la réaction. La phase organique est séchée sur MgSO₄ et évaporée sous vide. Le produit de réaction est purifié par chromatographie flash (éther de pétrole/acétate d'éthyle = 9/1). Le dérivé purifié **EGE** est obtenu avec un rendement de 65%.

Préparation des réseaux à base d'éther diglycidyle de resorcinol (**R**) et l'éther glycidyle d'eugénol, (**EGE**), réseaux **R-EGE**

A titre d'exemple la synthèse des co-réseaux 70-30 % (g/g) éther glycidyle de resorcinol-éther glycidyle d'eugénol (**R-EGE**) est décrite ici. **EG** (90 mg, $4,1 \times 10^{-4}$ mol) et le photoamorceur (4 % massique de la masse total de monomères) sont dissouts dans **R** (210 mg, $9,5 \times 10^{-4}$ mol) fondu. La formulation est introduite dans un moule en silicone (2.5 x 4 cm) et irradié avec une intensité de 30 mW/cm² à température ambiante à l'aide d'une lampe Hg-Xe Hamamasu (Lightning Cure LC8 (L8251), 200W) couplée à un guide d'onde flexible. Un film transparent est obtenu après 600 s d'irradiation.

Caractérisations des produits

Analyses thermogravimétrique (ATG)

Les analyses de thermogravimétrie ont été menées sur un appareil Setaram Setsys Evolution 16 en effectuant un chauffage de 20 à 800°C à 10°C.min⁻¹ sous argon.

Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

Les analyses de DSC ont été effectuées sur un appareillage Perkin Elmer Diamond en suivant le programme de chauffe ci-après : une rampe de -60 à 170°C à 20°C.min⁻¹, un refroidissement jusqu'à -60°C à 200°C.min⁻¹ suivi d'un isotherme de 5min puis un chauffage jusqu'à 170°C à 20°C.min⁻¹ afin de déterminer les températures de transition vitreuse (T_v) et de fusion (T_f).

Chromatographie Flash

La purification par chromatographie Flash a été effectuée sur un appareil Interchim puriFlash® SPOT II couplé à un détecteur LT-ELSD Sedex 80 Sedere en utilisant une colonne Grace resolsilica 40µm 120g/160mL 80mL/min. L'absorbance a été suivie à $\lambda_1 = 254$ nm et $\lambda_2 = 235$ -600 nm. La phase mobile est composée d'éther de pétrole (EP) (90%) et d'acétate d'éthyle (AcOEt) (10%). La purification a été effectuée selon le programme d'élution suivant: une première phase d'équilibre pendant 1,7 volume colonne (V_c), un gradient de 10% à 23% en AcOEt pendant 3,7 V_c , un plateau isocratique pendant 2,1 V_c et enfin un gradient de 0% à 100% en méthanol.

Cinétiques de photopolymérisation

Les cinétiques ont été suivies par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier en temps en utilisant un spectromètre Thermo-Nicolet 6700. 80µL du mélange réactionnel 100-0 **R-EGE** (300 mg d'éther diglycidyle de résorcinol) et du photoamorceur (12 mg, 4 % (g/g) du monomère) sont étalés entre deux pastilles de BaF₂ grâce à un applicateur métallique étalon et exposés pendant quelques secondes au faisceau IR (qui analyse *in situ* l'étendue de la photoréaction) et au faisceau UV (qui amorce la photoréaction). Le mélange est irradié à température ambiante en utilisant une unité Hamamatsu Lightning Cure LC8 équipée d'une

lampe Hg-Xe (200W) couplée à un guide flexible. L'échantillon et la fin d'une guide d'onde sont séparés d'une distance de 14cm. La photopolymérisation est effectuée en suivant la disparition du pic époxyde à 957 cm^{-1} .

Détermination des extractibles

Pour la détermination des extractibles les échantillons (1 cm x 0,5 cm) sont traités avec du toluène (10 mL pendant 3h en renouvelant le solvant toutes les 30 min). Les films sont pesés après un séchage sous vide à 60°C pendant 1 nuit.

Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des co-réseaux a été évaluée contre deux souches bactériennes pathogènes: *Staphylococcus aureus* ATCC6538 (Gram-positive) and *Escherichia coli* ATCC25922 (Gram-négative) qui ont été cultivées en aérobie à 37°C une nuit en utilisant un milieu de culture LB (Lysogeny Broth) avant que les tests ne soient effectués. Les échantillons ont été immergés 1h à 37°C sous agitation dans une suspension bactérienne des deux souches ($\text{OD}_{600\text{nm}} = 0.05$). Les bactéries n'ayant pas adhéré à la surface sont éliminées par 7 lavages à l'eau physiologique. Les échantillons sont ensuite vortexés et ultra-sonnés dans un volume minimal de solution saline afin de détacher les bactéries adhérentes. Finalement, 100 μL de cette suspension bactérienne viable sont inoculés sur une gélose. Après 24h d'incubation à 37°C dans des conditions aérobie, l'activité antibactérienne est mesurée en dénombrant le nombre d'unités formant des colonies (UFC) pour chaque souche. Toutes ces expériences sont effectuées au moins 6 fois afin de permettre une analyse statistique des résultats significative. Le logiciel R a été utilisé pour le test statistique d'analyse de la variance (ANOVA) des résultats significatifs ($p < 0.05$) ont été déterminés par le test des étendues de Duncan.

Analyse Mécanique en Dynamique (DMA)

Les analyses mécaniques en dynamique ont été effectuées sur un analyseur TA Instrument Q800 en mode tension de film équipé d'un accessoire de refroidissement par gaz sur des échantillons de dimensions suivantes : 20 mm de longueur, 5-8 mm de largeur et 0.2 mm d'épaisseur. Les échantillons sont fixés entre deux mords et une force de 0.04 % est appliquée à une fréquence de 1 Hz. Après une équilibration à 20°C pendant 5 min les échantillons sont chauffés de 20 à 200°C à 3°C.min⁻¹. Finalement, ils sont maintenus à 200°C pendant 10 min et refroidis à 20 °C. Tous les tests sont effectués sous air. La température de transition vitreuse est déterminée au maximum du pic de $\tan \delta$. La densité de réticulation est déterminée à partir de la valeur du module de conservation du plateau caoutchoutique à $T_g + 40^\circ\text{C}$ selon la théorie de l'élasticité ³ (équation 1):

$$v_e = \frac{E'}{3RT} \quad \text{Eq 1}$$

où E' correspond au module de conservation dans le plateau caoutchoutique à $T_g + 40^\circ\text{C}$, R est la constante des gaz parfaits, T est la température en °K correspondant au module de conservation à $T_g + 40^\circ\text{C}$.

Mesure de l'angle de contact

Les mesures d'angles de contact sont effectuées sur un goniomètre Krüss couplé à un système d'analyse Drop Shape Analysis System. Celles-ci sont répétées au moins 4 fois.

Résonnance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres de résonnance magnétique nucléaire du proton ^1H ont été effectués sur un spectromètre Bruker Avance 400. Ces spectres ont été effectués dans du chloroforme deutéré (CDCl_3) à 25°C.

Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)

Les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés de 4000 à 500 cm^{-1} sur un spectromètre Bruker Tensor 27 en mode réflexion totale atténuée (ATR) en effectuant 32 scans. Les transmissions reportées sont exprimées en nombre d'onde (cm^{-1})

III.5 Conclusion

Des réseaux transparents et relativement rigides et cassants ont été obtenus par polymérisation cationique par ouverture des époxydes. Ce mode de réticulation permet d'augmenter jusqu'à 70% la quantité massique d'eugénol monofonctionnel introduit dans la formulation. L'étude des performances thermo-mécaniques a démontré que des réseaux à haute résistance ont été obtenus (T_v supérieure à 90°C, stabilité thermique supérieure à 250°C) et ce même en présence du composé monofonctionnel. De plus, celui-ci permet de moduler ces propriétés mécaniques.

L'étude de l'activité antibactérienne contre *E. coli* et *S. aureus* a démontré que la présence de fonctions phénol en surface est bien responsable de l'activité antibactérienne. Néanmoins, l'étude comparative sur les propriétés antibactériennes des deux dérivés époxydés a démontré que les doubles liaisons carbone-carbone étaient tout comme les fonctions phénol, impliquées dans l'activité antibactérienne, propriétés que l'on retrouve chez certains terpènes non oxygénés tels que le myrcène ou le farnésène^{1,2}.

Références :

- (1) Angioni, A.; Barra, A.; Russo, M. T.; Coroneo, V.; Dessi, S.; Cabras, P. Chemical Composition of the Essential Oils of *Juniperus* from Ripe and Unripe Berries and Leaves and Their Antimicrobial Activity. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 3073–3078.
- (2) Bajpai, V. K.; Al-Reza, S. M.; Choi, U. K.; Lee, J. H.; Chul, K. S. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of leaf essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. *Food Chem. Toxicol.* **2009**, *47*, 1876–1883.

Conclusion générale

La transition du carbone pétrosourcé vers le carbone végétal apparaissait comme utopique au début des années 2000, pourtant, aujourd'hui, cette nouvelle ère semble tout à fait réaliste lorsque l'on observe le nombre grandissant de recherches menées sur ce sujet. De plus, ce changement est soutenu par les industries permettant ainsi un accès beaucoup plus rapide et abondant à de nouveaux synthons biosourcés.

Une autre problématique mondiale est également au centre de nos préoccupations actuelles puisque plus d'1,4 millions de cas d'infections nosocomiales sont diagnostiqués chaque année. Certaines souches étant devenues insensibles aux antibiotiques, ce nombre devrait sensiblement augmenter à l'avenir.

Cette thèse a donc été menée afin d'apporter des solutions à ces deux problématiques majeures, en valorisant la biomasse par l'élaboration de matériaux bioactifs par irradiation. Pour ce faire, deux types de synthèse ont été choisis pour élaborer nos matériaux : la réaction thiol-ène ou la polymérisation par ouverture de cycle époxydes et ce afin de pouvoir comparer l'impact du process sur les propriétés biologiques et thermo-mécaniques des matériaux.

La première partie de ce travail de thèse a donc porté sur la valorisation du linalol et de l'eugénol présents dans les huiles essentielles pour la synthèse de matériaux antibactériens. Les deux fonctions hydroxyle de l'isosorbide ont été mobilisées pour bifonctionnaliser ce composé par la réaction de Williamson de type S_N2 avec le bromure d'allyle (**Figure 158**).

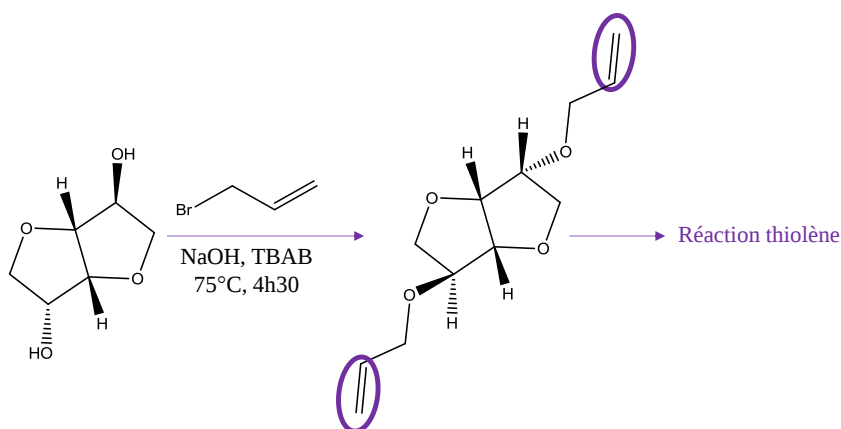


Figure 158: Fonctionnalisation de l'isosorbide.

De plus, la double fonctionnalité de l'eugénol nous a permis de synthétiser 3 dérivés différents :

- ✚ l'allyleugénol (**AE**) dont les deux doubles liaisons carbone-carbone peuvent être mises à profit dans des réactions thiol-ène ;
- ✚ l'époxyeugénol (**EE**) possédant une fonction phénol et une fonction époxyde pouvant être polymérisée par ouverture de cycle des époxydes ;
- ✚ et enfin l'éther glycidyle d'eugénol (**EGE**) bifonctionnalisé par un époxyde et une double-liaison carbone-carbone pouvant par conséquent être polymérisé par ouverture de cycle des époxydes puis post-fonctionnalisé par réaction thiol-ène en mettant à profit la double liaison carbone-carbone (**Figure 159**).

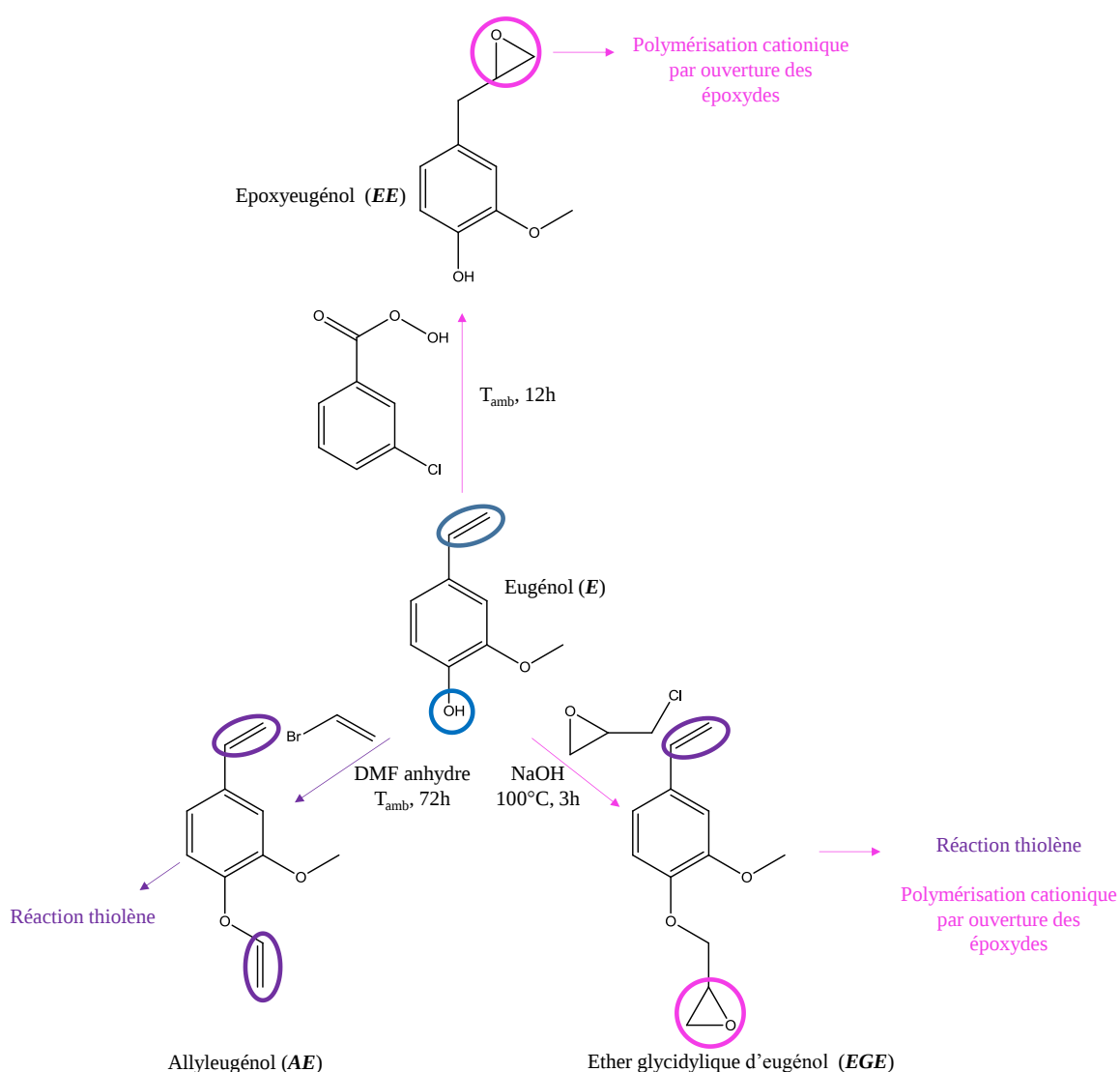


Figure 159: Fonctionnalisation de l'eugénol.

Une large gamme de co-réseaux a donc été élaborée par réaction thiol-ène en présence de DMPA et de l'agent de réticulation trifonctionnel (trithiol) (**Figure 160**Figure 160) :

- + Des co-réseaux obtenus à partir de l'isosorbide fonctionnalisé (**ISODIAL**) associé au linalol (**L**);
- + Des co-réseaux obtenus à partir de l'eugénol fonctionnalisé (**AE**) associé au linalol ou à l'eugénol (**E**) ;
- + Des co-réseaux **AE** et **AE-E** incorporant des NPs de ZnO ;
- + Des co-réseaux **AE** incorporant des composés antibactériens phénoliques biosourcés tels que sont l'acide tannique (**AT**) ou le carvacrol (**C**).

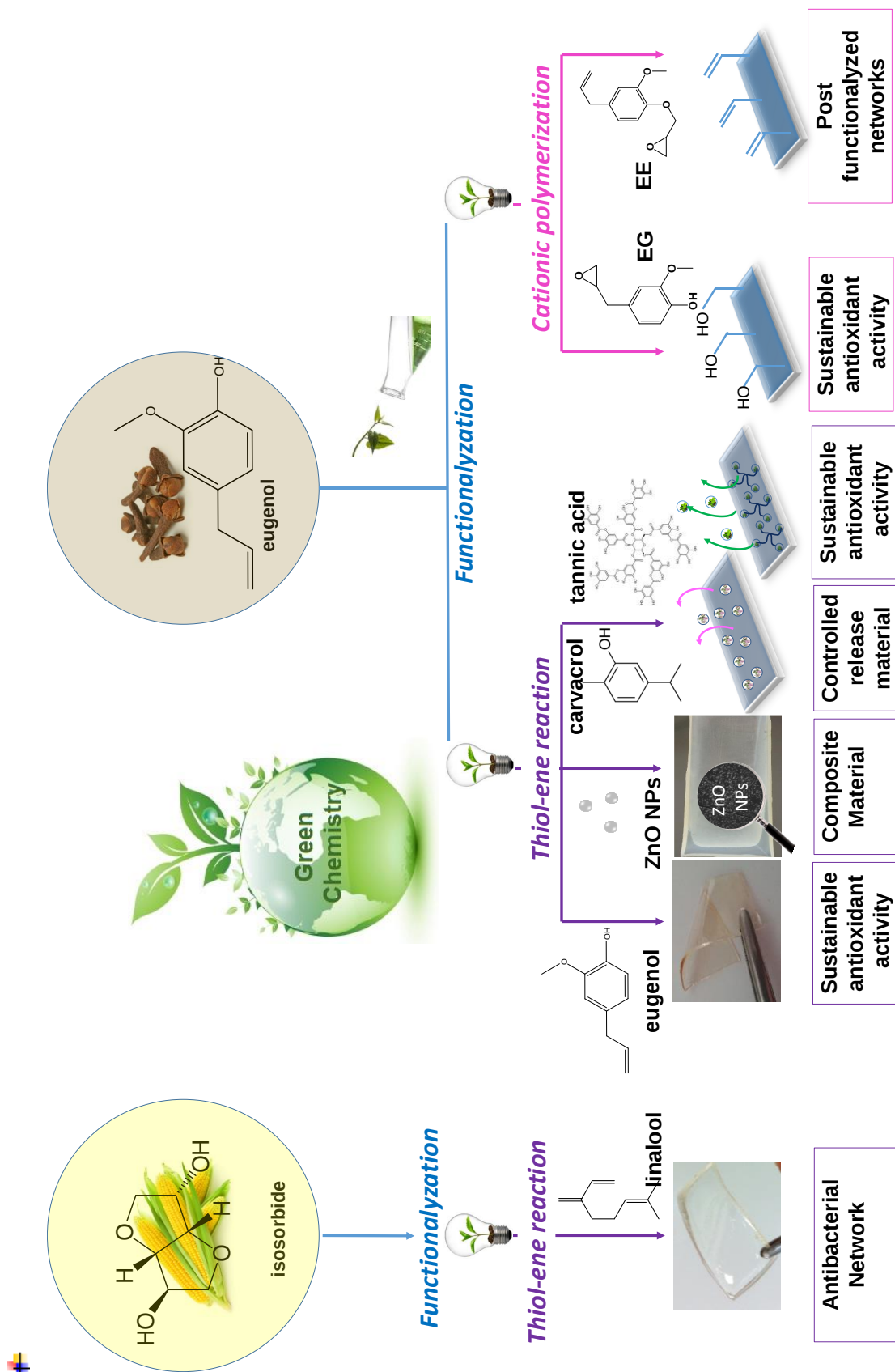


Figure 160: Différents matériaux biosourcés antibactériens élaborés au cours de cette thèse par photochimie.

Ces différents matériaux ont démontré de bonnes performances thermo-mécaniques (résistance thermique supérieure à 200°C, élongation à la rupture supérieure à 20%) mais se sont révélés relativement souples (T_v inférieure à 0°C). Ainsi, dans le dernier sous-chapitre le linalol a été associé à des oligomères de PHBHV allyliques de 1000 g.mol⁻¹ afin d'élargir la gamme de performances thermo-mécaniques des matériaux obtenus (co-réseaux **PHBHV-L**). Faute de temps, la caractérisation des performances thermo-mécaniques n'a pu être menée entièrement. Néanmoins, l'analyse par DSC a démontré que la présence de PHBHV augmente la T_v passant ainsi de -25°C dans le cas des réseaux à base de linalol à 2,3°C pour les co-réseaux **70-30 PHBHV-L**.

La dernière partie de des travaux a porté sur l'élaboration de différents co-réseaux associant l'éther diglycidyle de résorcinol (composé difonctionnel pouvant être d'origine biosourcé), au deux dérivés de l'eugénol époxydés (**Figure 159**). Ces matériaux, relativement rigides et cassants, permettent d'élargir la gamme de matériaux antibactériens obtenus à partir de la biomasse. En effet, ceux-ci possèdent une T_v supérieure à 90°C et une stabilité thermique supérieure à 250°C.

L'ensemble des matériaux synthétisés ainsi que leurs principales caractéristiques sont regroupés dans le **Tableau 14**.

Tableau 14: Nouveaux matériaux antibactériens élaborés par photochimie à partir de la biomasse

Nom	T _v (°C)	T _{5%} (°C)	E (MPa)	σ _r (MPa)	ε _r (%)	Inhibition d' <i>E. coli</i> (CFU/cm ²)	Inhibition d' <i>S. aureus</i> (CFU/cm ²)
<i>ISODIAL</i>	-2	315	5,4	2,0	43	2500	12000
<i>ISODIAL-L</i> (70-30)	-8	292	3,0	1,4	52	2500	7500
<i>AE</i>	-1	323	5,1	2,1	48	517	828
<i>AE-L (70-30)</i>	-5	301	3,7	2,7	50	490	450
<i>AE-E (70-30)</i>	-4	305	1,1	0,7	92	1100	2900
<i>AE/ZnO (5%)</i>	0	338	8,0	1,1	18	2,6.10 ^{5*}	2,0.10 ^{4*}
<i>AE/C (20%)</i>	-9	145	3,9	0,5	15	0	100
<i>AE/AT(10%)</i>	-5	271	9,9	0,8	33	4014	0
<i>PHBHV-L</i> (70-30)	2,3	220					
<i>R</i>	130	370	1791	33	3,3	50000	27000
<i>R-EG (70-30)</i>	100	343	2186	56	3,9	2500	12000
<i>R-EGE</i> (70-30)	89	248	1007	11	2,5	3728	15938

Cette large gamme de matériaux a été élaborée sans solvant ni catalyseur métallique à partir de synthons d'origines biosourcées. Chaque voie de synthèse permet l'obtention de matériaux antibactériens parfois antioxydants dont les propriétés thermo-mécaniques sont variables et peuvent être modulées selon les applications visées. De plus, la synthèse de matériaux possédant deux fonctionnalités différentes (fonction époxyde et double liaison carbone-carbone) laisse envisager des post-fonctionnalisations ou la synthèse de réseaux par réaction concomitante de ces deux fonctions qui pourrait donner lieu à de nouvelles propriétés mécaniques. De même, il reste à exploiter le caractère biodégradable des PHAs pouvant être intéressant dans des applications telles que l'emballage alimentaire, la reconstruction tissulaire ou la vectorisation de médicaments et à exploiter d'autres dérivés de la biomasse peu utilisés dans la synthèse de matériaux biosourcés par photochimie comme la lignine ou d'autres composés phénoliques.

